

BAB VI

PEMBAHASAN

Pemberian asam lemak *trans* dosis 5 % dan 10 % selama 8 minggu dapat menyebabkan perlemakan hati non alkohol yang ditandai dengan steatosis hati, inflamasi dan degenerasi *ballooning* hepatosit dengan derajat yang berbeda, hal ini membuktikan hipotesis peneliti terbukti. Derajat kerusakan sel hati pada tikus dengan pemberian asam lemak *trans* 5 % lebih ringan dibandingkan dengan dosis 10 %. Kerusakan hati yang disebabkan asam lemak *trans* pada kelompok perlakuan 2 sudah berlanjut ke steatohepatitis, sedangkan kelompok perlakuan 1 masih dalam batas *borderline*.

Penyakit perlemakan hati non alkohol adalah kondisi klinik dan patologi yang memiliki keparahan dari steatosis derajat ringan sampai steatohepatitis non alkohol. Steatosis derajat ringan tidak berbahaya dan bersifat *reversible*, dapat membaik atau hilang apabila faktor penyebab perlemakan hati dihilangkan. Perkembangan steatosis menjadi steatohepatitis non alkohol (NASH) dipengaruhi oleh faktor penyebab NAFLD yang bersifat menetap bahkan meningkat. Steatohepatitis merupakan gabungan steatosis dan nekroinflamasi seperti *balloon* hepatosit, sel apoptosis dan badan *Mallory hyaline* atau megamitokondria dalam sitoplasma hepatosit, dan infiltrasi sel radang dan makrofag.

Derajat respon inflamasi bervariasi dan tidak selalu berkorelasi dengan derajat steatosis seperti yang ditemukan pada hasil penelitian. Derajat steatosis berat dapat terlihat hepatosit yang menggelembung (*ballooning*) memberi

kontribusi terjadinya steatohepatitis yang terlihat pada kelompok 3 yang diberi asam lemak trans 10 % didapat jumlah *ballooning* yang sedikit membuktikan adanya pengaruh steatosis dengan degenerasi ballooning, meskipun secara statistik tidak berbeda secara bermakna.

Pemberian asam lemak *trans* dosis tinggi (14 % dari total energi) pada penelitian Machado²⁰ dapat menyebabkan steatohepatitis dengan steatosis derajat berat (3) dan inflamasi derajat sedang (2), ternyata hasil penelitian dengan menggunakan dosis 10 % sudah menyebabkan steatohepatitis dengan gambaran yang sama dengan pemberian asam lemak *trans* dosis 14 %.

Kerusakan hepatosit karena pemberian asam lemak *trans* dosis 20 % selama 8 minggu dan 15 % selama 16 minggu didapat adanya perlemakan hati dengan derajat berat. Hasil penelitian ini melengkapi penelitian sebelumnya ternyata pemberian asam lemak *trans* dosis 5 % selama 8 minggu telah menyebabkan steatosis meskipun dalam derajat ringan.

Perlemakan hati akibat pemberian asam lemak *trans* bersifat multifaktoral yang dapat terjadi karena peningkatan peroksidasi lipid, penurunan efisiensi enzim antioksidan, peningkatan pembentukan toksik intermediet, akumulasi radikal O₂⁻ dan H₂O₂ yang membentuk radikal bebas dalam organel, memacu pengeluaran TNF- α , peningkatan toksisitas asam lemak bebas, penurunan fungsi mitokondria dan peroximal β -oksidasi, pembentukan oksigen spesies reaktif yang dapat menyebabkan apoptosis dan inflamasi hati⁴⁸.

Peningkatan steatosis hepatosit pada penelitian ini bervariasi mulai dari derajat ringan sampai berat, pemberian asam lemak *trans* dengan jumlah kalori

sebanyak 80 kal/ hari menyebabkan obesitas dan memacu terjadinya resistensi insulin⁵⁷. Perlemakan hati non alkohol dihubungkan dengan resistensi insulin dengan meningkatkan PPAR- α yang memediasi sistem oksidasi asam lemak merangsang lipolisis yang menghasilkan peningkatan asam lemak bebas yang memacu oksidasi lemak atau esterifikasi menjadi trigliserid dan menimbulkan perlemakan di hati.

Jumlah konsumsi makan tikus pada kelompok perlakuan lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol, hal ini disebabkan karena metabolisme lemak lebih lama dibandingkan dengan metabolisme protein dan karbohidrat. Pencernaan lemak yang utama terjadi di duodenum dan illium. Proses pencernaan tentunya selalu melibatkan air, namun sifat *hydrophobic* lemak memerlukan proses emulsifikasi agar lemak dapat dicerna dan di absorpsi. Proses emulsifikasi dibantu hormon kolesitokinin yang memberi kode pada kantung empedu untuk menghasilkan asam empedu. Asam empedu inilah yang mengemulsi lemak menjadi misel. Kemudian dengan bantuan enzim lipase pankreas, lemak dihidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Hasil hidrolisis ini menjadi micel dengan bantuan garam empedu.

Proses pencernaan lemak yang membutuhkan waktu yang lama akan mempengaruhi pengosongan lambung. Salah satu faktor yang mempengaruhi pengosongan lambung adalah umpan balik hormonal dari duodenum. Bila makanan asam lemak yang terdapat dalam *chyme* yang masuk ke dalam duodenum akan menekan aktivitas pompa pilorus dan pada akhirnya akan menghambat pengosongan lambung. Hal ini memegang peranan penting

memungkinkan pencernaan lemak yang lambat sebelum akhirnya masuk ke dalam usus yang lebih distal. Pengosongan lambung lama akan menurunkan keinginan tikus untuk mengkonsumsi makanan banyak.⁵⁸

Peningkatan berat badan tikus yang diberi asam lemak *trans* lebih banyak walaupun jumlah yang dikonsumsi lebih sedikit dari kelompok kontrol yang membuktikan bahwa efisiensi makanan kelompok tikus dengan asam lemak *trans* mempengaruhi metabolisme lemak. Studi prospektif melaporkan hubungan asupan asam lemak *trans* dan peningkatan adiposit perut, hal ini terjadi karena asam lemak *trans* dikaitkan dengan peningkatan resiko diabetes mellitus tipe 2, merusak sensitivitas insulin yang menyebabkan perubahan struktur membran sel didukung oleh peningkatan prostaglandin, TNF- α dan IL-6 yang dapat menghambat sensitivitas insulin. Hiperinsulinemia dapat mempromosikan akumulasi lipid dengan mengekspresikan aktivitas lipoprotein lipase.⁵⁹⁻⁶⁰ Penyakit perlemakan hati non alkohol berhubungan kuat dengan obesitas. Obesitas mengalami penurunan kadar adiponektin yang akan menyebabkan penurunan daya proteksi hati terhadap lemak sehingga terjadi resistensi insulin.⁵²

Respon inflamasi pada penelitian ini umumnya berat, meningkat seiring dengan peningkatan dosis asam lemak *trans*, dimana derajat inflamasi pada kelompok asam lemak *trans* dosis 10 % lebih berat dibanding dosis 5 %. Sel inflamasi yang ditemukan banyak sel limfosit, dan sedikit mononuklear, polimorfonuklear dan eosinofil., sel radang banyak ditemui di daerah zona 3 hati.

Respon inflamasi ini terjadi karena hati merupakan salah satu organ imun yang *non* spesifik yang memiliki sel NK, sel NKT, sel dendrit dan makrofag

sebagai pertahanan tubuh. Sistem imun *non* spesifik merupakan pertahanan pertama untuk mencegah organisme patogen masuk ke dalam tubuh termasuk paparan diit tinggi asam lemak *trans*.⁶¹ Banyaknya jumlah limfosit di tempat radang disebabkan sel imun yang banyak di hati adalah sel fagosit dan sel limfosit, setiap 1,5 kg hati manusia memiliki 1×10^{10} limfosit yang paling banyak NK sel dan pada tikus terdiri dari 30 % sel NK⁶².

Proses inflamasi dipacu oleh peningkatan ROS yang terbentuk sebagai produk peroksidasi lipid. Asam lemak *trans* memiliki ikatan rangkap yang dapat meningkatkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah proses degradasi oksidatif dari PUFA yang terjadi di membrane fisiologis dan dapat menyebabkan gangguan fungsi membran. Pada tahap awal peroksidasi lipid terjadi pelepasan hidrogen dari asam lemak tidak jenuh sehingga terbentuk radikal alkil yang terjadi karena adanya inisiator (panas, oksigen aktif, logam atau cahaya). Pada keadaan normal radikal alkil cepat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil dimana radikal peroksil ini bereaksi lebih lanjut dengan asam lemak tidak jenuh membentuk hidroperoksida dengan radikal alkil, kemudian radikal alkil yang terbentuk ini bereaksi dengan oksigen. Reaksi outooksidasi ini adalah reaksi berantai radikal bebas.⁶³ Konsumsi asam lemak *trans* juga menginduksi p-450 mikrosom sitokrom untuk meningkatkan oksidasi asam lemak yang menimbulkan stres oksidatif.

Peningkatan ROS memacu sel Kupffer untuk menghasilkan sitokin TNF- α , TGF- β dan IL dan meningkatkan reaksi inflamasi di hepar. Peningkatan sel radang pada penelitian ini menandakan adanya inflamasi akut yang terjadi akibat

asam lemak *trans* yang mengaktifkan jalur inflamasi di hati yang diperankan oleh monosit, makrofag (sel Kupffer) dan adiposit, dimana asam lemak *trans* berikatan dengan *toll like receptor* (TLR4) dan mengaktifkan faktor *transkripsi* (NF-kB) dan gen *transkripsi* untuk menghasilkan sitokin peradangan akut seperti TNF- α , IL-6 , CRP ⁵¹, pengaktifan sitokin proinflamasi merangsang penarikan neutrofil dan monosit selama inflamasi akut.

Resistensi insulin yang memicu stres oksidatif memiliki peranan terhadap inflamasi di hati. FoxO1 merupakan faktor *transkripsi* gen yang dapat memediasi target ekspresi gen di sel perifer. FoxO1 bersamaan dengan NF-kB menghasilkan sitokin proinflamasi IL-1 β .⁶⁴ Stres oksidatif menyebabkan gangguan oksidasi lemak di mitokondria, menghambat β -oxidation dan respirasi yang berakibat terhadap penurunan ATP dan peningkatan pembentukan ROS yang melanjutkan *caspase* respon inflamasi.

Cascade proinflamasi ini akan dilanjutkan oleh sekresi TNF, IL 6 dan IL 1- β oleh aktivasi makrofag. Sitokin ini akan memberikan efek kepada adiposit dan hati. Sitokin di adiposit akan menstimulus *nuclear factor B* (NF-kB) dan *Jun N-terminal kinase* (JNK) yang menyebabkan resisten insulin. JNK memiliki efek sebagai signal proinflamasi, menyebabkan inflamasi dengan membantu pembentukan faktor transkripsi AP-1 dan NF-kB.

Degenerasi *ballooning* ditemukan pada pemberian asam lemak *trans* dosis 10 % dengan jumlah yang sedikit. Degenerasi ballooning terjadi karena stres oksidatif dari asam lemak *trans* menyebabkan disfungsi pada sitoplasma hepatosit terutama pada mitokondria. Mitokondria hepatosit mengalami penurunan

kecepatan resintesis ATP, penurunan kadar mtDNA dan peningkatan β -oxidation membentuk *nicotinamide-adenine dinucleotide (NADH)* , *flavine-adenine dinucleotide (FADH₂)* xi dan pengiriman elektron menuju rantai respirasi.membentuk *superoxide anion radical, hydrogen peroxide, hydroxyl radical* dan *peroxynitrite (ONOO-)* dengan adanya kadar *inducible nitric oxide synthase (iNOS)* tereduksi.

Species – species reaktif ini dapat menyebabkan lesi oksidatif pada *mtDNA* yang dapat menurunkan sintesis polipeptida rantai respirasi yang dikodekan *mtDNA* sehingga selanjutnya memblokade aliran elektron didalam rantai respirasi dan meningkatkan pembentukan *ROS* mitokondria. *ROS* mitokondria dapat merusak *cardiolipin* mitokondria dan dapat melepaskan produk *reactive lipid peroxidation* yang bereaksi dengan *mtDNA* dan *cytochrome c oxidase* untuk selanjutnya meningkatkan pembentukan *ROS* mitokondria yang merusak mitokondria dan kematian sel hepar²⁷⁻²⁸.

Peningkatan jumlah lemak , sel-sel radang maupun adanya degenerasi *ballooning* dalam penelitian ini menyebabkan hati menjadi membesar dimana kelompok perlakuan dengan asam lemak *trans* 10 % memiliki berat hati yang lebih tinggi dibandingkan kelompok dengan asam lemak *trans* 5 % maupun kelompok kontrol, hal ini melengkapi penelitian Machado, dkk yaitu konsumsi asam lemak *trans* dosis 15 % dapat menyebabkan hepatomegali²⁰.

Keterbatasan Penelitian ini tidak dapat melihat proses yang menyebabkan perlemakan hati non alkohol pada tikus seperti mengukur aktivitas oksidasi, resistensi insulin dan peningkatan sitokin proinflamasi TNF- α , IL-6 dan IL-1.