

BAB VI  
PEMBAHASAN

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Diabetes melitus adalah penyakit karena gangguan aktifitas insulin dan metabolisme karbohidrat. DM dihubungkan dengan berbagai gangguan metabolik terutama hiperglikemia. DM juga disebut metabolik sindrom yang disertai dislipidemia (hipertrigliseridemia, penurunan HDL kolesterol), aterosklerosis dan status prokoagulan (Jakus V, 2000 ; Laster Packert, *et al*, 2000)

Diabetes melitus pada mencit dapat diinduksi dengan pemberian aloksan karena bahan kimia ini diketahui merusak sebagian sel-sel beta pankreas mencit secara selektif sehingga produksi insulin akan menurun dan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah. Efek diabetogenik aloksan telah dilaporkan oleh Dunn, Sheehan dan Mc Lethie (1943) yang meneliti efek pemberian aloksan pada kelinci dan dilaporkan terjadi nekrosis spesifik pada sel beta pankreas, sehingga sejak saat itu aloksan digunakan sebagai bahan untuk membuat hewan coba Diabetes Melitus Tergantung Insulin (IDDM). Aloksan menimbulkan efek diabetogenik bila diberikan secara parenteral yaitu intravena, intraperitoneal atau subkutan. Dosis intravena yang sering digunakan pada tikus adalah 70 mg/kg BB. Bila pemberian intraperitoneal atau subkutan maka dosis efektifnya harus 2-3 kali lebih tinggi. Hewan coba dalam kondisi puasa lebih peka terhadap aloksan (Szkuldelski, 2001). Pada penelitian ini terlihat bahwa pemberian aloksan dosis 140 mg/kg BB intraperitoneal sekali pemberian pada mencit kondisi puasa, setelah lebih dari 48 jam menghasilkan kadar glukosa darah puasa antara 200-450 mg/dl.

Diabetes melitus menimbulkan komplikasi gangguan mikrovaskular dan makrovaskular. Gangguan mikrovaskular berakibat terjadinya nefropati, retinopati dan neuropati. Gangguan makrovaskular berakibat pada tingginya resiko terjadi aterosklerosis dan penyakit jantung iskemik ( Jakus,V, 2000).

Diabetes Melitus telah diketahui meningkatkan terjadinya stress oksidatif dan peroksidasi lipid. Hal ini terjadi karena adanya peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif maupun senyawa nitrogen reaktif, penurunan mekanisme antioksidan, perubahan status redoks selular dan peroksidasi lipid terhadap PUFA (Jakus, V, 2000). Akibat stress oksidatif adalah adaptasi atau kerusakan sel, misalnya kerusakan pada DNA, protein dan lipid (PUFA), kerusakan molekul antioksidan, gangguan homeostasis sel dan akumulasi molekul yang rusak. Pada kondisi ini antioksidan probucol bermanfaat mengurangi terjadinya stress oksidatif dan peroksidasi lipid karena antioksidan probucol bersifat lipofilik mempunyai kemampuan mencegah peroksidasi lipid terhadap PUFA, mencegah terbentuknya radikal superoksid dan menurunkan kadar anion radikal superoksid (Inoue N., Ohara Y., *et al.*, 1998). Sehingga kerusakan sel misalnya kerusakan DNA, protein dan lipid (PUFA), kerusakan molekul antioksidan, gangguan homeostasis sel dan akumulasi sel yang rusak pada diabetes melitus dapat dicegah.

Pada diabetes melitus, gugus amino bebas dari protein bereaksi dengan gugus karbonil dari reduksi glukosa menghasilkan Schiff-Base Intermediate. Schiff-Base Intermediate mengalami reaksi Amadori menjadi derivat ketoamin yaitu fruktosamin. Melalui jalur Wolff, glukosa mengalami autooksidasi menghasilkan prekursor karbonil reaktif AGEs seperti arabinose dan glyoxal.

Prekursor AGEs tersebut berubah menjadi AGEs (Advanced Glycation End Products) antara lain pentosidin, Vesperlysine, Carboxy Methyl Lisin (CML) (Jakus V., 2000).

AGE berinteraksi dengan reseptor RAGE, selanjutnya akan terjadi induksi lipid peroksidase seluler menghasilkan Advanced Lipoxidation Products antara lain Malondialdehyde (MDA), 4 Hydroxynoneal (HNE), Pyrroles, CML, Carboxyethyl Lysine (Jakus V., 2000). Probucol bekerja sebagai antioksidan pemutus reaksi rantai dan mempunyai aktifitas mencegah peroksidasi lipid seluler sehingga pembentukan Advanced Lipoxidation Product yang bersifat sitotoksik dapat dicegah. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Simon BC et al, 1993, menunjukkan bahwa pemberian antioksidan probucol dapat menurunkan peroksidasi lipid plasma pada hewan yang menerima kolesterol dan mempunyai efek perlindungan terhadap sel endotel. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lilik M, 2001, menunjukkan bahwa pemberian probucol pada tikus yang menerima stressor dapat menurunkan kadar MDA dalam darah dan menurunkan jumlah circulating endotel.

Peningkatan AGE pada DM akan menginaktifkan Nitric Oxida pada ruang sub endotel, sehingga terjadi gangguan vasodilatasi. Tingginya senyawa oksigen reaktif pada DM bereaksi dengan Nitric Oxida pada otot polos pembuluh darah. Inaktivasi NO oleh superoksida pada ruang subendotel membentuk peroksi nitrit, akan berakibat terjadinya respon vasodilatasi abnormal. Selain itu stress oksidatif juga menyebabkan penurunan sintesa dan pelepasan NO oleh sel endotel serta terjadinya inaktivasi NO sintase. Pada DM juga terjadi penurunan sistem antioksidan endogen misalnya superoksida dismutase dan catalase, kondisi ini

meningkatkan kerusakan NO oleh radikal bebas. Inaktivasi NO dan NO sintase tersebut mengakibatkan terjadinya disfungsi endotel ( Jakus V., 2000). Menurut Inoue N., Ohara Y., *et al.* (1998) probucol dapat mencegah pembentukan radikal superoksida yang dapat menginduksi inaktivasi EDRF dan menurunkan stress oksidatif melalui penurunan kadar radikal superoksida. Dalam hal ini antioksidan probucol berperan mencegah terjadinya gangguan vasodilatasi dan mencegah terjadinya disfungsi endotel yang disebabkan inaktivasi NO dan NO sintase oleh radikal superoksida.

CML, varian AGEs, dihasilkan pada proses glikooksidasi dan peroksidasi lipid, terakumulasi pada ginjal diabetik terutama di pembuluh darah, korteks renalis, area mesangial dan basal membran kapiler glomerulus sehingga menimbulkan stress oksidatif lokal dan terjadi lesi pada glomerulus diabetik ( Hendromartono, 2001).

Adanya disfungsi endotel dan akumulasi AGE pada ginjal diabetik yang disebabkan oleh stress oksidatif menimbulkan terjadinya nefropati diabetik. Nefropati diabetik merupakan komplikasi serius pada DM yang dapat berakibat gagal ginjal dan kematian. Penggunaan antioksidan probucol pada diabetes melitus diharapkan dapat mencegah nefropati diabetik karena probucol dapat mencegah terjadinya disfungsi endotel yang disebabkan inaktivasi NO dan NO sintase oleh radikal superoksida. Selain itu antioksidan probucol juga dapat mencegah peroksidasi lipid seluler yang aktifitasnya dapat diinduksi oleh interaksi AGE dengan reseptor RAGE (Jakus V., 2000).

Menurut Robbins (1999) ginjal merupakan sasaran utama diabetes melitus. Tiga lesi yang terjadi adalah 1) lesi glomerulus 2) lesi pembuluh darah ginjal terutama arteriolosklerosis dan 3) pyelonefritis.

Lesi glomerulus yang paling utama adalah penebalan basal membran kapiler glomerulus, glomerulosklerosis difusa dan glomerulosklerosis nodular. Perubahan penebalan basal membran kapiler glomerulus dapat dideteksi dengan mikroskop elektron pada diabetes melitus yang onsetnya belum terlalu lama, bahkan kadang tanpa disertai perubahan fungsi ginjal (Robbins, 1999).

Glomerulosklerosis difusa terjadi karena meningkatnya matriks mesangial yang disertai proliferasi sel mesangial dan selalu didahului dengan penebalan basal membran kapiler glomerulus. Hal ini didapatkan pada DM yang lebih dari 10 tahun. Apabila sudah terjadi glomerulosklerosis, penderita mengalami sindroma nefrotik yang ditandai dengan proteinuria, hipoalbuminemia dan edema. Deposisi matriks mesangial adalah PAS positif artinya bisa dideteksi dengan pengecatan PAS (Robbins, 1999)

Glomerulosklerosis nodular disebut juga sebagai glomerulosklerosis interkapiler atau penyakit Kimmelstiel Wilson. Lesi glomerulus ditandai dengan adanya bentukan spherical dan masa hyalin pada tepi glomerulus. Nodul glomerulosklerosis adalah PAS positif dan mengandung lipid dan fibrin (Robbins, 1999).

Pada penelitian ini yang dievaluasi adalah lesi glomerulus yang paling utama yaitu adanya penebalan basal membran kapiler glomerulus, yang dapat dideteksi dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000 kali memakai minyak imersi dengan pengecatan rutin Hematoksilin Eosin dan dapat terjadi pada diabetes

melitus yang onsetnya belum terlalu lama, bahkan kadang tanpa disertai perubahan fungsi ginjal (Robbins, 1999).

Hasil pemeriksaan histopatologi ginjal pada penelitian ini dapat terlihat gambaran glomerulus-glomerulus yang beberapa diantaranya mengalami penebalan pada basal membran kapilernya. Dari analisis hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan prosentase terjadinya penebalan basal membran kapiler glomerulus pada mencit diabetes melitus yang mendapatkan antioksidan probucol (P2, P3, P4), bila dibandingkan dengan mencit diabetes melitus yang tidak mendapatkan antioksidan probucol (P1). Sedangkan pada mencit yang tidak dibuat diabetes melitus dan tidak mendapat antioksidan probucol (P0), tidak terjadi penebalan basal membran kapiler glomerulus.

Berdasarkan analisis varian dari prosentase penebalan basal membran kapiler glomerulus diantara kelompok perlakuan menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada  $\alpha = 5\%$  ( $P < 0,05$ ). Untuk membandingkan antar masing-masing kelompok dilakukan uji LSD yang hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna diantara kelompok perlakuan pada  $\alpha = 5\%$  ( $P < 0,05$ ) dan terdapat hubungan dosis-respon dimana semakin tinggi dosis antioksidan probucol yang diberikan maka semakin besar respon efek perlindungan terhadap terjadinya penebalan basal membran kapiler glomerulus sehingga semakin kecil prosentase terjadinya penebalan basal membran kapiler glomerulus. Efek perlindungan terbesar didapatkan pada pemberian dosis probucol tertinggi yaitu 2,60 mg/20g BB dimana ditunjukkan dengan prosentase terkecil terjadinya penebalan basal membran kapiler glomerulus yaitu  $13,5 \pm 0,07$ .



Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa antioksidan probucol mempunyai efek perlindungan terhadap terjadinya nefropati diabetik pada mencit diabetes melitus eksperimental. Hal ini bisa terjadi karena antioksidan probucol yang bersifat lipofilik mempunyai kemampuan mencegah peroksidasi lipid terhadap PUFA, mencegah terbentuknya radikal superoksida dan menurunkan kadar anion radikal superoksida (Inoue N., Ohara Y., *et al.*, 1998) sehingga kerusakan sel misalnya kerusakan DNA, protein dan lipid (PUFA), kerusakan molekul antioksidan, gangguan homeostasis sel dan akumulasi sel yang rusak pada diabetes melitus yang disebabkan karena meningkatnya stress oksidatif dan peroksidasi lipid dapat dicegah.

Probucol bekerja sebagai antioksidan pemutus reaksi rantai dan mempunyai aktifitas mencegah peroksidasi lipid seluler sehingga induksi lipid peroksidase seluler oleh interaksi AGE-RAGE pada diabetes melitus dapat dicegah, selanjutnya pembentukan Advanced Lipoxidation Product yang bersifat sitotoksik antara lain MDA, HNE, Pyrroles, CML dan CEL pada diabetes melitus dapat dicegah (Simon BC., *et al.*, 1993 ; Jakus V., 2000 dan Lilik M., 2001).

Menurut Inoue N., Ohara Y., *et al.* (1998) probucol dapat mencegah pembentukan radikal superoksida yang dapat menginduksi inaktivasi EDRF dan menurunkan stress oksidatif melalui penurunan kadar radikal superoksida. Dalam hal ini antioksidan probucol berperan mencegah terjadinya gangguan vasodilatasi dan mencegah terjadinya disfungsi endotel yang disebabkan inaktivasi NO dan NO sintase oleh radikal superoksida membentuk peroksinitrit pada diabetes melitus.



Pada penelitian ini menggunakan probucol sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya nefropati diabetik akibat stress oksidatif karena menurut Chen TH. et al. (1998) efek antioksidan probucol sepuluh kali lebih kuat dibanding vitamin E jika dilihat pada kemampuan 50% konsentrasi hambatannya ( $IC_{50}$ ) terhadap MDA yang berturut-turut Probucol > Vitamin E > Vitamin C. Selain itu probucol juga berfungsi sebagai agen hipolipidemik, dimana pada diabetes melitus sering disertai dislipidemia.