

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian didapatkan data kadar absorbansi Advanced Glycation End Products (AGEs) melalui pemeriksaan serum darah tikus putih strain wistar terbagi dalam tiga kelompok A = pemberian vitamin C, B.= pemberian vitamin E, C = kontrol negatif yang telah diberi kriteria inklusi dan eksklusi.

A. Perlakuan Kontrol Negatif

Pretest	Column1	Middle	Column2	Posttest	Column3
A1	0.22	B1	1.3	C1	4.25
	100%		590.91%		1931.8%
A2	0.29	B2	1.67	C2	5.7
	100%		575.8%		1965.5%
A3	0.27	B3	2.78	C3	6.42
	100%		1029.6%		2377.8%
A4	0.25	B4	2.68	C4	4.66
	100%		1072%		1864%
A5	0.43	B5	2.48	C5	3.47
	100%		576.7%		806.9%

Keterangan : hasil midle test dan postest dibagi pretest kemudian dikali 100%

A = Pretest
B = Middle
C = Postest

Dari tabel diatas terlihat kenaikan kadar AGEs pada tiap subyek selama periode pretest, middle, postest. Dari data statistik didapatkan signifikansi antara pretest dan middle test sebesar $p = 0,014$ kemudian signifikansi middle dan postest sebesar $p = 0,01$, hal ini berarti terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perubahan kadar AGEs pada kelompok kontrol negatif dari pretest hingga postest.

B. Kelompok B vitamin C

Prefest	Column1	Middle	Column2	Postest	Column3
A1	0.25	B1	0.37	C1	0.4
	100%		148%		160%
A2	0.3	B2	0.55	C2	0.56
	100%		183.33%		186.67%
A3	0.23	B3	0.4	C3	0.5
	100%		173.91%		217.9%
A4	0.125	B4	0.75	C4	0.82
	100%		600%		656%
A5	0.26	B5	0.36	C5	0.55
	100%		138.46%		211.53%

Pada uji statistik dengan anova tidak dapat dilakukan karena distribusi tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji kruskal wallisi. Hasil yang didapatkan yaitu signifikansi $p = 0,05$, hal ini menandakan tidak ada perbedaan yang mencolok pada kadar AGEs pada saat pretest hingga postest.

Vitamin C ini dapat bekerja sebagai antioksidan melalui efek pembersihan (*scavenging*) terhadap senyawa oksigen reaktif (SOR), radikal hidroksil (OH^{*}), dan senyawa nitrogen reaktif (SNR), meskipun efeknya tidak sebesar efek yang ditimbulkan enzim superoksida dismutase (SOD). Antioksidan dianggap berperan pula untuk memulihkan radikal tokoferol quinon menjadi tokoferol tereduksi yang mempunyai efek sebagai pencegat (*interceptor*) terhadap radikal bebas di membran, sehingga fungsinya kembali pulih

C. Kelompok C vitamin E

Pretest	Column1	Middle	Column2	Posttest	Column3
A1	0.12	B1	0.12	C1	0.12
	100%		100%		100%
A2	0.15	B2	0.5	C2	0.53
	100%		333.33%		353.33%
A3	0.31	B3	0.5	C3	0.57
	100%		161.29%		183.8%
A4	0.25	B4	0.43	C4	0.62
	100%		172%		248%
A5	0.12	B5	0.45	C5	0.5
	100%		375%		416.67%

Tidak berbeda dengan kelompok vitamin C, distribusi kelompok ini juga tidak normal sehingga harus dilakukan dengan test kruskal wallisi dan didapatkan bahwa data menunjukkan tidak signifikan dengan $p = 0,32$

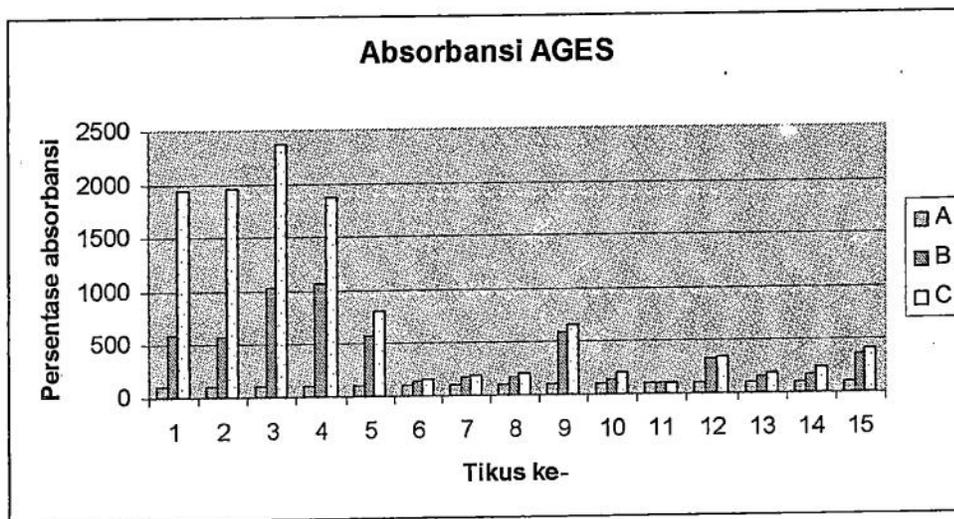
Melalui dua data diatas dapat dilihat bahwa kelompok anti oksidan memberikan dampak yang dampak menekan kadar AGEs

Adanya reaksi dari gugus aldehid glukosa dengan gugus amino protein adalah reaksi yang dapat membentuk AGEs dengan proses glikosilasi.

Vitamin C dan vitamin E dapat menghambat laju pembentukan AGEs karena kandungan yang dimilikinya, yaitu asam askorbat untuk vitamin C dan tokoferol untuk vitamin E.

Tokoferol berperan menghambat peroksidasi lipid karena dapat membersihkan (*scavenger*) radikal peroksil lipid (LO_2^{\cdot}) lebih cepat daripada reaksi radikal itu terhadap rantai sampai asam lemak yang berdekatan (*chain-breaking*)

effect). Tokoferol berinteraksi pula dengan ubikuinol dan hal ini penting untuk melindungi lipoprotein membran sel terhadap oksidasi, selain itu dapat pula bereaksi terhadap O₂ singlet. Selanjutnya tokoferol dapat pula bereaksi dengan radikal peroksi lipid menghasilkan substansi yang tidak bersifat radikal (29).

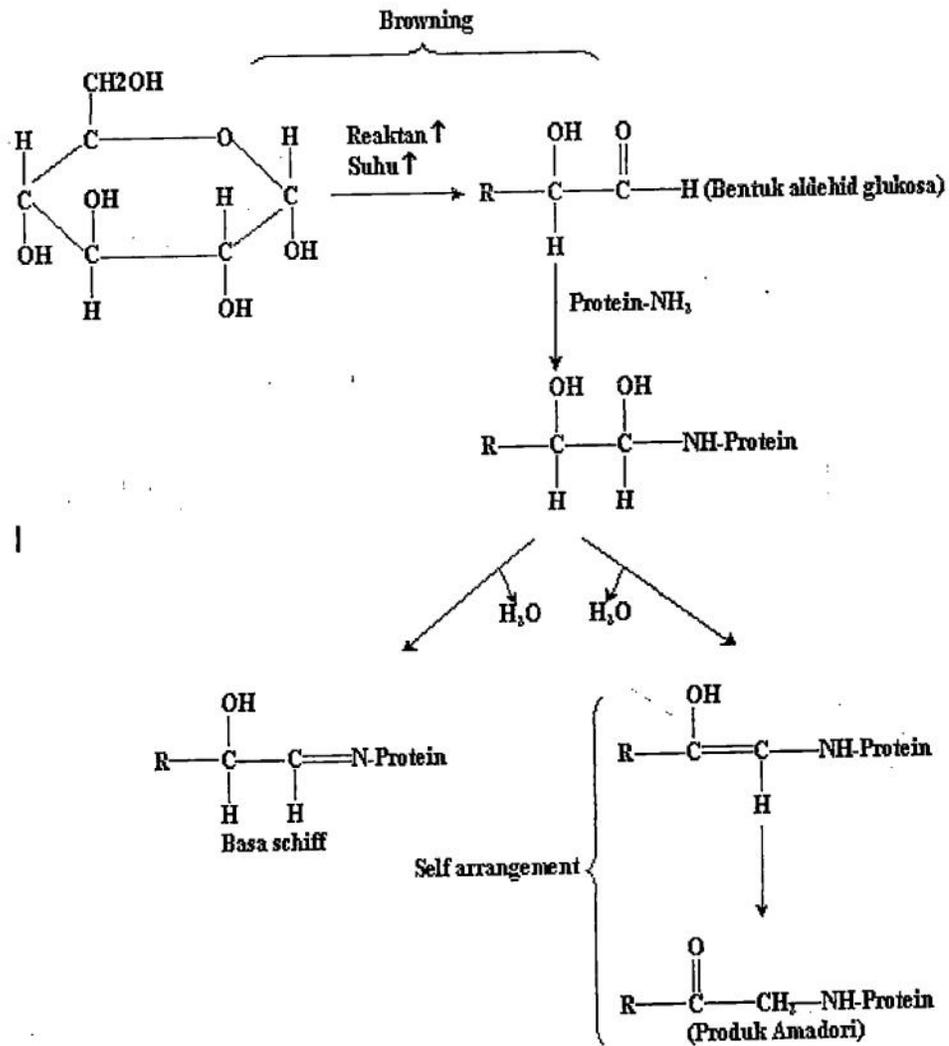


Grafik 1. Absorbansi AGES

Dari grafik diatas aktifitas anti oksidan yang dimiliki oleh vitamin C dan vitamin E mampu menghambat laju pembentukan AGEs dibandingkan dengan kontrol negatif yang tidak diberikan perlakuan apa-apa.

Mekanisme reaksi glikosilasi sangat rumit, namun dapat dianalisa melalui tiga tahap. Tahap pertama reaksi terjadi lewat transformasi *D-glucopirosone* menjadi AGEs yang dimulai ketika molekul glukosa karbon rantai 6 berbentuk cincin secara

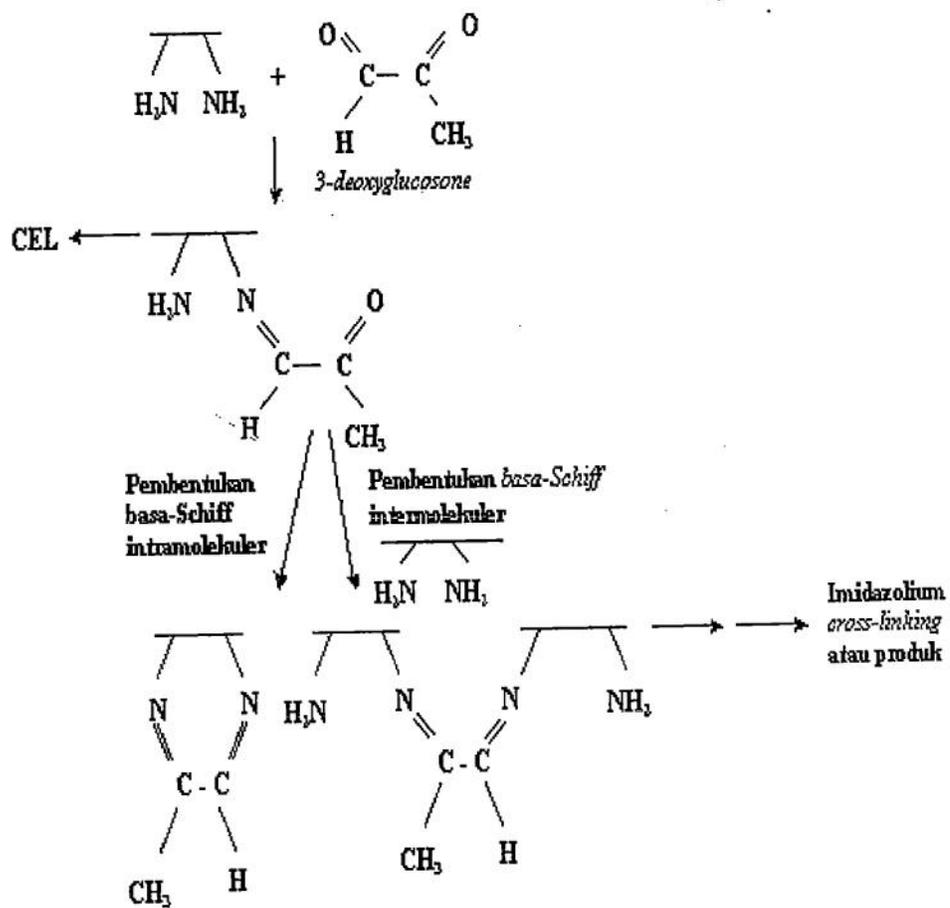
spontan membuka, dan berubah menjadi molekul yang linear dengan aldehid (CHO) pada salah satu sisinya (12,18), reaksi ini disebut *browning* (12). Aldehid dapat bereaksi dengan gugus amino (-NH₂) dari suatu makromolekul biologik, dan menggandeng glukosa ke protein (11,12). Hasil reaksi awal dikenal sebagai *basa schiff*, yang secara spontan mengatur sendiri (*self arrangement*) menjadi produk Amadori, reaksi ini dapat berjalan reversibel sehingga secara fisiologis tidak mempunyai pengaruh (12). Pada konsentrasi glukosa darah yang rendah, ikatan glukosa dengan gugus amino akan terlepas lagi. Sebaliknya, konsentrasi glukosa darah yang tinggi akan meningkatkan *hooking* glukosa pada gugus amino (12,18).



Gambar 1. Proses pembentukan glukosa menjadi produk Amadori [11]

Tahap kedua terjadi dengan ditunjang oleh konsentrasi glukosa yang terus-menerus tinggi, hal ini menyebabkan *hooked sugars* tetap berada di tempatnya dan berbagai reaksi lanjutan akan terjadi (12,13,18). Sesudah berlangsung beberapa saat, akan terjadi serangkaian perubahan melalui proses jalur oksidatif, non-oksidatif, maupun penataan ulang sehingga terbentuk senyawa CML (*N-carboxymethyllysine*)

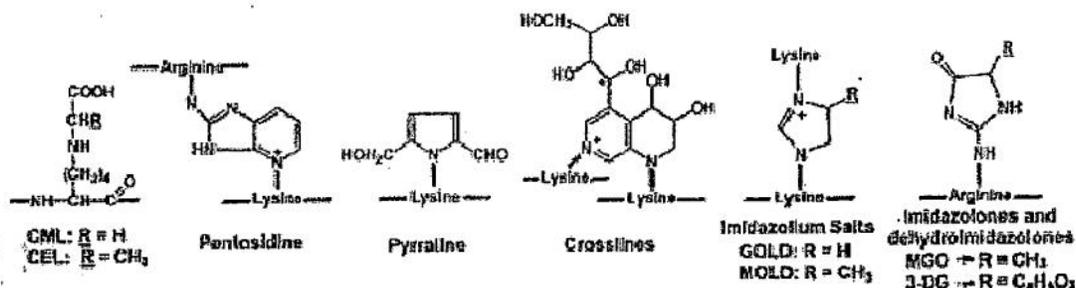
dan *pentosidine* (jalur oksidatif), *pyralline* (jalur non-oksidatif), dan 3-DG (*3-deoxyglucosone*) (proses penataan ulang) (11,12,18). Adapun senyawa intermediet α -oxoaldehid yang terbentuk dari jalur poliol maupun peroksidasi lipid berupa GLO (*glyoxal*), MGO (*methylglyoxal*), dan 3-DG (*3-deoxyglucosone*) (13,18).



Gambar 2. Proses pembentukan senyawa intermediet glikasi non-enzimatis [20]

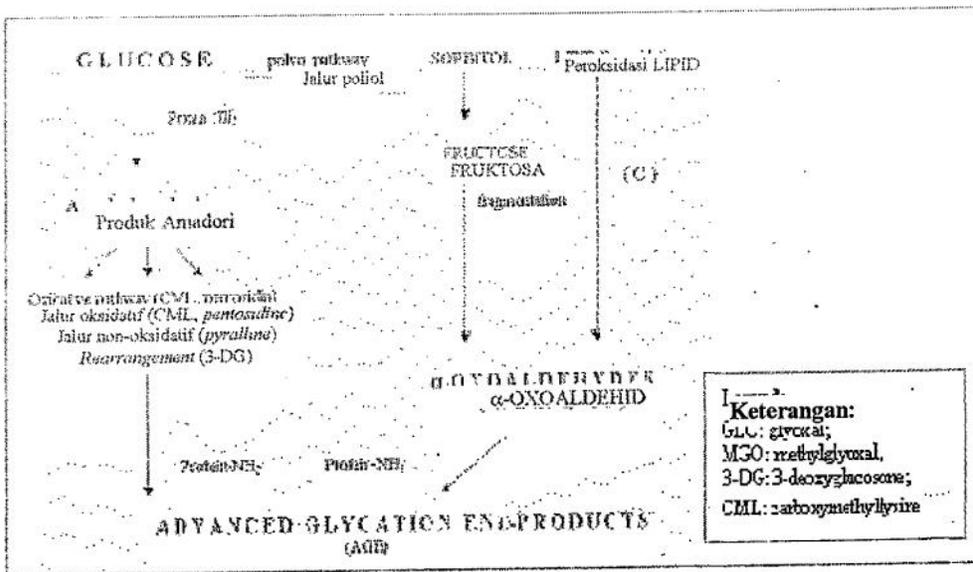
Produk Amadori yang terbentuk pada tahap pertama reaksi Maillard mengalami *rearrangement* menjadi senyawa dikarbonil (13,20). Senyawa dikarbonil berikatan dengan protein membentuk 3-DG (*3-deoxyglucosone*) (13,20). 3-DG

dengan protein kemudian bertanggung jawab pada pembentukan *basa schiff* intramolekuler dan intermolekuler, reaksi ini terjadi pada tahap ketiga reaksi Maillard (13,20).



Gambar 3. Berbagai struktur AGE (CML: *N*-(carboxymethyl)lysine; CEL: *N*-(carboxyethyl)lysine; GOLD: Glyoxal-lysine dimer; MOLD: methylglyoxal-lysine dimer; MGO: methylglyoxal; 3-DG (3-deoxyglucosone) [13]

Tahap ketiga reaksi Maillard akan menghasilkan senyawa yang sangat tidak stabil dan reaktif (11,12,13). Senyawa intermediet yang terbentuk pada tahap kedua akan bereaksi secara polimerisasi dengan struktur protein membentuk senyawa AGEs (12,13,18).



Gambar 4. Skema yang menunjukkan jalur potensial pembentukan AGE: (1) AGE terbentuk dari dekomposisi produk Amadori, (2) produk fragmentasi dari jalur polioli, (3) produk gliksidatif yang bereaksi dengan gugus amino protein [18].

E. Manifestasi Klinis

Berdasarkan *american diabetes association*, AGEs terbentuk secara konstan dan sangat perlahan didalam tubuh manusia yang normal. Dimulai sejak awal masa embrionik dan terakumulasi seiring waktu. Namun pembentukannya dapat berubah menjadi sangat cepat dalam kondisi diabetes dikarenakan peningkatan reaktivitas glukosa. Karakteristik AGEs sehingga dapat menimbulkan efek ialah dengan membentuk ikatan kovalen diantara protein-protein, sehingga akan memberikan dampak pada struktur dan fungsinya. Terutama yang terdapat dalam matriks seluler, membrana basalis dan komponen dinding pembuluh darah. Banyak penelitian yang menunjukkan keberadaan AGEs pada keadaan diabetes yang disertai komplikasi.

Sebagai contoh pada pasien dengan diabetes yang dilakukan pemeriksaan pada pembuluh darah mata. Ditemukan kadar AGEs yang sama pada penderita retinopati.

Atherosklerosis adalah masalah yang paling signifikan terjadi pada penderita diabetes yang menjadi pemicu terbesar dan menimbulkan mortalitas dengan kondisi kardiovaskular maupun cerebrovaskular. Timbunan AGEs pada jaringan pembuluh darah pada orang diabetes dikaitkan dengan perubahan yang terjadi pada sel endotel, otot polos sel fungsional, dan makrofag. AGEs juga dapat berinteraksi dengan LDL kolesterol, yang akan membuat LDL menjadi lebih mudah tertimbun di pembuluh darah, membentuk formasi streak, yang kemudian dapat menjadi arteroma.

Aminoguanidin merupakan *first line drugs* untuk menangani AGEs namun kita dapat juga menanganinya dengan mengonsumsi makanan sehat, gaya hidup sehat serta intake antioksidan yang cukup, baik berupa antioksidan alami ataupun dalam bentuk suplemen.