

Studi Stres Oksidatif: Kadar Malondialdehyde dan Aktivitas Superoksida Dismutase Plasma pada Tuberkulosis Paru Lesi Minimal dan Lesi Luas

Yunita Eka Wati, Nunuk Sri Muktiati, Triwahju Astuti

Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Rumah Sakit Dr. Syaiful Anwar, Malang.

Abstrak

Latar belakang : Stres oksidatif berperan pada patogenesis berbagai penyakit. Beberapa studi telah menyebutkan keterlibatan radikal bebas pada progresivitas dan kerusakan parenkim pada TB paru. Saat ini klinisi menggunakan foto toraks untuk menggambarkan luasnya kerusakan parenkim paru dan memberikan OAT kategori I pada TB paru lesi minimal. Studi ini bertujuan untuk mengetahui kadar malondialdehyde (MDA) sebagai penanda stres oksidatif dan aktivitas superoksida dismutase (SOD) sebagai antioksidan pada TB paru lesi minimal dan lesi luas.

Metode : Desain penelitian cross sectional. Terdapat 2 kelompok yaitu penderita TB paru lesi minimal dan lesi luas, masing-masing terdiri dari 10 subjek. Kadar lipid peroksidasi (MDA) plasma diukur dengan tes thiobarbituric acid. Aktivitas SOD plasma diukur dengan reduksi nitroblue tetrazolium.

Hasil : Rerata kadar MDA plasma TB paru lesi luas ($12,516 \pm 3,739 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) lebih tinggi (tidak signifikan, $p=0,145$) dibandingkan lesi minimal ($10,582 \pm 2,277 \mu\text{g}/\mu\text{l}$). Rerata aktivitas SOD plasma TB paru lesi minimal ($41,201 \pm 5,217 \text{ unit/cc}$) lebih tinggi (signifikan, $p=0,00$) daripada lesi luas ($25,264 \pm 11,346 \text{ unit/cc}$).

Kesimpulan : Stres oksidatif (MDA) pada TB paru lesi minimal dan lesi luas tidak berbeda bermakna, sehingga terapi OAT kategori 1 untuk TB lesi minimal sudah tepat. Aktivitas antioksidan (SOD) menurun secara bermakna seiring dengan peningkatan kadar lipid peroksidasi (MDA). (*J Respir Indo. 2013; 33:163-6*)

Kata kunci : Tuberkulosis paru, malondialdehyde, superoksida dismutase.

Oxidative Stress Study: Malondialdehyde Levels and Superoxide Dismutase Activity in Minimal and Advanced Lesion Pulmonary Tuberculosis

Abstract

Background : Oxidative stress plays an important role in pathogenesis of many diseases. Many studies established free radicals involvement in pulmonary TB progression. Currently clinicians use chest X-ray to describe extend of lesion in pulmonary TB and administered first category antituberculosis drug for minimal lesion pulmonary TB. The aim of this study was to assess malondialdehyde (MDA) levels as a marker of oxidative stress, and superoxide dismutase (SOD) activity as an antioxidant in minimal and advanced lesion pulmonary TB.

Methods : Study design was cross sectional. There were 2 groups, minimal and advanced lesion pulmonary TB, each consisting of 10 subjects. Plasma MDA were measured with thiobarbituric acid test. Plasma SOD were measured with nitroblue tetrazolium reduction.

Results : Plasma MDA level in advanced lesion pulmonary TB ($12.516 \pm 3.739 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) were higher than in minimal lesion ($10.582 \pm 2.277 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), but statistically not significant ($p=0.145$). Plasma SOD activity in minimal lesion pulmonary TB ($41.201 \pm 5.217 \text{ unit/cc}$) were higher (significant, $p=0.00$) than advanced lesion ($25.264 \pm 11.346 \text{ unit/cc}$).

Conclusion : Plasma oxidative stress in minimal and advanced lesion pulmonary TB has no significant different, therefore first category of antituberculosis drug for minimal lesion was an appropriate choice. There was highly significant decreased of plasma antioxidant (SOD) activity with an increased of plasma lipid peroxidation level (MDA). (*J Respir Indo. 2013; 33:163-6*)

Keywords : Pulmonary TB, malondialdehyde, superoxide dismutase.

PENDAHULUAN

Saat ini praktisi menggunakan foto toraks untuk menggambarkan derajat keparahan dan kerusakan paru pada tuberkulosis (TB) paru. Berdasarkan foto toraks, tuberkulosis paru dibagi menjadi lesi minimal dan lesi luas.¹ Terapi yang direkomendasi pada TB paru

lesi minimal menurut World Health Organization (WHO) 2003 adalah obat antituberkulosis kategori 3 dengan menghilangkan etambutol pada fase inisial, tetapi dalam prakteknya diberikan obat antituberkulosis kategori 1.²

Mycobacterium tuberculosis adalah patogen intraseluler yang tumbuh dan bereplikasi dalam makrofag *host*-nya. Setelah fagositosis, kemampuan *mycobacteria* tergantung kemampuannya untuk menghindari destruksi oleh makrofag. Kandidat utama untuk membunuh secara langsung *Mycobacterium tuberculosis* adalah *nitric oxide* dan radikal *superoxide* yang dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi. *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI) dihasilkan untuk melawan organisme asing terutama melalui *membrane bound NADPH oxidase* sebagai konsekuensi *phagocyte respiratory burst*.³

Antioksidan enzimatis (*superoxide dismutase*) dan non enzimatis mendetoksifikasi ROS dan RNS (*reactive nitrogen species*) serta meminimalisir kerusakan pada biomolekul. Ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kapasitas antioksidan menyebabkan keadaan stres oksidatif yang berkontribusi pada patogenesis sejumlah penyakit dengan menimbulkan kerusakan lemak, protein, dan DNA. Umumnya, penyakit paru berkaitan dengan proses inflamasi yang menimbulkan peningkatan ROS dan RNI.⁴ Produksi ROS dan RNI menginduksi peroksidasi lemak, suatu proses berantai yang menyebabkan asam lemak tidak jenuh yang terutama terdapat di membran sel membentuk *malondialdehyde*. Produk peroksidasi lemak menyebar dari sisi inflamasi memasuki sirkulasi dan dapat diukur kadarnya dalam darah.³ Radikal bebas berimplikasi pada terjadinya fibrosis paru yang merupakan sekuel jangka panjang tuberkulosis paru.⁵

Tujuan penelitian mengetahui peranan *malondialdehyde* dan *superoxide dismutase* pada kerusakan parenkim paru melalui stres oksidatif pada TB paru lesi minimal dan lesi luas dengan mengukur kadar *malondialdehyde* (MDA) dan aktivitas superoksida dismutase (SOD).

METODE

Desain penelitian adalah *observational cross sectional*. Terdiri dari 2 kelompok, TB paru lesi minimal dan lesi luas, masing-masing terdiri dari 10 subjek.

Kriteria inklusi adalah pasien yang didiagnosis TB paru dengan gambaran foto toraks lesi minimal dan lesi luas, belum pernah mendapat obat antituberkulosis (OAT), laki-laki dan perempuan usia 15-55 tahun, menandatangani *informed consent*. Kriteria eksklusi adalah penderita TB paru dengan penyakit penyerta pneumonia bakterial, *human immunodeficiency virus* (HIV)-*acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS), penyakit jantung, diabetes melitus, gangguan fungsi hati, penyakit gagal ginjal, dan penyakit keganasan, serta penderita sedang hamil. Kadar MDA diukur dengan tes *thiobarbituric acid*. Kadar SOD diukur dengan reduksi *nitroblue tetrazolium*. Data dianalisis dengan tes-t dan tes *analysis of variance* (ANOVA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik subjek penelitian

Karakteristik subjek 55% perempuan, 45% laki-laki, usia mayoritas ≤ 30 tahun, sputum sewaktu pagi sewaktu (SPS) positif pada 10% penderita TB paru lesi minimal dan 30% penderita dengan TB paru lesi luas, peningkatan laju endap darah (LED) pada 90% penderita, baik pada TB paru lesi minimal maupun lesi luas (tabel 1).

Terdapat peningkatan rerata kadar MDA plasma pada TB paru lesi luas dibandingkan lesi minimal. Tetapi rerata kadar MDA sputum hampir sama pada setiap kelompok. Terdapat peningkatan rerata aktivitas SOD plasma pada TB paru lesi minimal dibandingkan lesi luas. Hasil rerata kadar MDA dan aktivitas SOD terdapat

Tabel 1. Data karakteristik subjek

	TB paru lesi minimal n=10		TB paru lesi luas n=10		Pasien TB paru total n=20	
	n	%	n	%	n	%
Laki-laki	4	40	5	50	9	45
Perempuan	6	60	5	50	11	55
Usia (tahun)						
≤ 30 tahun	7	70	5	50	12	60
31-40 tahun	0	0	3	30	3	15
41-50 tahun	3	30	2	20	5	25
BTA* sputum						
(+)	1	10	3	30	4	20
(-)	9	90	7	70	16	80
LED						
Naik	9	90	9	90	18	90
Normal	1	10	1	10	2	10

*BTA : Bakteri tahan asam

Tabel 2. Kadar MDA dan aktivitas SOD di pasien TB paru

	Sampel	Normal (n=10)	TB paru lesi minimal (n=10)	TB paru lesi luas (n=10)	TB paru total (n=20)
MDA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Plasma	7,111 $\pm$ 1,42	10,582 $\pm$ 2,277	12,516 $\pm$ 3,739	11,549 $\pm$ 3,172
	Sputum	3,047 $\pm$ 1,421	2,522 $\pm$ 1,454	2,304 $\pm$ 1,029	2,413 $\pm$ 1,231
SOD (unit/cc)	Plasma	67,699 $\pm$ 3,265	41,201 $\pm$ 5,217	25,264 $\pm$ 11,346	33,232 $\pm$ 11,562

Tabel 3. Hasil uji statistik kadar MDA dan aktivitas SOD

Sampel		Tes ANOVA			Tes-t
		Normal vs TB paru lesi minimal	Normal vs TB paru lesi luas	TB paru lesi minimal vs lesi luas	Normal vs TB paru
MDA ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Plasma	0,038*	0,002*	0,145	0,006*
	Sputum	0,425	0,197	0,703	0,217
SOD (unit/cc)	Plasma	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

Signifikan $p \leq 0,05$

pada tabel 2. Analisis statistik dengan tes-t dan tes ANOVA tercantum pada tabel 3.

Rerata kadar MDA plasma pada kelompok TB paru (11,549 $\pm$ 3,172 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) lebih tinggi (signifikan, $p=0,006$) daripada kelompok normal (7,111 $\pm$ 1,42 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Rerata kadar MDA pada TB paru lesi luas (12,516 $\pm$ 3,739 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) lebih tinggi (tidak signifikan, $p=0,145$) daripada lesi minimal (10,516 $\pm$ 2,277 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Data ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan peroksidasi lemak sebagai penanda stres oksidatif antara kedua keadaan. Studi oleh Guney⁶ menunjukkan peningkatan kadar MDA plasma pada penderita TB paru.

Foto toraks kurang menggambarkan keparahan kerusakan paru. Sebagaimana diketahui bahwa sensitivitas foto toraks dalam menggambarkan infiltrat parenkim paru kurang dibandingkan *computed tomography/CT-scan* toraks.⁷

Rekomendasi terapi untuk TB paru lesi minimal menurut WHO 2003 adalah obat antituberkulosis kategori 3 tanpa etambutol pada fase inisial, tetapi dalam praktek sehari-hari diberikan obat antituberkulosis kategori 1. Selanjutnya, menurut WHO 2010, terapi TB paru hanya dibedakan menjadi kategori 1 dan kategori 2 sehingga kita tidak perlu membedakan pemberian obat antituberkulosis pada TB paru lesi minimal dan lesi luas.^{2,8,9}

Dalam penelitian ini, kadar MDA sputum tidak dapat menjelaskan proses peroksidasi lemak yang terjadi. Sampel sputum diperoleh dengan dibatukkan

secara langsung tanpa induksi, sehingga hasilnya dapat kurang representatif dibandingkan bila sputum diperoleh dari induksi sputum atau dari *broncho-alveolar lavage* (BAL). Selain itu kit MDA yang digunakan direkomendasikan untuk spesimen darah (serum dan plasma).

Rerata aktivitas SOD plasma pada TB paru lesi minimal (41,201 $\pm$ 5,217 unit/cc) lebih tinggi (signifikan) dibandingkan dengan lesi luas (25,264 $\pm$ 3,739 unit/cc). Aktivitas SOD tertinggi pada kelompok normal (67,699 $\pm$ 3,265 unit/cc). Penelitian oleh Guney⁶ melaporkan bahwa aktivitas enzim SOD lebih rendah pada TB paru dibandingkan kelompok normal. Aktivitas SOD pada TB paru lesi luas lebih tertekan dibandingkan pada TB paru lesi minimal.⁵

Superoksida dismutase adalah enzim antioksidan yang penting untuk mengkatalisir reaksi konversi radikal superoksid menjadi *hydrogen peroxide* dan *molecular oxygen*. Aktivitas ini menjelaskan kemampuan eliminasi efek toksik radikal superoksid. *Reactive oxygen species* dapat menyebabkan inaktivasi SOD dan peroksidasi lemak (MDA) akan berlanjut.⁶ Sehingga penurunan aktivitas SOD mengindikasikan keparahan lesi paru karena infeksi tuberkulosis.

Terdapat korelasi negatif ($r=-0,149$) antara kadar MDA dan aktivitas SOD, peningkatan kadar MDA akan diikuti oleh penurunan aktivitas SOD. Data ini sesuai dengan penelitian Guney⁶ yang menyebutkan bahwa penurunan aktivitas SOD disebabkan oleh peningkatan

radikal bebas karena peningkatan produk peroksidasi lemak (*malondialdehyde*). Penurunan aktivitas SOD dan peningkatan kadar MDA dapat sebagai penanda nonspesifik yang mengindikasikan terjadinya stres oksidatif pada tuberkulosis paru.^{6,10}

KESIMPULAN

1. Kadar *malondialdehyde* plasma adalah hasil akhir peroksidasi lemak yang diinduksi ROS lebih tinggi pada kelompok TB paru ($11,549 \pm 3,172 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) dibandingkan dengan kelompok normal ($7,111 \pm 1.42 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), pada TB paru lesi luas ($12,516 \pm 3,739 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) lebih tinggi (tidak signifikan) dibandingkan TB paru lesi minimal ($10,516 \pm 2,277 \mu\text{g}/\mu\text{l}$).
2. Aktivitas *superoxide dismutase* (SOD) plasma sebagai antioksidan enzimatis dapat diinaktivasi oleh ROS pada kelompok normal ($67,699 \pm 3,265 \text{ unit/cc}$) lebih tinggi (signifikan) dibandingkan kelompok TB paru ($33,232 \pm 11,562 \text{ unit/cc}$). Aktivitas SOD plasma pada TB paru lesi minimal ($67,699 \pm 3,265 \text{ unit/cc}$) lebih tinggi (signifikan) dibandingkan TB paru lesi luas ($41,201 \pm 5,217 \text{ unit/cc}$).
3. Korelasi antara kadar MDA dan aktivitas SOD menunjukkan korelasi negatif. Peningkatan kadar MDA plasma sebagai penanda stres oksidatif disertai dengan penurunan aktivitas SOD plasma sebagai penanda antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. Tuberkulosis. Pedoman diagnosis dan penatalaksanaan di Indonesia. Jakarta: Indah Offset Citra Grafika; 2006.p.10.
2. World Health Organization. Treatment of tuberculosis: Guidelines for national programmes. Geneva: WHO Press; 2003.p.37-38.
3. Lamsal M, Gautam N, Bhatta N, Toora DB, Barral. Evaluation of lipid peroxidation product, nitrite and antioxidant levels in newly diagnosed and two months follow-up patients with pulmonary tuberculosis. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2007;38(4):695-703.
4. Comhair S, Erzurum S. Antioxidant responses to oxidant mediated lung disease. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2002;283(2):246-55.
5. Reddy YN, Murthy S, Krishna DR, Prabhakar MC. Role of free radicals and antioxidants in tuberculosis patients. Indian J Tuberc. 2004;51: 213-8.
6. Güney Y, Bilgihan A, Ciftçi TU, Çimen F, Coskun O. Serum malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pulmonary tuberculosis and lung cancers. Meslek Yüksekokulu Dergisi. 2004;6(2):33-8.
7. Bombarda S, Figueiredo CM, Seiscento M, Filho MT. Pulmonary tuberculosis: Tomographic evaluation in the active and post-treatment phases. Sao Paulo Med J. 2003;121:198-202.
8. World Health Organization. Treatment of tuberculosis guidelines. Geneva: WHO Press; 2010. p. 42.
9. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. Pedoman nasional pengendalian tuberkulosis. Jakarta: Depkes RI; 2011.p.6-7.
10. Toro J, Rodrigo R. Oxidative stress: Basic overview. In: Rodrigo R, editor. Oxidative stress and antioxidants: Their role in human disease. New York: Nova Science Publisher;2009. p. 2-3.