

## Profil Imunohistokimia Superoksida Dismutase (SOD) pada Jaringan Hati Tikus dengan Kondisi Hiperkolesterolemia

### *The Immunohistochemical Profile of Superoxide Dismutase (SOD) in the Liver Tissue of Hypercholesterolemic Rats*

TUTIK WRESDIYATI<sup>1\*</sup>, MADE ASTAWAN<sup>2</sup>, LUSIA YUNI HASTANTI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi, FKH, <sup>2</sup>Departemen Ilmu Pangan, Fateta, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor 16680

Diterima 21 Juni 2005/Disetujui 7 April 2006

This study was conducted to observe intracellular antioxidant copper,zinc-superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in liver tissue of rats under hypercholesterolemic condition by using immunohistochemical technique. A total of twenty male Wistar rats were used for this study. Those rats were divided into two groups; (i) control group and (ii) hypercholesterolemic group, which were fed diet containing 1% cholesterol for eight weeks. Rat livers were taken at the end of treatment, and processed by using paraffin embedding standard method. The tissues were stained immunohistochemically to Cu,Zn-SOD. Observation of Cu,Zn-SOD content in the tissue was performed qualitatively in the cytoplasm and quantitatively in the nucleus of hepatocytes based on colour intensity of enzyme reaction product. The profile of antioxidant-Cu,Zn-SOD decreased ( $P < 0.05$ ) in the hypercholesterolemic group compared to the control group.

Key words: Superoxide dismutase (SOD), hypercholesterolemia, liver, rat

#### PENDAHULUAN

Antioksidan adalah suatu substansi yang dapat menghentikan atau menghambat kerusakan oksidatif terhadap suatu molekul target (Halliwell & Gutteridge 1999). Terdapat dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan eksogen, seperti vitamin C dan vitamin E, dan antioksidan endogen yang biasa disebut antioksidan intrasel dalam bentuk enzim. Enzim antioksidan yang terdapat di dalam sel meliputi katalase, glutathion peroksidase, dan superoksida dismutase (Asayama *et al.* 1996); *copper, zinc*-superoksida dismutase (Cu,Zn-SOD) (Fridovich 1975) dan mangan superoksida dismutase (Mn-SOD) (Marklund 1984).

Sejauh ini SOD telah digunakan dalam penelitian biomedis baik *in vivo* maupun *in vitro* untuk pencegahan maupun pengobatan beberapa penyakit tertentu. Cu,Zn-SOD merupakan salah satu antioksidan endogen yang berperan penting dalam mengkatalisis radikal bebas anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen (Mates *et al.* 1999). Dengan kemajuan teknik imunositokimia, sel-sel penghasil SOD telah berhasil dideteksi pada jaringan tikus (Dobashi *et al.* 1989; Wresdiyati 1999). Selain terdapat pada jaringan normal, SOD juga ditemukan pada jaringan neoplastik (Keller *et al.* 1991). Profil antioksidan SOD juga telah dilaporkan pada kondisi patofisiologis seperti stres dan

diabetes mellitus (Wresdiyati *et al.* 2002, 2003; Wresdiyati 2003). Namun demikian, masih sangat sedikit informasi ilmiah tentang profil SOD jaringan pada berbagai kondisi patofisiologis dan beberapa penyakit, terutama pada kondisi hiperkolesterolemia.

Penyakit kardiovaskuler yang paling sering menyerang usia produktif adalah penyakit jantung koroner (PJK) dan gangguan yang mendasari terjadinya PJK adalah arterosklerosis. Terdapat banyak faktor resiko yang mempengaruhi timbulnya PJK, namun yang merupakan faktor resiko utama adalah peningkatan kadar kolesterol khususnya kolesterol *low density lipoprotein* (LDL), biasa disebut sebagai hiperkolesterolemia (Marinetti 1990).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi tentang profil antioksidan intrasel-SOD pada jaringan hati tikus hiperkolesterolemia. Hal ini dapat digunakan sebagai dasar dalam upaya memperlambat dan meminimalkan kerusakan jaringan dan timbulnya berbagai penyakit akibat kondisi tersebut.

#### BAHAN DAN METODE

**Perlakuan Hewan Percobaan dan Pengambilan Contoh.** Pada penelitian ini digunakan tikus jantan galur Wistar sebanyak 20 ekor ( $200 \pm 5$  gr). Tikus tersebut dibagi dalam dua kelompok perlakuan, yaitu (i) kelompok kontrol dan (ii) kelompok hiperkolesterolemia. Tikus percobaan diadaptasikan terlebih dahulu terhadap lingkungan kandang percobaan

\*Penulis untuk korespondensi, Tel./Fax. +62-251-626064, Fax. +62-251-629464, E-mail: astawan@indo.net.id

selama dua minggu. Lima ekor tikus dari setiap kelompok perlakuan dikorbankan dan darah diambil untuk diperiksa kadar kolesterol darah awal sebelum diberi perlakuan. Kelompok hiperkolesterolemia diberi perlakuan dengan pakan berkadar kolesterol 1% selama dua bulan, sedangkan kelompok kontrol diberi pakan dengan ransum standar. Diakhir perlakuan, darah sepuluh ekor tikus dari kedua kelompok perlakuan tersebut diambil untuk diperiksa kadar kolesterol darah. Jaringan hati tikus perlakuan tersebut juga diambil untuk keperluan deteksi SOD secara imunohistokimia.

**Analisis Kolesterol Darah.** Kadar kolesterol darah pada kedua kelompok perlakuan diukur sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan Boehringer *kit*. Darah diambil dari jantung sebanyak  $\pm 3$  ml menggunakan alat suntik volume 5 ml. Darah disentrifus untuk mendapatkan serum. Analisis total kolesterol ini dilakukan untuk membandingkan kadar kolesterol darah sebelum dan sesudah perlakuan maupun kelompok kontrol dengan kelompok hiperkolesterolemia, serta untuk memeriksa kondisi hiperkolesterolemia pada kelompok perlakuan.

**Pemrosesan Jaringan.** Jaringan hati kedua kelompok tikus difiksasi dalam larutan Bouin selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat dan penjernihan dengan silol sebelum dilakukan *embedding* dalam parafin. Blok jaringan dipotong setebal 4  $\mu$ m. Setelah dilakukan deparafinisasi dan rehidrasi, potongan jaringan diwarnai dengan dua jenis pewarnaan, yaitu pewarnaan umum Hematoksilin-Eosin (HE) dan pewarnaan imunohistokimia terhadap Cu,Zn-SOD.

**Pewarnaan Umum HE.** Pewarnaan HE didahului dengan proses deparafinisasi menggunakan silol dan rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat. Potongan jaringan kemudian diwarnai dengan hematoksilin dan dicuci dengan air mengalir selama 5 menit. Potongan jaringan direndam dalam akuades sebelum diwarnai dengan eosin, selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat dan penjernihan dengan silol, serta penutupan potongan jaringan dengan kaca penutup menggunakan perekat.

Potongan jaringan yang sudah diwarnai dengan HE diamati dan didokumentasikan dengan mikroskop cahaya (Olympus, Vanox) dan mikrofoto (Nikon E600). Hasil pewarnaan potongan jaringan dengan HE diamati terhadap morfologi umum jaringan hati kedua kelompok perlakuan untuk mengetahui terjadinya perubahan atau kerusakan jaringan hati pada kondisi hiperkolesterolemia dibandingkan jaringan hati kelompok kontrol.

**Pewarnaan Imunohistokimia terhadap Cu,Zn-SOD.** Cu,Zn-SOD dideteksi secara imunohistokimia menggunakan metode Dobashi *et al.* (1989) dengan sedikit modifikasi pada jenis antibodi sekunder. Pada penelitian ini digunakan antibodi sekunder dako polimer peroksidase (Dako K1491). Setelah dilakukan deparafinisasi dan rehidrasi, potongan jaringan diberi perlakuan  $H_2O_2$  3% (10 menit) untuk menghilangkan aktivitas peroksidase endogen. Kemudian potongan jaringan diinkubasi dalam serum normal 10% (30 menit) pada suhu 37 °C. Potongan jaringan lalu dicuci dengan bufer fosfat

sebelum diinkubasi dalam antibodi primer, yaitu antibodi monoklonal Cu,Zn-SOD (Sigma S2147) pada suhu 4 °C. Potongan jaringan diinkubasi lagi dalam antibodi sekunder yang telah dilabel polimer peroksidase (Dako K1491) pada suhu 37 °C. Produk reaksi antigen-antibodi dalam potongan jaringan divisualisasi dengan *diamino benzydine* (DAB) selama 25 menit pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan dehidrasi dengan alkohol bertingkat dan penjernihan dengan silol, serta penutupan potongan jaringan dengan kaca penutup menggunakan perekat. Sebagai kontrol, digunakan potongan jaringan yang diinkubasi menggunakan bufer fosfat sebagai pengganti antibodi monoklonal Cu,Zn-SOD.

Pewarnaan imunohistokimia terhadap Cu,Zn-SOD dilakukan untuk mendeteksi sel-sel penghasil Cu,Zn-SOD yang dapat menunjukkan jumlah sel penghasil serta kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD. Hal ini untuk mengetahui profil antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan hati tikus kelompok hiperkolesterolemia dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pengamatan terhadap sel-sel penghasil Cu,Zn-SOD dilakukan dengan tiga cara, yaitu (i) pengamatan kualitatif, (ii) pengamatan kuantitatif, dan (iii) perhitungan persentase jumlah inti sel. Pengamatan kualitatif dilakukan terhadap produk reaksi positif pada sitoplasma sel hati dengan membandingkan intensitas warna cokelat yang terbentuk dan distribusinya pada seluruh bagian setiap preparat yang diamati. Intensitas warna cokelat tersebut menunjukkan kandungan Cu,Zn-SOD, warna cokelat yang semakin tua dan semakin merata berarti mengandung semakin banyak Cu,Zn-SOD.

Pengamatan kuantitatif dilakukan terhadap inti sel yang memberikan reaksi positif pada berbagai tingkat kandungan terhadap Cu,Zn-SOD (cokelat tua atau positif kuat/+++, cokelat sedang atau positif sedang/++, dan cokelat muda kebiruan atau positif lemah/ +/-, dan biru atau negatif/-). Penghitungan inti sel-sel tersebut dilakukan tiap lapang pandang pada pembesaran 400x, yang dilakukan pada lima lapang pandang yang berbeda secara acak pada setiap preparat jaringan. Setiap contoh jaringan hati dibuat preparat duplo dengan lokasi yang berbeda, sehingga dari setiap kelompok perlakuan tikus dihasilkan data jumlah inti sel hati dengan berbagai tingkat kandungan dari 50 lapang pandang (n). Data hasil penghitungan tersebut kemudian dianalisis dengan uji t ( $P < 0.05$ ) untuk setiap tingkatan kandungan Cu,Zn-SOD pada kedua kelompok perlakuan. Dengan demikian, secara keseluruhan dapat diketahui peningkatan atau penurunan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada kondisi hiperkolesterolemia dibandingkan kelompok kontrol. Penghitungan persentase jumlah inti sel pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD dihitung untuk menunjang hasil pengamatan kuantitatif. Jumlah inti sel hati pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD yang dihasilkan dari perhitungan kuantitatif dipersentasakan tiap jumlah total inti sel hati untuk tiap lapang pandang. Hal ini penting dilakukan untuk menunjang interpretasi profil Cu,Zn-SOD pada jaringan hati tikus kelompok hiperkolesterolemia.

## HASIL

**Kadar Kolesterol Darah.** Hasil pengukuran kadar kolesterol serum awal pada tikus kelompok kontrol dan kelompok perlakuan hiperkolesterolemia masing-masing adalah  $76.31 \pm 8.70$  mg/dl dan  $78.74 \pm 4.28$  mg/dl. Setelah diberi perlakuan dengan pakan berkadar kolesterol 1% selama dua bulan, kadar kolesterol serum tikus kelompok hiperkolesterolemia menjadi  $149.66 \pm 1.33$  mg/dl atau terjadi peningkatan sebesar 90%. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan sudah mencapai kondisi hiperkolesterolemia. Sedangkan tikus kelompok kontrol yang diberi pakan dengan ransum standar, kadar kolesterol serumnya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ) dengan kadar kolesterol serum awal, yaitu  $78.61 \pm 6.30$  mg/dl (Tabel 1).

**Morfologi Jaringan Hati.** Morfologi umum pada jaringan hati tikus kelompok kontrol yang sudah diwarnai dengan HE menunjukkan inti sel hati mengambil warna basofilik, sedangkan bagian sitoplasma mengambil warna asidofilik. Pada jaringan hati sinusoid terbentuk seperti memancar secara sentrifugal dari vena sentralis dengan sel-sel Kupffer yang menyerap warna basofilik mengisi sinusoid-sinusoid. Pada kelompok perlakuan hiperkolesterolemia terlihat adanya beberapa kelainan histopatologis, seperti pada sinusoid hati melebar dan tidak memancar secara sentrifugal dari vena sentralis. Beberapa sel hati mengalami degenerasi sampai dengan nekrosis, sitoplasmanya lebih banyak menyerap warna merah, serta adanya infiltrasi sel radang pada jaringan interstisial (Gambar 1).

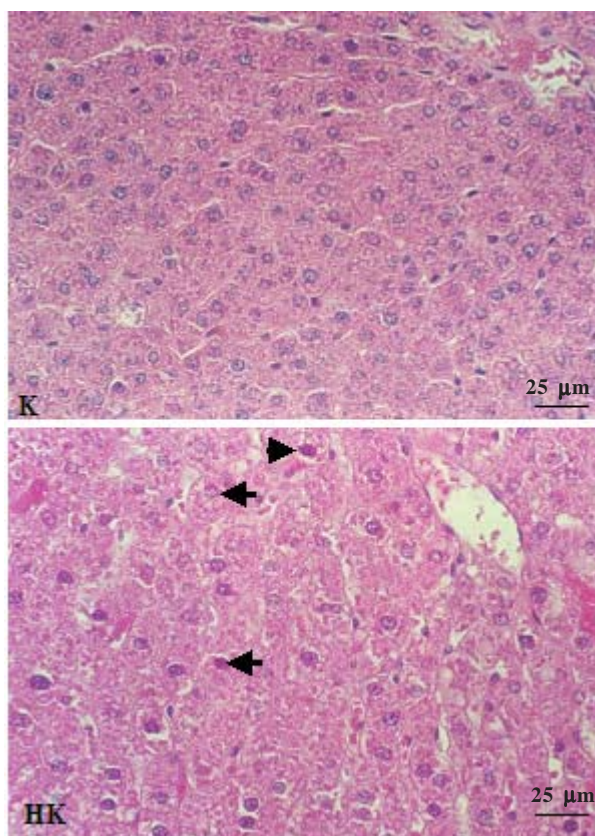
**Kandungan Cu,Zn-SOD pada Jaringan Hati.** Dengan pewarnaan imunohistokimia terlihat sel-sel penghasil Cu,Zn-SOD pada jaringan hati memberikan reaksi positif terhadap antioksidan tersebut. Produk reaksi positif terhadap Cu,Zn-SOD yang memberikan warna cokelat terlihat baik pada sitoplasma maupun inti sel hati. Dari hasil pengamatan kualitatif terhadap kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD menunjukkan adanya penurunan pada jaringan hati tikus kelompok perlakuan hiperkolesterolemia dibandingkan kelompok kontrol. Penurunan tersebut terlihat dari intensitas warna cokelat yang terbentuk pada kelompok hiperkolesterolemia jauh lebih lemah dibandingkan pada kelompok kontrol, baik pada inti maupun sitoplasma sel-sel hati (Gambar 2).

Pengamatan kuantitatif dilakukan terhadap inti sel hati yang memberikan reaksi positif pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD dan yang memberikan reaksi negatif terhadap antioksidan tersebut. Hasil penghitungan terhadap inti sel hati tiap lapang pandang dengan pembesaran 400x pada kelompok kontrol yang memberikan reaksi positif kuat (+++),

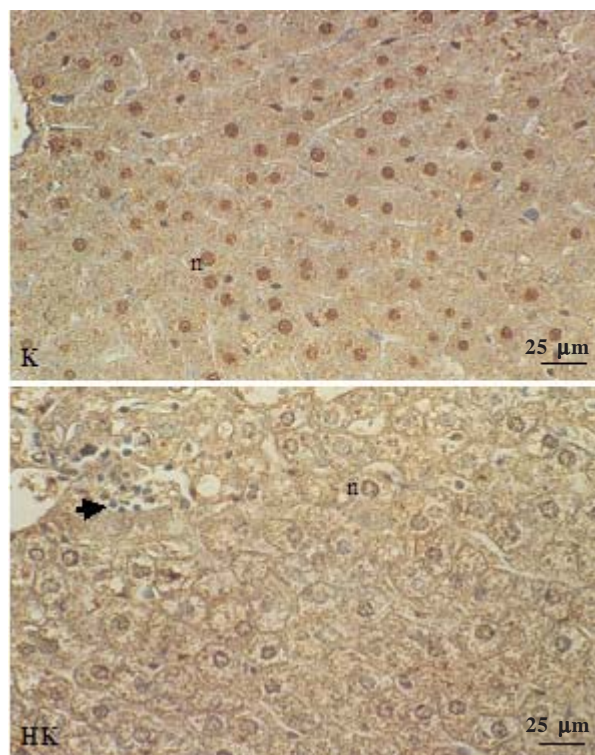
Tabel 1. Kadar kolesterol tikus kelompok kontrol dan kelompok hiperkolesterolemia

Kelompok	Kadar kolesterol (mg/dl)	
	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan
Kontrol	$76.31 \pm 8.70$	$78.61 \pm 6.30$
Hiperkolesterolemia	$78.74 \pm 4.28$	$149.66 \pm 1.33^*$

\*Menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ) pada data di baris yang sama



Gambar 1. Fotomikrograf jaringan hati tikus perlakuan yang diwarnai dengan HE. K: kontrol, HK: hiperkolesterolemia, ➤: sel-sel degenerasi-nekrosa.



Gambar 2. Fotomikrograf jaringan hati tikus perlakuan yang diwarnai secara imunohistokimia terhadap kandungan Cu,Zn-SOD. K: kontrol, HK: hiperkolesterolemia, ➤: sel radang, n: inti sel hati.

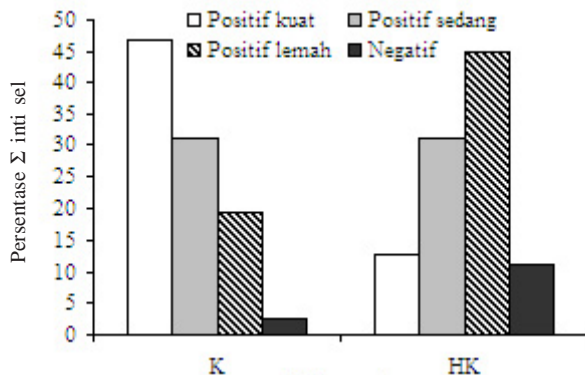
positif sedang (++), positif lemah (+/-), dan negatif (-) berturut turut adalah 82.68, 55.01, 34.33, dan 4.28. Sedangkan pada kelompok perlakuan hiperkolesterolemia berturut turut jumlah inti sel hati tersebut adalah 16.72, 40.30, 58.04, dan 14.73 (Tabel 2). Jumlah inti sel hati tersebut menunjukkan adanya penurunan kandungan Cu,Zn-SOD pada kelompok hiperkolesterolemia dibandingkan kelompok kontrol secara nyata ( $P < 0.05$ ). Jumlah inti sel hati yang memberikan reaksi positif kuat pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Penurunan kandungan Cu,Zn-SOD pada kelompok perlakuan tersebut juga terlihat nyata ( $P < 0.05$ ) dari peningkatan jumlah inti sel hati yang memberikan reaksi positif lemah dibandingkan kelompok kontrol.

Perubahan kandungan Cu,Zn-SOD pada kelompok perlakuan hiperkolesterolemia juga terlihat dari hasil penghitungan persentase jumlah inti sel hati yang memberikan reaksi pada berbagai tingkat kandungan tiap jumlah total inti sel tersebut tiap lapang pandang pada pembesaran 400x (Gambar 3). Kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan hati tikus menurun pada kelompok hiperkolesterolemia. Hal ini terlihat dari penurunan persentase jumlah inti sel hati yang memberikan reaksi positif kuat dari 46.90% pada kelompok kontrol menjadi 12.88% pada kelompok hiperkolesterolemia. Penurunan kandungan Cu,Zn-SOD pada jaringan hati juga terlihat dari peningkatan persentase jumlah inti sel hati yang memberikan reaksi positif lemah dan negatif dari 19.47 dan 2.43% pada kelompok kontrol menjadi 44.72 dan 11.35% pada kelompok hiperkolesterolemia (Gambar 3).

Tabel 2. Jumlah inti sel hati pada berbagai tingkat kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada hati tikus kelompok kontrol dan kelompok hiperkolesterolemia

Kelompok	Jumlah inti sel hati pada berbagai tingkat kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD tiap lapang pandang dengan pembesaran 400x			
	+++	++	+/-	-
Kontrol	82.68 ± 25.70	55.01 ± 12.54	34.33 ± 7.60	4.28 ± 0.60
Hiperkolesterolemia	16.72 ± 17.02*	40.30 ± 16.37	58.04 ± 10.41*	14.73 ± 8.51

\*Menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ) pada data di kolom yang sama. +++: positif kuat, ++: positif sedang, +/-: positif lemah, -: negatif



Gambar 3. Persentase jumlah inti sel hati pada berbagai tingkat kandungan Cu,Zn-SOD pada tikus kelompok kontrol dan kelompok hiperkolesterolemia tiap lapang pandang dengan pembesaran 400x. K: kontrol, HK: hiperkolesterolemia.

## PEMBAHASAN

Organ hati merupakan jalur utama untuk sintesis dan metabolisme kolesterol, juga merupakan jalur yang utama untuk eliminasi kolesterol darah. Pengaturan sintesis kolesterol dilakukan di dekat awal lintasan, yaitu pada tahap 3-hidroksi-3-metilglutaril KoA(HMG-KoA) reduktase. *Scavenger* reseptor klas B tipe I (SR-BI) dilaporkan menjadi reseptor yang bertanggung jawab sebagai mediator yang selektif untuk memperoleh *high density lipoprotein* (HDL) *Cholesteryl ester* (HDL-CE) yang terdapat pada parenkim sel hati, endothelial sel hati, dan sel Kupffer (Malerod *et al.* 2002).

Lipoprotein berdensitas tinggi atau HDL mentransport kolesterol dari jaringan perifer menuju ke hati untuk dikatabolisme. Hasil katabolisme tersebut diekskresikan melalui empedu baik sebagai kolesterol maupun sebagai asam empedu. Sekitar 25% HDL dikatabolisme oleh hati. Sedangkan LDL mentranspor kolesterol menuju ke pembuluh darah, tempat kolesterol dapat menjadi deposit dan menyebabkan aterosklerosis. LDL terdiri dari 60-70% total kolesterol darah. LDL juga dikatabolisme oleh hati. LDL merupakan komponen aterogenik serum kolesterol dan jika LDL kolesterol dikurangi maka dapat menurunkan resiko kematian akibat lesio koroner dan penyakit jantung. Helsinki Heart Study melaporkan bahwa kenaikan HDL kolesterol membantu mencegah penyakit jantung non fatal *myocardial infarctions* (MIS) dan fatal MIS (Johnston 2000). Jenis lipoprotein yang ketiga yaitu *very low density lipoprotein* (VLDL) terdiri dari 15-20% total kolesterol serum dan mengandung trigliserida dengan konsentrasi yang tinggi (Jeppesen *et al.* 1998).

Penambahan kolesterol 1% pada pakan selain meningkatkan kolesterol plasma juga meningkatkan kadar kolesterol hati. Kolesterol makanan (*dietary cholesterol*) membutuhkan waktu beberapa hari untuk mengimbangi kolesterol dalam plasma dan beberapa minggu untuk mengimbangi kolesterol dalam jaringan. Pergantian kolesterol dalam hati berlangsung relatif cepat bila dibandingkan waktu paruh-total kolesterol tubuh yang lamanya beberapa minggu. Kolesterol dalam plasma dan hati akan seimbang dalam waktu beberapa jam saja. Kenaikan kolesterol plasma menunjukkan suatu kelainan metabolisme sebagai hasil dari kegagalan untuk memindahkan lipoprotein dari darah, produksi lipoprotein yang berlebihan atau kombinasi dari keduanya (Gurr 1992).

Pemakaian kolesterol dalam jumlah banyak pada tubuh berfungsi untuk membentuk asam kolat yang merupakan dasar dari asam empedu yang disintesis dalam hati. Reaksi 7 $\alpha$ -hidroksilasi terhadap kolesterol merupakan tahap pertama dalam biosintesis asam empedu. Reaksi tersebut dikatalisis oleh 7 $\alpha$ -hidroksilase, suatu enzim mikrosomal, yang memerlukan oksigen, NADPH, dan sitokrom P-450 oksidase. Dengan semakin meningkatnya konsentrasi kolesterol plasma dalam tubuh pada kondisi hiperkolesterolemia maka semakin banyak asam empedu yang disintesis dan terjadi pemakaian lebih banyak oksigen dan NADPH, serta peningkatan aktivitas sitokrom P-450 oksidase (Mayes 1996).

Sitokrom P-450 oksidase juga berperan dalam memperantarai metabolisme retikulum endoplasmik yang menghasilkan radikal anion superoksida  $O_2^-$  (Dhaunsi *et al.* 1992). Peningkatan aktivitas enzim sitokrom P-450 oksidase akan menghasilkan radikal bebas yang berlebihan. Bila produksi radikal bebas terjadi secara berlebihan maka enzim antioksidan tubuh tidak mampu mengatasinya. Pada akhirnya dapat terjadi kondisi stres oksidatif yaitu jumlah radikal bebas melebihi jumlah dan kapasitas antioksidan tubuh.

Pada kondisi hiperkolesterolemia, tubuh berusaha untuk menyeimbangkan kadar kolesterol plasma dengan jalan mengubah kolesterol menjadi asam empedu yang dapat meningkatkan aktivitas sitokrom P-450 oksidase. Radikal bebas yang terbentuk dari hasil samping oksidasi tersebut juga akan meningkat. Sebagai konsekuensinya dibutuhkan antioksidan tubuh yang lebih banyak untuk menanggulangi radikal bebas tersebut. Oleh karena itu antioksidan tubuh terutama Cu,Zn-SOD pada jaringan hati menurun. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya penurunan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan hati tikus kelompok perlakuan hiperkolesterolemia pada penelitian ini.

Peningkatan jumlah sel radang pada jaringan hati tikus kelompok perlakuan hiperkolesterolemia disebabkan produksi radikal bebas yang berlebihan pada jaringan tersebut. Radikal bebas yang jumlahnya berlebihan akan menyerang makromolekul sel dan dapat menyebabkan kerusakan dan kematian sel. Hal ini menyebabkan terjadinya diapedesis, sehingga sel-sel radang keluar dari pembuluh darah dan menginfiltrasi jaringan untuk melakukan opsonisasi atau pembersihan sel-sel yang rusak (Tizard 1992). Adanya sel yang mengalami nekrosis juga menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah sel radang (Forrest *et al.* 1994).

Nekrosis yang terjadi pada sel-sel hati tikus kelompok perlakuan hiperkolesterolemia disebabkan sel terpapar oleh radikal bebas yang diproduksi secara berlebihan pada kondisi hiperkolesterolemia. Perusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel, dengan rangkaian proses sebagai berikut: (i) terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen-komponen membran (enzim-enzim membran, komponen karbohidrat membran plasma); (ii) oksidasi gugus nol pada komponen membran sel oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transport lintas membran terganggu; (iii) reaksi peroksidasi lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel, antara lain dengan mengubah fluiditas, *cross linking*, struktur dan fungsi membran. Dalam keadaan yang lebih ekstrim kondisi tersebut akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Halliwell & Gutteridge 1999).

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dinyatakan pada kondisi hiperkolesterolemia terjadi penurunan kandungan antioksidan Cu,Zn-SOD pada jaringan hati tikus, yang terlihat di inti dan sitoplasma sel hati. Degenerasi sampai dengan nekrosis sel-sel hati dan infiltrasi sel radang terjadi pada jaringan hati tikus kelompok hiperkolesterolemia. Dengan demikian, untuk meningkatkan sistem pertahanan antioksidan

dalam kondisi hiperkolesterolemia perlu asupan nutrisi yang kaya kandungan antioksidan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian dibiayai oleh Proyek Penelitian Ilmu Pengetahuan Dasar, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, No. 63/P2IPT/DPPM/PID/III/2004, a.n. Tutik Wresdiyati.

## DAFTAR PUSTAKA

- Asayama K *et al.* 1996. Immunohistochemical localization and quantitative analysis of cellular glutathione peroxidase in fetal and neonatal rat tissues: fluorescence microscopy image analysis. *Histochem J* 28:63-71.
- Dhaunsi GS *et al.* 1992. Demonstration of Cu,Zn-superoxide dismutase in rat liver peroxisomes. *J Biol Chem* 267:6870-6873.
- Dobashi K, Asayama K, Kato K, Kobayashi M, Kawaoi A. 1989. Immunohistochemical localization and quantitative analysis of superoxide dismutase in rat tissue. *Acta Histochem Cytochem* 22:351-365.
- Forrest VJ, Kang YH, Mc Clain DE, Robinson DH, Ramakrishnan N. 1994. Oxidative stress apoptosis prevented by trolox. *Free Rad Biol Med* 16:675-683.
- Fridovich I. 1975. Superoxide dismutases. *Ann Rev Biochem* 44:147-159.
- Gurr MI. 1992. *Role of Fats in Food and Nutrition*. Ed ke-2. London: Elsevier Sci.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. London: Oxford Univ.
- Jeppesen J, Hein HD, Suadicani, Gyntelberg F. 1998. Tryglyceride concentration and ischaemic heart diseases in the Copenhagen Male Study. *Circulation* 97:1029-1036.
- Johnston JD. 2000. Cholesterol synthesis and metabolism. *Clinical Chemistry* 97:1029-1036.
- Keller GA, Warner TG, Steimer KS, Halliwell RA. 1991. Cu,Zn-superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:7381-7385.
- Malerod L, Juvet K, Gjoen T, Berg T. 2002. The expression of scavenger receptor class B, type I (SR-BI) and caveolin-1 in parenchymal and non parenchymal liver cells. *Cell Tissue Res* 307:173-180.
- Marinetti GV. 1990. *Disorder of Lipid Metabolism*. New York: Plenum Pr.
- Marklund SL. 1984. Extracellular superoxide dismutase and other superoxide dismutase isoenzymes in tissues from nine mammalian species. *Biochem J* 222:649-655.
- Mates JM, Gomez PC, Nunez IDC. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *J Clin Biochem* 32:595-603.
- Mayes PA. 1996. Lipid transport and storage. Di dalam: Murry RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (ed). *Harpers's Biochemistry*. London: Prentice-Hall. hlm 24:257-270.
- Tizard I. 1992. *Veterinary Immunology an Introduction*. USA: WB Saunders Comp.
- Wresdiyati T. 1999. Immunocytochemical localization of oxygen-free radical scavenger-copper zinc superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in rat kidney. *Gakuryoku* 5:1-8.
- Wresdiyati T. 2003. Immunohistochemical study of oxygen-free radical scavenger superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) in the liver of rats under stress condition. *Biota* 8:107-112.
- Wresdiyati T, Lelana RPA, Adnyane IKM, Noor K. 2003. Immunohistochemical study of superoxide dismutase (SOD) in the liver of diabetic experiment *Macaca fascicularis*. *Hayati* 10:61-65.
- Wresdiyati T, Mamba K, Adnyane IKM, Aisyah US. 2002. The effect of stress condition on the intracellular antioxidant copper, zinc-superoxide dismutase in the rat kidney: an immunohistochemical study. *Hayati* 9:85-88.