

Kruskal-Wallis test dan dilanjutkan dengan uji hipotesis *Mann-Whitney*.

Hasil uji ini menunjukkan kadar NO makrofag intraperitoneal pada kelompok P1 (kontrol) dibanding dengan masing-masing kelompok perlakuan (P2,P3,P4) terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p = 0,009$ ($p < 0,05$). Terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar NO makrofag intraperitoneal pada kelompok perlakuan P2 dibandingkan kelompok perlakuan P3 ($p = 0,009$), kelompok perlakuan P2 dibandingkan kelompok perlakuan P3 ($p = 0,009$) dan pada kelompok perlakuan P3 dibandingkan kelompok perlakuan P4 ($p = 0,009$).

BAB VI

PEMBAHASAN

Endotoksin atau LPS adalah suatu komponen membran luar dari bakteri gram negatif yang dapat menginduksi sepsis. Patofisiologi sepsis sudah banyak diketahui tetapi terapi masih terbatas dan mortalitasnya masih tinggi. Efek paparan LPS menyebabkan pelepasan beberapa sitokin (TNF, NF κ B, IL-1, IL-8) sebagai media pertahanan tubuh terhadap benda asing yang memiliki dampak positif dan negatif. Pada sepsis terjadi pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-8 yang berhubungan dengan kerusakan endotel dan jaringan yang nantinya akan menyebabkan hipotensi sistemik, hiporeaktif vaskuler, dan depresi miokard.^{1,7,10}

Nitric oxide adalah molekul biologi yang dihasilkan oleh berbagai jenis sel, mempunyai pengaruh yang baik dan juga buruk ditingkat pembuluh darah dan seluler. NO merupakan kunci penting pada patogenesis sepsis. Pada pemberian LPS akan merangsang pelepasan mediator proinflamasi seperti IFN- γ , TNF- α , serta IL-1 yang akan menginduksi aktivasi iNOS dalam memproduksi NO. Makrofag merupakan komponen penting dari respons inflamasi terhadap injuri jaringan dan merupakan tipe sel untuk pemeriksaan kadar NO terutama iNOS.^{5,21,23}

Hasil pengamatan dapat dilihat bahwa terdapat penurunan kadar NO makrofag intraperitoneal yang bermakna pada pemberian vitamin C baik pada dosis 0.52 mg/hr, 1.04 mg/hr maupun pada pemberian vitamin C dosis 2.6 mg/hr dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi vitamin C. Dari penelitian ini juga didapatkan bahwa pemberian vitamin C dosis 2.6 mg/hr menurunkan kadar NO makrofag intraperitoneal yang paling besar dibanding kelompok perlakuan yang lain apabila dilihat dari rerata kadar NO, sehingga

didapatkan adanya tren *dose dependent* pada pemberian vitamin C.

Long CL *et al* (2003) menyatakan bahwa pemberian vitamin c pada tikus sepsis dapat melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dan bermanfaat untuk sel bertahan hidup. Kelebihan radikal bebas akan diredam oleh antioksidan.¹⁶ Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan akan menimbulkan *oxydative stress*. *Oxydative stress* diduga mendasari patofisiologi penyakit-penyakit kritis, khususnya terjadi kegagalan organ. *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen-oxygen species* (RNOS) sudah jelas memegang peranan dalam modulasi *cell signaling*, proliferasi, apoptosis, dan proteksi sel.^{6,21} Selbihnya, ROS/RNOS dapat memacu pelepasan sitokin dari sel imun, mengaktivasi kaskade inflamasi, dan meningkatkan ekspresi adhesi molekul, yang diperantarai melalui peningkatan ekspresi *Nuclear Factor kappa B* (NFκB) sehingga inflamasi dan trauma jaringan berakibat akumulasi granulosit pada organ yang mengakibatkan terjadi peningkatan generasi ROS dan respons inflamasi berlipat ganda serta memperparah kerusakan jaringan.¹⁰ Faktor transkripsi NF-κB mempunyai peranan krusial pada proses inflamasi. NF-κB merupakan faktor transkripsi yang akan memicu produksi sitokin. Pemberian LPS akan mengaktifkan NF-κB yang akan meningkatkan produksi mediator inflamasi seperti IL-8, TNF-α, *intercellular adhesion molecule* (ICAM) dan cyclooxygenase-2. Dimana TNF-α merupakan sitokin pertama yang terinduksi setelah stimulasi LPS yang kemudian juga akan menstimulasi IL-1 dan IL-6 pada makrofag, monosit, neutrofil dan sel endotel. Efek supresi vitamin C melalui

penghambatan pelepasan TNF- α yang diinduksi oleh LPS. Pada penelitian ini penurunan kadar NO makrofag akibat iNOS tidak teraktivasi dikarenakan efek supresi vitamin c terhadap TNF- α .¹⁶

Pada kondisi normal sistem imun mempunyai efek proteksi yang sangat dibutuhkan tubuh, tetapi jika sistem imun ini bereaksi berlebihan akan menyebabkan efek sitotoksik dan dapat merusak jaringan normal pada tubuh, hal tersebut dapat dilihat pada kondisi sepsis, *acute respiratory distress syndrom* (ARDS), penyakit autoimun dan cedera iskemia pada otak. Helen F Galley *et al* (1996), vitamin C pada dosis tertentu menghambat produksi TNF- α sehingga dapat mencegah induksi iNOS pada kultur makrofag alveolar akibat pemberian LPS.¹⁵

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa vitamin C pada dosis 0.52; 1.04; 2.6 mg/hr pada mencit yang setara dengan pemberian dosis vitamin C 200; 400; 1000 mg/hr pada manusia menurunkan kadar NO secara signifikan. Penelitian yang telah dilakukan mendapatkan bahwa vitamin C dosis 2.6 mg/hr pada mencit yang setara dengan 1000 mg/hr pada manusia merupakan dosis yang efektif dalam menekan produksi NO. _

Vitamin C merupakan antioksidan hidrofilik dan pada saat tertentu dapat bertindak sebagai prooksidan. Adanya Fe²⁺ sangat tidak menguntungkan karena melalui reaksi Fenton dan reaksi Haber-Weiss dapat terbentuk radikal hidroksil yang sangat toksik. Radikal bebas ini dapat mengganggu integritas sel dan dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel, baik struktural seperti molekul-molekul penyusun membran maupun komponen fungsional seperti protein, enzim dan DNA. Pemberian

vitamin C pada dosis besar akan meningkatkan ekspresi dari fosfolipase A₂ dan siklooksigenase (COX)-1 sitosolik. Peningkatan ekspresi kedua enzim ini pada kaskade asam arakhidonat akan meningkatkan prostasiklin, suatu faktor vasodilatasi dan inhibitor agregasi platelet pada manusia.

Selama ini telah diyakini bahwa mitokondria merupakan sumber utama pembentukan radikal bebas. ROS dalam jumlah yang lebih banyak daripada sistem antioksidan endogen memiliki efek merugikan, sehingga radikal bebas dikatakan memainkan peranan yang signifikan.

Produksi ROS terjadi dari disfungsi mitokondria, seperti yang klasik terjadi pada syok septik serta konversi xanthin dehidrogenase menjadi xanthin oksidase yang teraktivasi selama iskemia dan trauma reperfusi. Mediator-mediator penting yang berperan pada iskemia reperfusi meliputi: *Reactive Oxygen Spesies/Reactive Nitrogen Spesies* (terutama O₂⁻, H₂O₂, NO dan ONOO⁻) kadar glutamat yang tinggi menyebabkan eksitotoksisitas, perubahan metabolisme miokardium dan serebral, pelepasan ion katalitik, peningkatan Ca²⁺ intraseluler, disfungsi endotel dan mikrovaskular serta akumulasi asam lemak bebas karena aktivasi enzim fosfolipase A₂.⁴⁰

Percobaan pada binatang membuktikan bahwa derajat inhibisi NOS merupakan hal penting bagi *outcome* terapi, tetapi pada dosis besar akan mengakibatkan vasokonstriksi, kerusakan *end-organ*, dan mempercepat kematian.⁵

BAB VII

SIMPULAN dan SARAN