



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PONOROGO HEALTH SCIENCES JOURNAL

<http://studentjournal.umpo.ac.id/index.php/HSJ>

REVIEW : AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *ALPHA LIPOIC ACID* DAN PERANANNYA DALAM *IN VITRO EMBRYO PRODUCTION*

Salsabilla Abani¹

¹Program Magister Biologi Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Email : salsabilla.abani-2020@fkh.unair.ac.id

Sejarah Artikel

Diterima : Maret 2023 Disetujui : April 2023 Dipublikasikan: April 2023

Abstract

Infertility is a big fear for every couple. Not all couples have the opportunity to continue their offspring naturally, so they must be assisted with assisted reproductive technology such as *in vitro embryo production (IVP)*. In the process of IVP gametes and embryos might be exposed to free radicals from outside the body which cause oxidative stress and affect the results of IVP. Provision of antioxidants can be an alternative to reduce damage caused by oxidative stress. Alpha Lipoic Acid (ALA) is a powerful antioxidant that can scavenge free radicals such as Reactive Oxygen Species (ROS) and chelate various metals. In addition, its use in IVP has shown a positive effect. This article will explain more deeply the antioxidant activity of ALA and its role in IVP.

Keywords : Alpha Lipoic Acid, Antioxidant, In Vitro Embryo Production

Abstrak

Infertilitas merupakan sebuah ketakutan besar setiap pasangan. Tidak semua pasangan memiliki peluang untuk meneruskan keturunan secara alami sehingga harus dibantu dengan teknologi reproduksi berbantu seperti *in vitro embryo production (IVP)*. Dalam proses IVP gamet maupun embrio dapat terekspos radikal bebas dari luar tubuh yang menyebabkan stress oksidatif dan akan mempengaruhi hasil dari IVP. Pemberian antioksidan dapat menjadi alternatif untuk mengurangi kerusakan akibat stress oksidatif. Alpha Lipoic Acid (ALA) merupakan antioksidan kuat yang dapat menangkalkan radikal bebas seperti Reactive Oxygen Species (ROS) dan mengikat berbagai logam. Selain itu penggunaannya dalam IVP juga telah menunjukkan efek positif. Artikel ini akan menjelaskan lebih dalam aktivitas antioksidan ALA dan peranannya dalam IVP.

Kata Kunci : Alpha Lipoic Acid, Antioksidan, In Vitro Embryo Production

How to Cite: Salsabilla Abani (2023). Aktivitas Antioksidan Alpha Lipoic Acid dan Peranannya Dalam In Vitro Embryo Production. Universitas Airlangga, Vol.7 (No. 2)

I. PENDAHULUAN

Sudah menjadi ciri khas setiap pasangan untuk berkembang biak dan meneruskan keturunan. Namun sayangnya tidak semua pasangan memiliki peluang baik ini karena banyak diantaranya mengalami masalah infertilitas. Pada periode antara tahun 1990 hingga 2010 angka infertilitas cenderung meningkat (Buanayuda et al, 2019). Sebagai alternatif, beberapa dari pasangan ini mulai mencoba teknologi reproduksi berbantu. Teknologi reproduksi berbantu atau *Assisted Reproduction Technology* (ART) telah digunakan secara luas selama tiga dekade terakhir dan menunjukkan keberhasilan yang terus meningkat dengan bantuan metode tersebut. Salah satu bentuk ART adalah *In Vitro Embryo Production* (IVP) dimana sel telur dimatangkan diluar tubuh atau dikenal dengan *in vitro maturation* (IVM) lalu difertilisasi oleh sperma di luar tubuh atau dikenal juga dengan *in vitro fertilization* (IVF) dan ditransfer menuju rahim dengan metode transfer embryo.

Manipulasi gamet dan embrio dalam lingkungan *in vitro* saat melakukan IVP membawa risiko sel-sel ini terpapar oleh spesies oksigen reaktif tingkat suprafisiologis menyebabkan terjadinya stress oksidatif dan akan berdampak pada hasil dari IVP (Khazei & Agaz, 2017). Stres oksidatif didefinisikan

sebagai peningkatan pada tingkat spesies oksigen reaktif yang melebihi sistem pertahanan antioksidan terutama pada gamet dan embryo yang berada diluar tubuh memiliki mekanisme pertahanan antioksidan sangat minim (Agarwal & Majzoub, 2017). Antioksidan telah diteliti baik melalui suplementasi oral maupun dalam media kultur ditemukan memiliki efek yang baik pada hasil IVP. Maka dari itu beberapa peneliti mengusulkan untuk menambahkan antioksidan sebagai sistem pertahanan tambahan dari gamet atau embryo.

Alpha Lipoic Acid (ALA) sebagai komponen membran biologis dan kofaktor penting dehidrogenase mitokondria terkenal dengan sifat antioksidannya. ALA dan bentuk tereduksinya asam dihydrolipoic (DHLA), telah terbukti sebagai salah satu antioksidan kuat baik dalam kondisi *in vivo* dan *in vitro*. Penambahan ALA pada media IVP diketahui memberikan efek antioksidan yang baik dalam menangkal spesies oksigen reaktif. Sampai saat ini belum ada studi literatur terkait aktivitas antioksidan serta peranan ALA pada IVP.

II. METODE

Penelitian ini didasarkan oleh informasi yang diambil dengan metode studi literature dari berbagai penelitian orisinil. Beberapa

literature yang digunakan didapat melalui pencarian menggunakan aplikasi Harzing's Publish and Pernish versi Windowss. Pencarian literasi menggunakan basis data selama sepuluh tahun terakhir dari Google Scholar, Pubmed, dan Springer dengan menggunakan kata kunci '*Alpha lipoic Acid*' ; '*in vitro maturation*' ; '*in vitro fertiization*' dan '*embryo transfer*'. Dari 1000 artikel yang diperoleh dilakukan seleksi hingga terpilih 10 artikel yang sesuai dengan kriteria kata kunci.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *ALPHA LIPOIC ACID*

Antioksidan yang kuat harus memenuhi setidaknya satu dari tiga cara kerja antioksidan untuk menjadi senyawa potensial dalam menangkal dampak dari radikal bebas seperti dapat mengais radikal bebas, dapat mengikat logam dan racun, dan bertindak sinergis dengan antioksidan lain, dan berdampak pada ekspresi gen. sebagai salah satu senyawa antioksidan ALA memenuhi ketiga kriteria tersebut (Hassan *et al*, 2017).

Alpha lipoic acid, juga dikenal sebagai asam tiositik, adalah senyawa organosulfur, yang mengandung dua gugus belerang (tiol).

ALA terbagi dalam bentuk teroksidasi atau tereduksi sebagai asam dihidrolipoat (DHLA). Senyawa ini terdapat secara alami dan dibiosintesis oleh semua organisme hidup, termasuk manusia. ALA dapat larut baik dalam air dan lipid dan karenanya dapat berfungsi sebagai antioksidan intraseluler maupun ekstraseluler. Hal ini membuat ALA dapat berfungsi sebagai antioksidan pada dasarnya di semua jaringan (Anthony *et al*, 2021).

Beberapa data penelitian yang membuktikan aktivitas antioksidan ALA, yaitu bertindak sebagai agen pengikat logam, pengais radikal bebas, regenerator antioksidan endogen, seperti glutathione, vitamin C dan E dan memberikan dampak langsung dalam pengurangan stres oksidatif. Keberadaan gugus tiol dalam ALA bertanggung jawab atas kemampuan pengikat logamnya . Selain itu, mampu meningkatkan kadar glutathione di dalam sel, yang mengkelat dan mengeluarkan berbagai macam racun, terutama logam beracun dari tubuh (Salehi *et al*, 2019).

Penelitian lain membuktikan bahwa ALA dapat menekan kadar ROS pada sel dan dapat mengaktifkan kembali berbagai antioksidan dengan cara mendukung sel untuk mensintesis glutathione (GSH) dan mengekspresikan enzim antioksidan seperti GPX4 dan SOD (Zhang *et al*, 2013). Sintesis

antioksidan dan ekspresi enzim antioksidan ini dapat menghambat ekspresi aktivator dari apoptosis seperti BAX, BAD, Caspase dan gen Sitokrom C. apoptosis sendiri merupakan dampak dari stress oksidatif akibat paparan ROS berlebih. Sebagai antioksidan ALA dipercaya bekerja lebih baik 1000x dibanding vitamin C dan E. Karena sifat antioksidannya yang kuat dan universal, ALA telah terbukti berkontribusi sebagai alternatif terapi kesehatan kardiovaskular dan kognitif, anti penuaan, detoksifikasi, anti peradangan, anti kanker, dan perlindungan saraf (Anthony *et al*, 2021).

B. PERANAN ALPHA LIPOIC ACID PADA IN VITRO EMBRYO PRODUCTION

Dalam proses IVP, banyak hal dan faktor yang perlu diperhatikan untuk memperoleh keberhasilan proses IVP itu

sendiri. IVM oosit adalah proses fisiologis yang kompleks dimana oosit mengalami pematangan inti dan pematangan sitoplasma dan berada diluar lingkungan tubuh. Selama IVM oosit, oosit jauh lebih rentan terhadap stres oksidatif, yang mengganggu oosit dan perkembangan embrio selanjutnya. Selain itu proses IVF sendiri yang juga mengharuskan spermatozoa dengan kualitas mikroskopis yang baik agar didapatkan proses fertilisasi yang sempurna dan menghasilkan embrio yang berkembang dengan baik. Penambahan antioksidan dalam media dapat berpengaruh terhadap keberhasilan IVP itu sendiri. Penggunaan ALA dalam media IVM, IVF maupun TE sudah banyak diteliti dan memberikan dampak yang positif. Berikut beberapa penelitian yang menunjukkan peranan ALA dalam IVP yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel.1 Peranan Alpha Lipoic Acid Terhadap In Vitro Embryo Production

No.	Sampel Penelitian	Hasil	Dosis Efektif	Refrensi
1.	Kambing	Pada penelitian ini, kumulus oosit kompleks (KOK) kambing dimaturasi secara <i>in vitro</i> tanpa dan dengan tambahan ALA pada media maturasi lalu dilakukan aktivasi parthenogenetic untuk menjadi embrio. Laju maturasi oosit dan perkembangan embrio partenogenetik pada kelompok ALA meningkat secara signifikan	25 µM	He <i>et al</i> , 2021

		sebesar 7,88% ($p < 0,05$) dan 5,41% ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol.		
2.	Sapi	Penelitian ini melakukan suplementasi ALA pada media maturasi <i>in vitro</i> oosit sapi. Hasil menunjukkan oosit sapi yang disuplementasi ALA sebanyak 50 μM memiliki kualitas Grade A dan B lebih banyak dibanding kelompok control serta Integritas DNA yang baik pada kelompok yang disuplementasi ALA dibanding kontrol.	50 μM	Mohammed dan Karam, 2021
3.	Sapi	IVM, IVF dan kultur Embrio dilakukan pada oosit dengan konsentrasi oksigen (O_2) yang berbeda (20% dan 7%) dengan suplementasi ALA dengan dosis bertahap (2,5; 5; 7,5; 25; 50; 100 μM). Embrio yang dikultur dengan ALA sebanyak 2,5 μM pada O_2 7 % dan 5 μM pada O_2 20% menunjukkan kualitas embrio yang baik .	2,5 dan 5 μM	Fabra <i>et al</i> , 2020
4.	Domba	Oosit domba pada penelitian ini dimaturasi dan fertilisasi secara <i>in vitro</i> dengan media yang telah ditambahkan etanol dan suplementasi ALA. Hasil menunjukan suplementasi media dengan ALA melemahkan efek etanol 1% dan secara signifikan meningkatkan pembentukan blastosis dan laju perkembangan embrio dibandingkan dengan kelompok kontrol.	25 μM	Kroshgani <i>et al</i> , 2019
5.	Babi	Penelitian ini dilakukan dengan IVM oosit babi dengan suplementasi ALA pada medianya sebesar 50 μM lalu dilakukan aktivasi partenogenik. Oosit yang matang dengan 50 μM ALA selama IVM menunjukkan tingkat pembelahan sel yang jauh lebih tinggi (67,8% vs 83,4%) dan pembentukan blastosis serta jumlah sel total blastosis setelah AP	50 μM	Kang <i>et al</i> , 2017

		lebih tinggi (31,6%, 58,49 vs 46,8%, 68,58) daripada kelompok kontrol.		
6.	Tikus	Penelitian pada tikus jantan yang diberi <i>lipopolysaccharide</i> (LPS) dan dilanjut dengan pemberian ALA dapat mengurangi efek LPS dengan meningkatkan kualitas mikroskopis spermatozoa sehingga dapat memfertilisasi oosit secara <i>in vitro</i> dan menghasilkan embrio dengan kualitas baik.	0,04 mM	Makvandi <i>et al</i> , 2019
7.	Sapi	Penelitian dilakukan dengan mematurasi dan fertilisasi oosit sapi secara <i>in vitro</i> yang disuplementasi dengan ALA dosis 5,10 dan 20 μ M. Suplementasi ALA dosis 10 μ M menghasilkan oosit yang matang lebih banyak dan perkembangan embrio tahap blastosis dengan kualitas baik.	10 μ M	Hassan <i>et al</i> , 2017
8.	Tikus	IVF dan kultur Embrio tikus dilakukan dengan ada atau tidak adanya kombinasi antioksidan (10 μ M Acetyl-L-Carnitine, 10 μ M N-Acetyl-L-Cysteine, 5 μ M α -Lipoic Acid). Kelompok perlakuan kombinasi antioksidan selama IVF dan kultur menghasilkan waktu perkembangan yang jauh lebih cepat dalam pembelahan dua sel (P <0,01), yang berlanjut hingga tahap blastosis (P <0,05).	5 μ M	Truong <i>et al</i> , 2017
9.	Tikus	Oosit tikus yang dalam tahap GV dimaturasi secara <i>in vitro</i> dengan tambahan cilostamide dan forskolin dan suplementasi ALA sebesar 100 μ M. Hasil menunjukan tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok yang diberi suplementasi dan tanpa ALA	100 μ M	Zavareh <i>et al</i> , 2016

10.	Kambing	Suplementasi ALA diberikan pada media IVM oosit kambing. Hasil menunjukkan ALA secara signifikan meningkatkan laju maturasi oosit 12% dibanding kelompok kontrol (57,8% vs 69,8%) ($P<0,05$). Tingkat embrio kloning pada kelompok suplemen LA (67,3%) secara signifikan lebih tinggi dari kontrol (56,5%, $P<0,05$). Selain itu kelompok perlakuan memiliki tingkat pembentukan blastosis dan tingkat penetasan yang jauh lebih tinggi daripada kontrol (24,0% vs 18,4% dan 37,0% vs. 30,9%, masing-masing, $P<0,05$)	25 μ M	Zhang <i>et al</i> , 2013
-----	---------	--	------------	---------------------------

Maturasi oosit secara *in vitro* adalah bentuk dari kemajuan teknologi reproduksi dan sebagai metode dalam suatu penelitian ilmiah. Simulasi lingkungan *in vivo* saat proses maturasi *in vitro* diperlukan untuk meningkatkan kualitas, efisiensi serta menjadikan oosit yang diproduksi secara IVM kompeten dalam hal fertilisasi dan perkembangannya menjadi embrio. Sedangkan keberhasilan fertilisasi baik *in vitro* adalah keberadaan embrio yang ditandai dengan mulai terjadinya pembelahan sel membentuk morula hingga blastula atau dikenal dengan blastosis (Khazei & Agaz, 2017). Peneliti telah banyak membuktikan faktor utama yang mempengaruhi kualitas maturasi oosit adalah kerusakan oksidatif pada kultivasi dan operasi *in vitro*, yang umumnya terlihat pada proses

kultur sel (Premkumar & Chaube, 2016). Dengan demikian, banyak peneliti menggunakan antioksidan, seperti vitamin C, vitamin E, dan berbagai macam antioksidan lain sebagai bahan tambahan dalam menangkali dampak kerusakan yang disebabkan oleh stress oksidatif (Kusumaningrum, 2019).

Pemberian ALA sebagai senyawa antioksidan dalam media IVM, IVF maupun kultur embrio telah terbukti memberikan dampak positif baik dalam meningkatkan kompetensi oosit, meningkatkan kualitas mikroskopis sperma, meningkatkan laju pembelahan sel setelah fertilisasi dan dalam perkembangan embrio selanjutnya. Selain memberikan dampak yang baik dalam IVP, pemberian ALA dalam media maturasi juga

membantu sintesis antioksidan lain seperti GSH, GPX4 dan SOD pada oosit maupun embrio, mencegah terjadinya apoptosis dengan menekan ekspresi gen apoptosis. (Zhang *et al*, 2013; Hassan *et al*, 2017; dan Khorasgani *et al*, 2019); dan mencegah kerusakan DNA pada spermatozoa dan oosit (Mavandi *et al*, 2019 dan Khorasgani *et al*, 2019). Hingga kini ALA telah

KESIMPULAN

ALA merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan universal. Suplementasi ALA pada media IVP memberikan banyak dampak positif dengan meningkatkan kompetensi oosit, kualitas mikroskopis spermatozoa dan perkembangan embrio dengan kualitas yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

Buanayuda, Gede & Lunardhi, Hamdani & Mansur, Indra. (2021). Effect of In-Vitro Alpha Lipoic Acid Addition on Spermatozoa Motility in Sperm Preparation Process. *Folia Medica Indonesiana*. 55. 246.

Fabra, M. C., Izquierdo, I., Anchordoquy, J. M., Anchordoquy, J. P., Carranza, A. C., Nikoloff, N., & Furnus, C. C. (2020). Effect of alpha-lipoic acid during preimplantation development of cattle embryos when there were different in vitro culture conditions.

banyak direkomendasikan sebagai terapi dalam berbagai bidang kesehatan karena ALA memiliki aktivitas antioksidan yang baik dan belum menunjukkan adanya efek samping yang berbahaya pada tubuh.

Agarwal A, Majzoub A. (2017). Role of Antioxidants in Assisted Reproductive Techniques. *World J Mens Health*.35(2). 77-93.

Anthony, R.M.; MacLeay, J.M.; Gross, K.L. (2021) Alpha-Lipoic Acid as a Nutritive Supplement for Humans and Animals: An Overview of Its Use in Dog Food. *Animals*. 11. 1454.

Animal Reproduction Science, 106550.

Hassan BMS, Fang X, Roy PK, Shin ST, , Cho JK. (2017) Effect of Alpha Lipoic Acid as an Antioxidant Supplement during *In Vitro* Maturation Medium on Bovine Embryonic Development. *Journal of Embryo Transfer*. 32,123-130.

He, Yuanyuan & Wang, Yile & Zhang, Hengde & Zhang, Yong & Quan, Fusheng. (2021). Alpha-lipoic Acid

- Improves the Maturation and the Developmental Potential of Goat Oocytes In Vitro. *Reproduction in Domestic Animals*. 56. 10.1111/rda.13892.
- Kang YH, , Hyun SH. (2017). Effect of Alpha Lipoic Acid on *in vitro* Maturation of Porcine Oocytes and Subsequent Embryonic Development after Parthenogenetic Activation. *Journal of Embryo Transfer*. 32. 267-274.
- Khazaei M, Aghaz F. (2017). Reactive Oxygen Species Generation and Use of Antioxidants during In Vitro Maturation of Oocytes. *Int J Fertil Steril*. 11(2).63-70.
- Khorasgani Moghimi A, Moradi R, Jafarpour F, Ghazvinizadehgan F, Ostadhosseini S, Heydarnezhad A, Fouladi-Nashta AA, Nasr-Esfahani MH. (2021). Alpha-lipoic acid can overcome the reduced developmental competency induced by alcohol toxicity during ovine oocyte maturation. *Cell J*. 23(2), 164- 173.
- Kusumaningrum, Amalia. (2019). Suplementasi Antioksidan pada Maturasi In Vitro Menurunkan Kadar ROS: A Literature Review. *Jurnal Penelitian Kesehatan SUARA FORIKES (Journal of Health Research Forikes Voice)*. 11. 23. 10.33846/sf11105.
- Makvandi, A., Kowsar, R., Hajian, M., Mahdavi, A.H., Tanhaei Vash, N. and Nasr-Esfahani, M.H. (2019), Alpha lipoic acid reverses the negative effect of LPS on mouse spermatozoa and developmental competence of resultant embryos in vitro. *Andrology*, 7: 350-356.
- Mohammed, Ameer & Karam, Khalid. (2021). Alpha-Lipoic Acid Supplementation On *In Vitro* Maturation Media of Bovine Oocyte. *Biochemical and Cellular Archives*. 21. 3115-3124.
- Premkumar KV, Chaube SK. (2016) Increased level of reactive oxygen species persuades postovulatory aging-mediated spontaneous egg activation in rat eggs cultured in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 52(5).576–588.
- Salehi, Bahare, Yakup Berkay Yılmaz, Gizem Antika, Tugba Boyunegmez Tumer, Mohamad Fawzi Mahomoodally, Devina Lobine, Muhammad Akram, Muhammad

- Riaz, Esra Capanoglu, Farukh Sharopov, Natália Martins, William C. Cho, and Javad Sharifi-Rad. (2019). "Insights on the Use of α -Lipoic Acid for Therapeutic Purposes" *Biomolecules* 9(8), 356.
- Truong T, Gardner D K. (2017). Antioxidants improve IVF outcome and subsequent embryo development in the mouse, *Human Reproduction*, 32 (12), 2404–2413
- Zavareh S, Karimi I, Salehnia M, Rahnama A. (2016) Effect of in vitro maturation technique and alpha lipoic acid supplementation on oocyte maturation rate: focus on oxidative status of oocytes. *Int J Fertil Steril*. 9(4). 442-451.