

## Pengaruh Akupunktur Titik Paravertebral Th VIII-X terhadap Kadar Malondialdehide (MDA) pada Kelinci yang Diinduksi Asetaminofen

### *The Effect Acupuncture of Paravertebral Thorax (Th) VIII-X Point on The Malondialdehide on Acetaminophen Induced Rabbit*

Ida Nurwati

Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Solo

**KATA KUNCI** Akupunktur; paravertebral Th VIII-X; malondialdehide; asetaminofen  
**KEYWORDS** Acupuncture; paravertebral th VIII-X point; malondialdehide; acetaminophen

**ABSTRAK** Asetaminofen, hepatotoksin yang menimbulkan kerusakan sel hepar. Kerusakan tersebut akibat terbentuknya metabolit reaktif N-asetil-p-benzo kuinon (NAPQI) pada dosis besar tidak diikat seluruhnya oleh enzim glutation-s- transferase. Zat NAPQI merupakan radikal bebas yang menyebabkan peroksida lipid dengan peningkatan malodialdehide (MDA). Akupunktur titik paravertebral thorax (Th) VIII-X sedermatom hepar sehingga memperbaiki mikrosirkulasi hepar. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh akupunktur titik paravertebral thorax VIII-X terhadap kadar MDA darah kelinci yang diinduksi asetaminofen per oral. Penelitian eksperimental yang menggunakan 30 ekor kelinci galur Australia, umur 3 bulan, dibagi 3 kelompok: K1-kontrol, KII (asetaminofen 1,05 gram/1,5 kg BB, 3 kali selama 3 minggu), K III (asetaminofen 1,05 gram/1,5 kg BB, 3 kali dalam 3 minggu dan akupunktur 2 hari sekali (10 kali). Pemeriksaannya dilakukan 48 jam setelah penelitian berakhir. Data dianalisa menggunakan ANOVA dan LSD. Hasilnya menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) kadar MDA ( $p = 0,000$ ) semua kelompok, akupunktur menurunkan MDA ( $K3 = 0.703 \sim \text{mol/dl}$ ) dibanding asetaminofen ( $K2 = 0.987 \sim \text{mol/dl}$ ). Akupunktur titik paravertebralis thorax VIII-X dapat menormalkan secara bermakna MDA dan kolesterol darah kelinci yang diinduksi asetaminofen.

**ABSTRACT** Acetaminophen, hepatotoxicity occurs as a result of the production of reactive metabolite N-asetil-p-benzoquinone (NAPQI). The free radical (NAPQI) will cause lipid peroxidation that can be measured by the increase level of MDA in addition hepatic damage. Acupuncture of paravertebral thorax VIII-X

*point, Which lies on the same dermatome as liver, is assumed to be able to improve liver microcirculation. This research aimed at studying the effect of acupuncture stimulation of paravertebral level on orally acetaminophen induced rabbit. This study an experimental research with post test control group design using 30 rabbit with spesification : Australia strain, 3 month age. The subject were divided equally into 3 group and designe as KI-control, KII- (acetaminofen 1,05 gr /1,5 kg BW), KIII-(K II + acupuncture 0,3 cc aquabidest every 2 days). Examination of MDA was done at 48 hr after the end of treatment (day 20). The result showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) for MDA ( $p = 0.000$ ) for all groups. Acupuncture of paravertebral thorax VIII-X point can significantly normalized the MDA of acetaminofen induced rabbit.*

Hepar merupakan tempat utama metabolisme obat dan mendapat beban terberat dari reaksi-reaksi merugikan terhadap agen terapeutik (Murray, 2010). Pada penelitian ini digunakan asetaminofen dosis toksik sebagai senyawa untuk model kerusakan sel hepar. Hepatotoksisitas asetaminofen terjadi melalui terbentuknya metabolik reaktif di dalam hati dan adanya radikal bebas berupa *N-asetil-p-benzoquinone* (NAPQI) (Solomon, 2000). Senyawa tersebut sangat reaktif terhadap asam lemak tak jenuh dalam membran sel yang menghasilkan peroksida lipid. Peroksida asam lemak tak jenuh menghasilkan malondialdehide (MDA) dan 4-hidroksialkenal (HAE), sehingga MDA dapat dipergunakan sebagai indikator peroksidasi lipid (Mahboob, *et al.*, 2005). Malondialdehide merupakan peroksida lipid yang toksik bagi jaringan. Bahan toksik ini akan berikatan dengan protein, menghancurkan integritas membran sel, merusak aktivitas transport protein, membuat kolap ion gradient dan memicu kematian sel (Nurwati, 2007).

Yim (*et al.*, 2006) telah meneliti pengaruh hepatoprotektif titik

Yanglingquan (GB 34) terhadap kerusakan hepar kronik yang diinduksi  $\text{CCl}_4$ . Ternyata Yanglingquan (GB 34) dapat mengurangi toksisitas hati, melindungi jaringan hati dan fungsi hati dan membuat normal aktivitas sistem imun pada tikus (Yim *et al.*, 2006). Dalam penelitian lain (Liu *et al.*, 2001) meneliti efektifitas titik Zusanli (ST 36) dan Taichong (LI 3) terhadap kerusakan hepar akut pada tikus. Kedua penelitian tersebut di atas tidak membahas alasan pemilihan titik secara medik.

Akupunktur dilakukan pada titik paravertebral thorax (Th) VIII-X, sedangkan hepar terletak segmen Thorax 5-10 (Amirudin, 2006), sehingga impuls penjaruman titik paravertebral Th VIII-X berjalan pada serabut saraf sensorik thorakal dan lumbal, kemudian ke luar dari medula spinalis sebagai saraf simpatis untuk meregulasi hepar.

*Korespondensi*

*Dr. Ida Nurwati, M.Kes., SpAK., Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Solo, Jln. Ir. Sutami 36A Surakarta, Telephone (0271) 633381, Hp: 081567854954*

hati hewan coba kelinci yang telah diinduksi asetaminofen. Kemampuan akupunktur tersebut dinilai secara biokimia, yaitu pengaruh akupunktur dalam memperbaiki kadar malondialdehide (MDA) sebagai produk sampingan dari peroksidasi lipid.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian eksperimental laboratorik dikerjakan menggunakan desain *post test control group design*. Subyek penelitian diperoleh secara *purposive* dengan syarat-syarat kelinci jantan, umur 3-4 bulan dengan berat badan 1,5 - 2 kg, sehat, galur Australia. Subyek dibagi dalam 3 kelompok secara random dengan teknik randomisasi penomoran. Jumlah kelinci untuk setiap kelompok perlakuan ditentukan berdasarkan rumus Federer, yaitu:  $(t-1)(n-1) > 15$ , dimana  $t$  adalah jumlah perlakuan ( $t=3$ ), sedangkan  $n$  adalah jumlah sampel ( $n=8,5$ ) (Arkeman, 2006). Jadi besarnya jumlah kelinci untuk setiap kelompok perlakuan minimal 8,5 kelinci (dibulatkan menjadi 9 kelinci). Peneliti menggunakan sampel 30 ekor kelinci dibagi dalam 3 kelompok perlakuan dimana tiap kelompok perlakuan berisi 10 kelinci.

Akupunktur merupakan cara perangsangan titik akupunktur dengan penyuntikan zat tertentu (Widya, 1995). Titik yang dipakai pada penelitian ini adalah titik paravertebral thorax (Th) VIII-X. Pada kelinci, titik ini terletak pada garis antara angulus medialis scapula dengan linea mediana (ke lateral 15 mm) setinggi batas bawah prosesus spinosus Th 8, 9 dan 10. Penentuan titik dilakukan dengan detektor. Penyuntikan dilakukan miring ke bawah medial 5-10 mm dengan alat suntik berukuran 1 cc, dengan jarum berukuran 27 G. Zat

yang dipakai di penelitian ini adalah akuabidest 0,3 cc pertitik. Frekuensi akupunktur adalah 2 hari sekali selama 3 minggu. Jadi masing-masing subyek mendapat 10 kali akupunktur selama periode penelitian.

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan setelah 3 minggu perlakuan. Pemeriksaan dilakukan dengan metode Pyles *et al.*, 1993, yaitu 1 ml sampel darah, plasma atau serum ditambah 4 ml TBA Reagen lalu divortex, kemudian diinkubasi pada 90°C selama 80 menit. Setelah itu didinginkan dalam air dingin (air es) kurang lebih 10 menit. Setelah dingin tambahkan 4 ml larutan ekstraksi butanol kemudian di vortex dan disentrifugasi 3000 g selama 15 menit, ambil lapisan atas kemudian baca dengan spektrophotometer pada 510, 532 dan 560. Kadar kolesterol diukur dengan spektrofotometer

Sampel 30 ekor kelinci yang ada di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran (FK) UNS dibagi 3 kelompok secara random, masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor kelinci. Setelah dilakukan proses adaptasi dengan lingkungan laboratorium Biokimia FK selama 7 hari, pada hari ke 8 dilakukan penimbangan untuk menentukan dosis dan mulai dilakukan percobaan:

1. Kelompok kontrol (K1) hanya diberi diet standar selama 3 minggu berturut-turut.
2. Kelompok perlakuan 1 (K2) diberi diet standar selama 3 minggu berturut-turut dan mulai hari pertama diberi asetaminofen 1,05 gram /1,5 kg berat badan kelinci, 3 kali selama 3 minggu yaitu pada hari ke 1, 9, dan 18.
3. Kelompok perlakuan 2 (K3) diberi diet standar selama 3 minggu berturut-turut dan mulai hari pertama diberi asetaminofen 1,05 gram/1,5

kg berat badan kelinci, 3 kali selama 3 minggu yaitu pada hari ke 1, 9, dan 18, serta diberikan akupunktur dengan aquabidest 0,3 ml pada paravertebral thorax VIII-X, 2 hari sekali selama 3 minggu jadi 10 kali akupunktur selama penelitian.

Semua sampel diambil darahnya melalui vena telinga, pengambilan darah dilakukan 48 jam setelah pemberian akupunktur titik paravertebral VIII-X pada minggu ke-3, kemudian diukur kadar MDA.

Tiap kelompok dihitung rerata dan simpang baku kadar MDA. Perbedaan rerata diantara ketiga kelompok dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA (*analysis of variance*). Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) dengan derajat

kemaknaan  $p < 0,05$  dengan menggunakan program SPSS versi 16.0

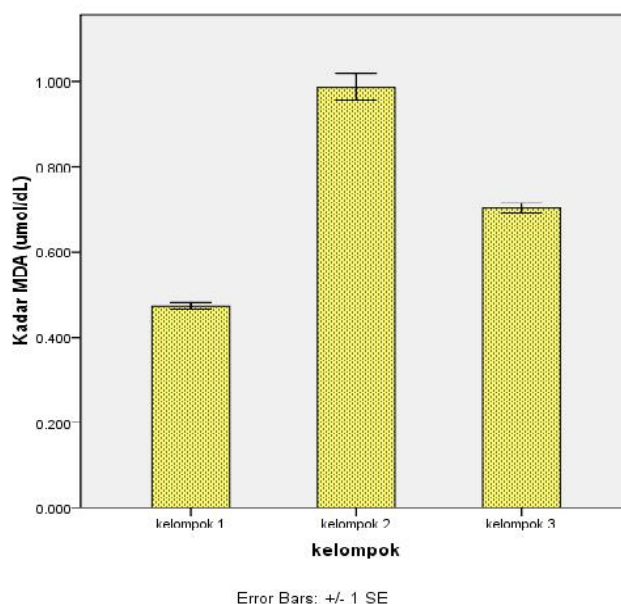
## HASIL

Dua hari setelah penelitian selesai, semua kelinci diambil darahnya. Kadar MDA serum setelah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Terjadi peningkatan kadar MDA sesudah diinduksi asetaminofen dibanding dengan kontrol, peningkatan tersebut bermakna secara statistik ( $p = 0.000$ ). Terjadi penurunan MDA yang signifikan pada sampel yang diberi asetaminofen dan di akupunktur dibanding dengan yang hanya diinduksi asetaminofen ( $p=0.000$ ), tetapi jika dibandingkan antara K3 (asetaminofen + akupunktur) dengan kontrol (K1) terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=0.000$ ). Jadi terjadi penurunan kadar MDA setelah di akupunktur tetapi penurunan kadar MDA nya belum sampai normal.

Tabel 1. Rerata kadar malondialdehide (MDA) kelinci setelah perlakuan

| Kelompok     | Rerata MDA ( $\mu$ mol /dl) $\pm$ SD |
|--------------|--------------------------------------|
| K 1 (N = 10) | 0. 47380 $\pm$ 0 .02437              |
| K 2 (N= 10)  | 0. 9874 $\pm$ 0.101130               |
| K 3 (N= 10)  | 0. 7031 $\pm$ 0.36008                |



Gambar 1. Histogram rerata kadar malondihaldehyde (MDA)

## PEMBAHASAN

Asetaminofen sedikit terikat pada protein plasma dan sebagian dimetabolisme oleh enzim mikrosom hati serta diubah menjadi asetaminofen sulfat dan glukoronida, yang secara farmakologi tidak aktif serta suatu metabolit minor tetapi sangat reaktif dan toksik pada dosis besar terhadap hati yaitu *N-asetil-p-benzoquinone* (Katzung, 1995). *N-asetil-p-benzoquinone* (NAPQI) pada awalnya didetoksifikasi oleh konjugasi dengan reduksi glutathione (GSH) untuk membentuk asam merkapturik. Tetapi, ketika kadar NAPQI melebihi tingkat detoksifikasi GSH, maka NAPQI mengoksidasi makromolekul jaringan seperti lipid (Ojo *et al.*, 2001). Peroksida asam lemak tak jenuh menghasilkan malondialdehyde (MDA) dan 4-hidroksialkenal (HAE), sehingga MDA dapat dipergunakan sebagai indikator peroksidasi lipid (Mahboob, 2005). Malondialdehyde merupakan peroksida lipid yang toksik bagi jaringan (Mahboob, 2005; Nurwati, 2005).

Pada penelitian ini terjadi peningkatan kadar MDA sesudah induksi asetaminofen 1,05 gram/1,5 kgBB kelinci secara oral yang bermakna secara statistik ( $p = 0.000$ ). Asetaminofen diberikan 3 kali dalam 3 minggu penelitian dan kadar MDA diperiksa 2 hari sesudah induksi. Penelitian ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa induksi asetaminofen (2 g/kgBB tikus) secara oral dosis tunggal dapat meningkatkan secara signifikan kadar MDA pada 12 jam setelah pemberian asetaminofen (Ojo *et al.*, 2001)

Uji komparatif *post hoc* menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok I, II dan III. Pada kelompok 3 (asetaminofen + akupunktur), akupunktur dapat menurunkan kadar MDA tersebut secara bermakna ( $p=0,000$ ) jika dibanding yang hanya diberi asetaminofen tanpa akupunktur (K2). Akupunktur dapat mengaktifkan antioksidan enzimatik *superoksida dismutase* (SOD) dan menurunkan kadar peroksida lipid (LPO) otak kelinci yang dibuat perdarahan serebral akut (Luo, 2001). Akupunktur juga

dapat meningkatkan SOD dan glutathion peroksidase pada tikus (Liu *et al.*, 2005). Titik Yanglingquan (GB34) dapat mengurangi toksisitas pada hepar, melindungi jaringan hepar dan fungsi hepar dan membuat normal aktivitas sistem imun pada tikus (Yim *et al.*, 2006). Pada penelitian ini kelompok K3 (asetaminofen + akupunktur) jika dibanding dengan kontrol (K1) masih terjadi perbedaan yang bermakna, hal ini mungkin kurangnya titik yang di akupunktur atau kurang lamanya penelitian sehingga sehingga pengaruh penurunan MDA belum optimal.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Akupunktur titik paravertebral Th VIII-X dapat menurunkan kadar malondialdehide (MDA) darah kelinci yang diinduksi asetaminofen.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan: Metode akupunktur yang lain dan waktu akupunktur yang lebih lama, memeriksa parameter liver fungsi test dan antioksidan serta akuapunktur dengan zat dan titik yang lain sehingga dapat menambah bukti ilmiah mengenai pengaruh akupunktur dalam mengatasi radikal bebas.

### Ucapan terima kasih

Pada kesempatan ini ucapan terima kasih disampaikan kepada dr. Dharma Kumara Widya, M.Kes., SpAK dan dr. Adiningsih Sri Lestari, M.Epid, M.Kes., Sp.AK. yang telah membimbing dalam penelitian ini.

Prof.Dr., dr. Ahmad Djoyasugito, MHA, FICS; Prof., Dr., dr. Priyambodo, SpMK; Dr. dr. Nining

SW, SpPK; dr. Kiswoyo M.Kes, SpAK dan Dr., dr., Syarif Sudirman, Sp An, SpAK yang telah memberikan masukan - masukan pada penelitian ini.

## KEPUSTAKAAN

- Amirudin R 2006. Fisiologi dan Biokimia Hati. dalam Buku ajar Ilmu penyakit dalam jilid 1, edisi keempat, Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam FK UI. Halm 415-9
- Arkeman H, David 2006. Efek vitamin C dan E terhadap sel goblet saluran nafas pada tikus akibat pajanan asap rokok. *Universal*, 25:62.
- Katzung BG, Farmakologi 2001. Dasar dan Klinik. Alih bahasa oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Edisi kedelapan. EGC. Jakarta. 2001.; Hal: 484-5
- Liu C Z, Yu JC, Zhang XZ, Fu WW, Wang T, Han JX 2005. Acupuncture prevents cognitive and oxidative stress in cerebral multi-infarction rats. *Neurosci Lett*. 393(1): 45-50.
- Liu H J, Hsu SF, Hsieh CC, Ho TY, Hsien CL, Tsai CC, Lin JG 2001. The effectiveness of Tsu-San-Li (St-36) dan Taichung (Li-3) acupoints for treatment of acute liver damage in rats, *Am J Chine Med*. 29: 221-226
- Luo Song 2001. Effects of acupuncture on SOD (*Superoxide Dismutase*) and LPO (*lipid peroxides*) in rabbit models of acute cerebral hemorrhage. *Medical Acupuncture Vol 15*, 33.
- Mahboob M, Rahman MF, Grover P 2005. Serum Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Levels in Male and Female Diabetic Patients, *Singapore Med J*; 46(7); 322 - 4.
- Murray RK, Granner DK, and Rodwell VW 2009. *Biokimia Harper*, Edisi ke 27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Nurwati I 2007. Radikal Bebas dan Antioksidan, Sebelas Maret University Press. Surakarta.

- Ojo OO, Kabutu FR, Bello M, and Babaco 2001. Inhibition of paracetamol-induced oxidative stress in rats by extracts of lamonggrass (*Cymbropogon citratos*) and green tea (*Camellia sinensis*) in rats, *Afr. J. Biotechnol*, 5 (12); pp.1227-1232
- Solomon WR 2000. Reaksi Merugikan Obat dan Substansi Lain. dalam Price SA dan Wilson L.M, Patofisiologi edisi 4 buku 1, penerbit buku kedokteran EGC, Jakarta; halm 189.
- Widya DK 1995. Akuapunktur - Penggunaannya dalam Praktek Sehari-hari, *Cermin Dunia Kedokteran*, No 105 (43).
- Yim YK, Lee H, Hong KE, Kim YI, Lee BR, Kim TH, and Young J 2006. Hepatoprotective effect of manual acupuncture at acupoint GB 34 against CCl4-induced chronic liver damage in rats, *Word J Gastroenterol* .12 (14) : 2245-9