

Perubahan nilai peroksida lipid dan glutathion peroksidase jantung akibat diet makanan tinggi garam

Penelitian eksperimental pada model hewan coba Tikus Sprague Dawley bunting

B. YUDOMUSTOPO

Latar belakang

Masalah hipertensi masih banyak yang belum dapat diungkapkan oleh para peneliti, terutama masalah kerusakan pada organ-organ penting. Radikal bebas yang diakibatkan oleh hipertensi diduga memegang peranan penting dalam menimbulkan kerusakan pada organ jantung. Hidrogen peroksida (H_2O_2) diduga mempunyai peranan dalam patogenesis hipertensi, yang menyebabkan kelainan seperti atherosklerosis, stroke, dan infark miokardial.^{1,2} Pada model percobaan hipertensi juga dapat meningkatkan stres oksidatif.³

Radikal bebas dapat menyebabkan reaksi oksidasi yang berantai. Reaksi oksidasi (*Reactive Oxygen Species* - ROS) potensial bersifat sitotoksik. Dalam keadaan fisiologis dan metabolisme yang normal, reaksi yang diakibatkan oleh ROS, dinetralkan sepenuhnya oleh sistem pertahanan antioksidan.^{4,5,6,7}

Serum dari ibu hamil yang normal mempunyai mekanisme antioksidan yang berfungsi untuk mengontrol hidrogen peroksida mempunyai implikasi disfungsi sel-sel endotelial seperti yang terjadi pada preeklampsia. Davidge dkk.⁸ menyatakan bahwa pada ibu hamil dengan preeklampsia aktivitas antioksidan menurun dengan nyata. Chappell dkk.⁹ meneliti 283 ibu hamil yang mempunyai faktor risiko preeklampsia. Pada umur kehamilan antara 18 sampai dengan 22 minggu secara acak, mereka diberi antioksidan yaitu vitamin E dan plasebo.

Hasil penelitian membuktikan bahwa ibu hamil yang diberi antioksidan ternyata aktivasi sel endotheliumnya berkurang. Demikian pula pada ibu hamil yang diberi antioksidan vitamin C dan vitamin E jika dibandingkan dengan kontrol, terjadi penurunan insiden yang bermakna (17% dengan 11% pada kontrol, $P < 0,002$). Dengan demikian, antioksidan kemungkinan dapat digunakan sebagai terapi pada preeklampsia. Namun, masih perlu diadakan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang besar sebelum membuat kesimpulan bahwa antioksidan dapat digunakan sebagai terapi untuk men-

cegah preeklampsia.^{8,9,10}

Mengonsumsi garam yang berlebihan dapat menyebabkan hipertensi. Hal ini disebabkan osmotilitas garam yang tinggi mempertahankan air dalam jaringan sehingga volume plasma bertambah. Dengan demikian, beban kerja jantung bertambah berat karena harus melawan resistensi perifer. Tekanan darah yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah, terutama jika ada dinding pembuluh darah yang lemah akibat proses arteriosklerosis.¹¹

Perumusan masalah

Hipertensi masih merupakan masalah besar pada ibu hamil. Masih ada kontroversi mengenai apakah penderita hipertensi perlu diet makanan rendah garam. Apakah diet makanan tinggi garam dapat menyebabkan hipertensi pada model hewan percobaan? Apakah diet makanan tinggi garam (DMTG) dapat menyebabkan kelainan jaringan jantung model tikus penelitian (MTP)? Berapa besar kelainan tersebut dan apakah kelainan tersebut sampai menimbulkan kelainan di mitokondria? Apakah DMTG menurunkan jumlah antioksidan pada jantung?

Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah meneliti pengaruh DMTG pada jantung MTP *Sprague Dawley Rat* (SDR) yang bunting. Juga diteliti pengaruh DMTG terhadap nilai peroksida lipid dan glutathion peroksidase dan gambaran kelainan struktur dan ultrastruktur sel otot jantung.

Harapan dan manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran pengaruh DMTG pada masalah hipertensi, ROS dan nilai antioksidan glutathion peroksidase, serta gambaran kelainan histopatologi dari jantung model penelitian. Diharapkan juga penelitian ini

dapat menyumbangkan suatu informasi mengenai DMTG, hipertensi, serta antioksidan pada kasus-kasus ibu hamil.

Hipotesis penelitian

Hipotesis Mayor

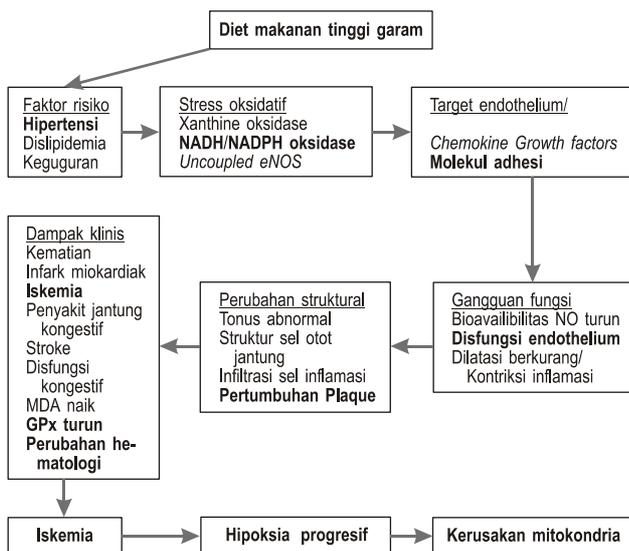
Akibat pemberian DMTG pada model penelitian SDR bunting terjadi peningkatan peroksida lipid dan penurunan nilai Glutation Peroksidase (GPx).

Hipotesis Minor

1. Pemberian DMTG dapat menyebabkan hipertensi pada model tikus penelitian.
2. Pemberian DMTG dapat menyebabkan terjadinya persalinan preterm.
3. Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan nilai GPx darah ataupun GPx jaringan.
4. Pemberian DMTG dapat menyebabkan peningkatan nilai MDA jaringan jantung.
5. Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan komponen sel darah.
6. Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan susunan sel otot jantung.
7. Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan endotel dinding arteri jantung.
8. Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan ultra struktur mitokondria sel jantung.

Kerangka teori dan konsep penelitian

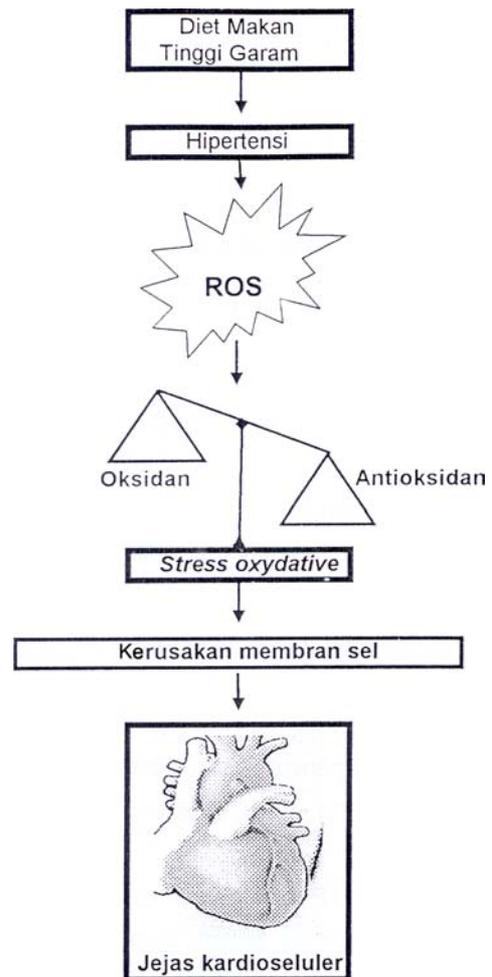
Berdasarkan perumusan masalah, hipotesis, dan tinjauan pustaka tidak memungkinkan meneliti pengaruh pemberian DMTG pada jantung ibu hamil



Dikutip dari: Saling¹², Pepin CJ, Handberg¹³ eNOS = endothelial nitric oxide synthase

Gambar 1. Kerangka teori penelitian

secara *in vivo*, maka akan diteliti permasalahan tersebut dengan model hewan coba tikus SDR. Model hewan coba SDR bunting diberi DMTG, dan diteliti pengaruh diet tersebut terhadap peroksida lipid dan nilai GPx jantung. Untuk itu disusun teori penelitian konsep penelitian, dan pengelompokan MTP. (seperti dalam Gambar 1 dan Gambar 2).^{12,13}



Gambar 2. Kerangka konsep penelitian

Variabel:

1. Tensi
2. Denyut jantung per menit
3. Berat badan induk
4. GPx darah
5. GPx jaringan jantung
6. GSH jaringan
7. MDA jaringan
8. Hemoglobin
9. Perubahan jumlah sel-sel darah putih
10. Perubahan susunan sel otot jantung
11. Perubahan endotel dinding arteri jantung
12. Perubahan ultrastruktur mitokondria

Metodologi penelitian

Untuk menjawab pertanyaan penelitian seperti disebutkan dalam perumusan masalah, maka dilakukan studi eksperimental dengan MTP SDR yang bunting. MTP dengan SDR ini digunakan karena secara etis tidak memungkinkan meneliti pengaruh DMTG pada ibu hamil secara *in-vivo*.

Model penelitian dan perlakuan

Penelitian ini menggunakan 40 ekor model tikus *Sprague Dawley* bunting. Empat puluh (40) ekor model tikus yang sudah dikawinkan dan diasumsikan sudah bunting semua dipilih secara acak menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol diberikan diet makanan dengan kadar garam, 0,3% NaCl. Sedangkan pada kelompok perlakuan diberikan DMTG dengan kadar garam, NaCl 6%. Selama masa bunting antara 21-23 hari, masing-masing kelompok diperiksa berat badan, tensi, dan denyut jantungnya seminggu dua kali. Menjelang waktu melahirkan sekitar hari ke dua puluh, dikerjakan euthanasia dan kemudian dilanjutkan dengan laparotomi dan thorakotomi dengan memenuhi standar prosedur *Animal Care Use Committee* (ACUC) dan Pusat Studi Satwa Primata – Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat – Institut Pertanian Bogor (PSSP-LPPM-IPB). Pada waktu itu didapatkan 12 ekor model tikus penelitian tidak bunting.

Sedangkan sisanya 28 MTP bunting, ternyata ada 11 ekor yang melahirkan preterm. Kerusakan jaringan jantung karena peroksida lipid diperiksa dengan

cara mengukur nilai malondialdehida (MDA) dan antioksidan glutation peroksidase (GPx).

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Kedokteran Hewan - Institut Pertanian Bogor (FKH-IPB) dan Rumah Sakit Hewan Pendidikan - IPB. Waktu penelitian berlangsung pada bulan Juli sampai bulan Agustus 2004.

Populasi, sampel dan besar sampel

Populasi yaitu MTP SDR yang dikembangkan oleh BPOM RI, sedangkan sampel yaitu MTP SDR Bunting. Untuk menentukan besar sampel digunakan rumus Federer.^{14,15}

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(2-1)(n-1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15 \rightarrow \text{dan didapat jumlah sampel} = 16$$

t = jumlah beda kelompok perlakuan terhadap model hewan percobaan

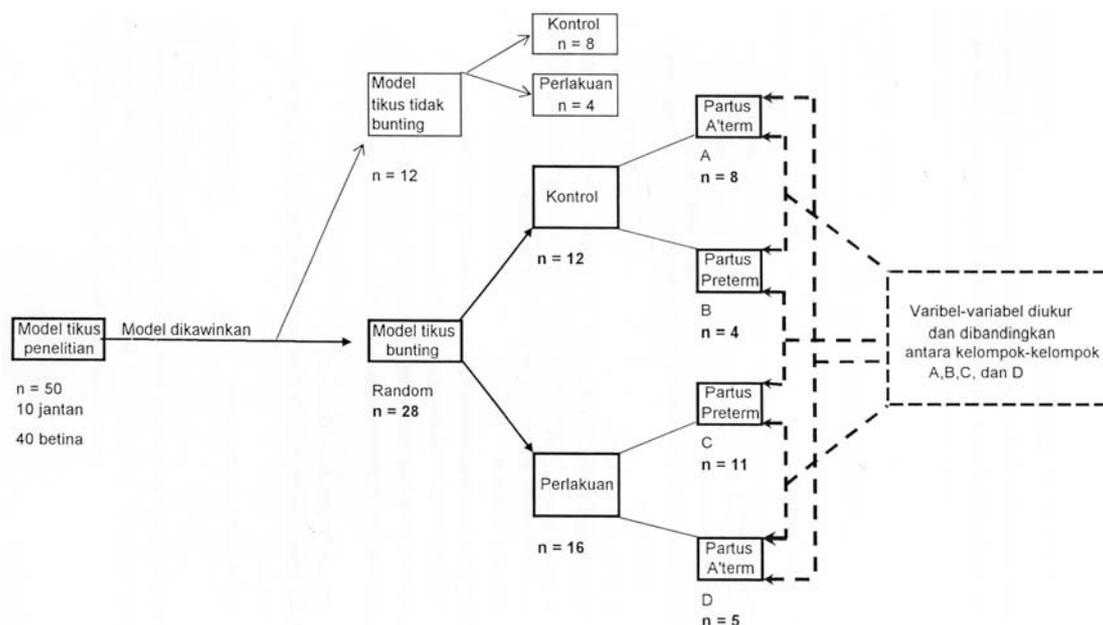
$$n = \text{jumlah sampel}$$

Kriteria penelitian

KRITERIA PENERIMAAN

Model penelitian yang memenuhi kriteria penerimaan adalah sebagai berikut.

- 1) SDR betina.
- 2) Umur 16 - 18 minggu.
- 3) Berat badan 200 - 250 gram.
- 4) Belum pernah kawin.



Gambar 3. Pengelompokan model tikus penelitian

KRITERIA PENOLAKAN

Model penelitian yang masuk kriteria penolakan adalah sebagai berikut:

- 1) Umur kurang dari 12 minggu.
- 2) Berat badan lebih dari 300 gram.
- 3) Sudah pernah dikawinkan.

KRITERIA PENGELUARAN (*DROP OUT*)

Model penelitian yang masuk kriteria pengeluaran adalah sebagai berikut:

- 1) Mati.
- 2) Sakit dan tidak mau makan.

Etika penelitian

Etika penelitian sesuai dengan ketentuan persyaratan dari Komisi Pengawasan Kesejahteraan dan Pengawasan Hewan Percobaan, Pusat Studi Primata – Lembaga Penelitian (PSSP-LP) - IPB dan *Animal Care and Use Committee* (ACUC).

Rancangan penelitian

Selama bunting tiap kelompok perlakuan dan tiap kelompok kontrol diperiksa berat badan dan tekanan darahnya seminggu dua kali. Pada masa bunting ini diperiksa variabel-variabel berikut ini:

1. Berat badan.
2. Tekanan darah sistolik.
3. Tekanan darah diastolik.
4. Beat Per Minute (BPM) sistolik.
5. BPM diastolik.

Setelah masa bunting kira-kira 21 hari, dilakukan laparotomi dan torakotomi. Variabel yang diperiksa dari induk model hewan coba adalah:

1. Nilai GPx dari darah jantung yang diambil di daerah ventrikel.
2. Nilai GPx dan MDA dari jantung.
3. Histopatologi untuk pemeriksaan patologi anatomi.
4. Sediaan untuk pemeriksaan dengan elektron mikroskop.
5. Untuk jantung janin diambil sediaan untuk pemeriksaan histopatologi.
6. Pada pemeriksaan GPx diperiksa darah rutin dan darah tepi serta diperiksa protein dari seluruh model penelitian.

Pada saat laparotomi ternyata ada 12 ekor model penelitian yang tidak bunting.

Definisi operasional

BERAT BADAN

Berat badan model penelitian adalah berat badan

yang didapat dari mengukur berat badan model setelah model tenang di atas timbangan. Pencatatan diukur tiga kali kemudian dibuat rerata dan dicatat dalam satuan gram.

TEKANAN DARAH SISTOLIK

Tekanan darah sistolik model penelitian adalah tekanan darah yang diukur dengan *Tail Cuff Plethysmograph* (TCP) pada saat terjadi sistolik dengan satuan mmHg. Kemudian direkam di dalam *Non Invasive Intermittent Blood Pressure* (NIBP) dan komputer. Hasil rekaman ini diolah dengan perangkat lunak dari *ADI instrument* menjadi dalam bentuk tabel. Selanjutnya diolah sebagai data penelitian.

TEKANAN DARAH DIASTOLIK

Tekanan darah diastolik sama dengan definisi operasional tekanan darah sistolik, tetapi pengukurannya dilakukan pada saat terjadi diastolik.

TEKANAN DARAH RERATA KONTROL

Tekanan darah rerata model penelitian kontrol baik yang sistolik maupun diastolik dipakai sebagai nilai normal tekanan darah.

BEAT PER MENIT (BPM)

BPM ada dua macam yang diukur, yaitu BPM sistolik dan BPM diastolik. Angka BPM ada karena pada saat ada aliran darah di ekor tikus denyut nadi berubah-ubah sesuai dengan saat sistolik atau diastolik. Angka ini muncul secara otomatis di monitor komputer.

NILAI GLUTATION PEROKSIDASE (GPx)

Nilai GPx diambil dengan dua cara, yaitu yang pertama diambil sampel dari darah ventrikel jantung dan kedua diambil dari sampel jaringan apeks jantung induk. Karena rujukan pustaka tidak ada, yang digunakan sebagai nilai normal GPx adalah nilai rerata GPx darah dan rerata GPx jaringan. Kedua macam nilai normal ini dipakai untuk menganalisis secara statistik variabel-variabel penelitian yang lain. Satuan yang digunakan untuk nilai GPx darah adalah Unit/gram Hb (U/gHb), sedangkan untuk jaringan Unit/liter/gram protein (U/l).

HEMATOLOGI

Dengan definisi operasional mengenai GPx, maka hasil data hematologi diperiksa dengan kriteria tersebut. Cara menganalisis secara statistik dengan menggunakan, \leq rerata GPx kontrol dan $>$ rerata GPx kontrol.

HISTOPATOLOGI

Histopatologi memeriksa jantung induk dan jantung janin. Pemeriksaan histopatologi dikerjakan dengan menggunakan mikroskop cahaya konvensional dan pembesaran yang dipakai 250 x.

Selain itu, digunakan juga pemeriksaan dengan elektron mikroskop untuk mengetahui apakah ada kelainan di mitokondria. Kriteria yang dipakai untuk kerusakan histopatologi adalah adanya kelainan di dalam lumen pembuluh darah dan jaringan pendukung pembuluh darah. Kriteria ini dituliskan oleh Billingham. Kriteria yang dipakai untuk mengukur derajat kerusakan di mitokondria menggunakan kriteria Saling.¹² Kriteria ini menyebutkan bahwa jika didapatkan kerusakan krista-krista mitokondria, energi akan hilang dan sel akan mati. Dalam keadaan ini sel sudah mengalami anoksia. Jika belum terjadi kerusakan krista-krista sel belum sampai anoksia tetapi mungkin sudah sampai keadaan hipoksia dan kemungkinan sel masih dapat beradaptasi atau kompensasi.

KELAHIRAN PRETERM

Kelahiran preterm adalah model penelitian yang sudah melahirkan atau sedang melahirkan sewaktu dilakukan laparotomi dan torakotomi.

Hasil penelitian

Berikut ini akan disajikan hasil analisis data penelitian dari SDR bunting yang diberi perlakuan DMTG dan yang tidak diberi DMTG atau kelompok kontrol dengan n = 28. Pengujian hipotesis dengan uji statistik untuk menguji perbedaan dua rerata, digu-

nakan uji-t. Untuk menguji seberapa kuat pengaruh satu faktor dengan faktor lainnya, digunakan analisis korelasi dengan uji *Pearson* dan persamaan garis regresi linier. Sedangkan untuk menguji perbedaan proporsi antara dua kelompok digunakan uji proporsi dari Ferguson (1976). Uji statistik ini dilakukan dengan menggunakan program *SPSS 9.0 for Windows*.

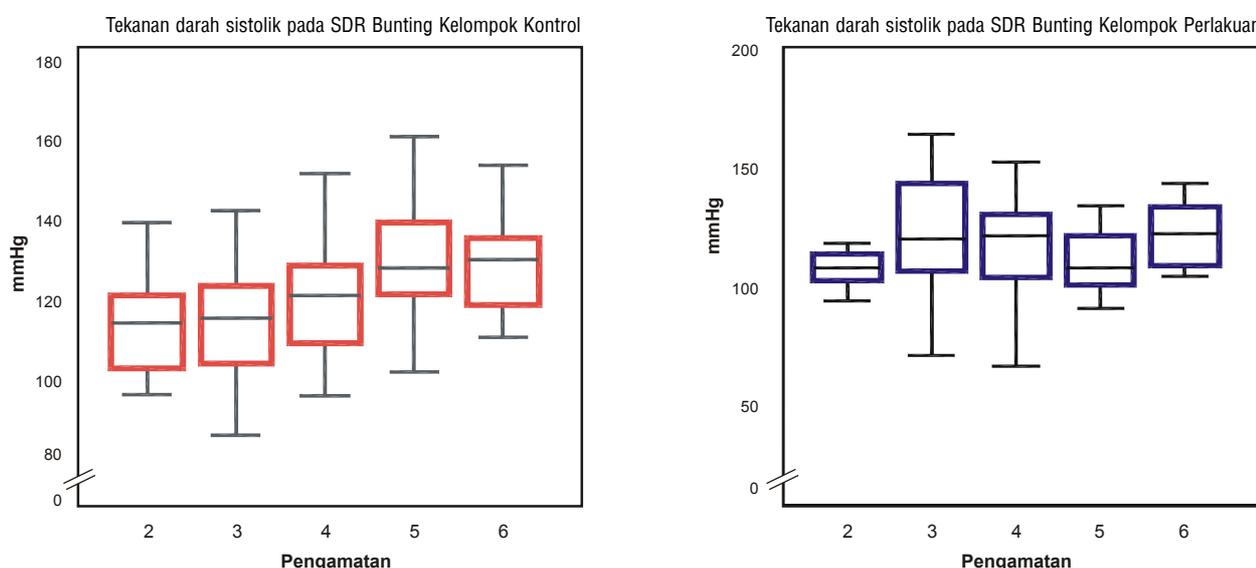
Pemberian DMTG dapat menyebabkan hipertensi pada MTP

Tabel 1. Tekanan Darah Sistolik dan Diastolik antara SDR Bunting Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

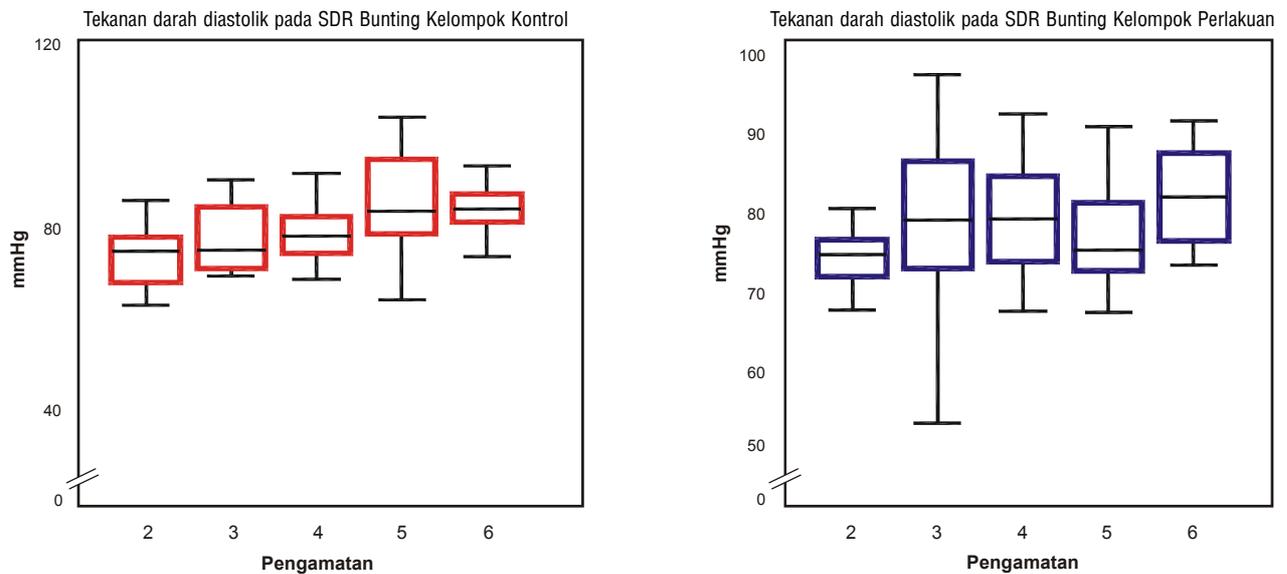
Tekanan darah yang diukur	SDR Bunting (n = 28)				
	Kontrol (n = 12)		Perlakuan (n = 16)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
Sistolik 2-6	110,18	25,34	127,51	19,62	0,036*
Diastolik 2-6	73,32	12,09	81,61	8,52	0,024*

*: Signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 1 menunjukkan hasil perhitungan uji-t untuk tekanan darah sistolik dan diastolik pada SDR bunting kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil uji-t terhadap kedua rerata data tekanan darah sistolik antara SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan ditemukan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,036 > 0,05$. Demikian pula untuk hasil uji-t terhadap kedua rerata data tekanan darah diastolik antara SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan, juga ditemukan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,024 < 0,05$. Pada SDR bunting



Gambar 4. Boxplot untuk tekanan darah sistolik SDR Bunting Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan



Gambar 5. Boxplot untuk tekanan darah diastolik SDR Bunting Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

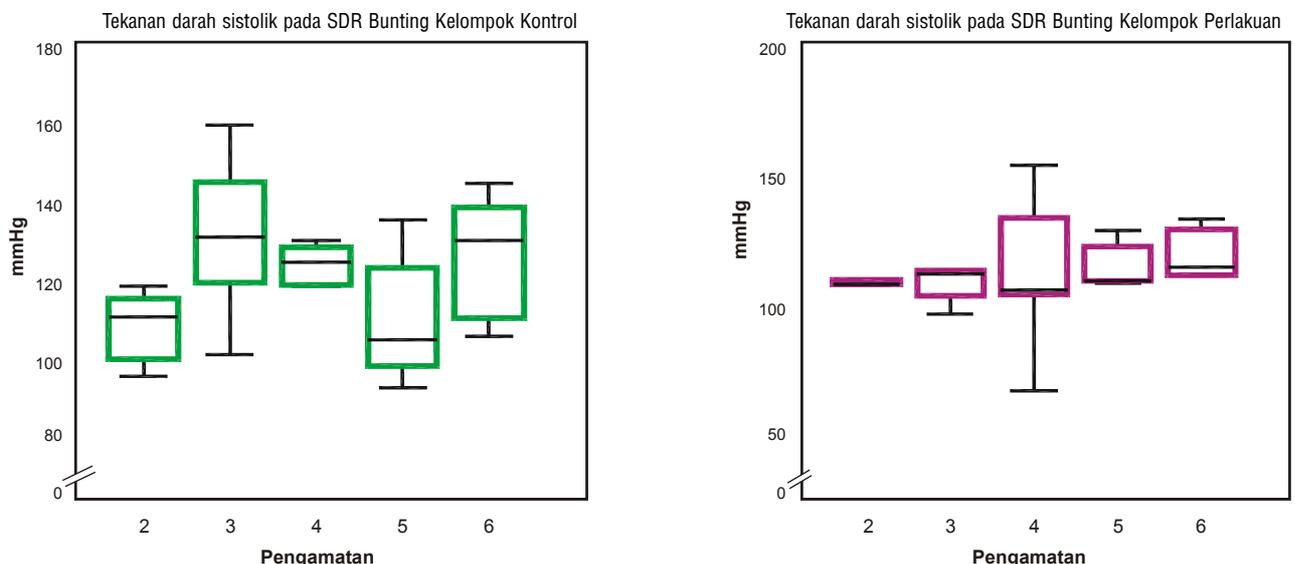
kelompok perlakuan, tekanan darah diastolik dan sistolik cenderung meningkat dibandingkan dengan SDR bunting kelompok kontrol.

Tabel 2. Tekanan Darah Sistolik dan Diastolik pada SDR Bunting Kelompok Perlakuan

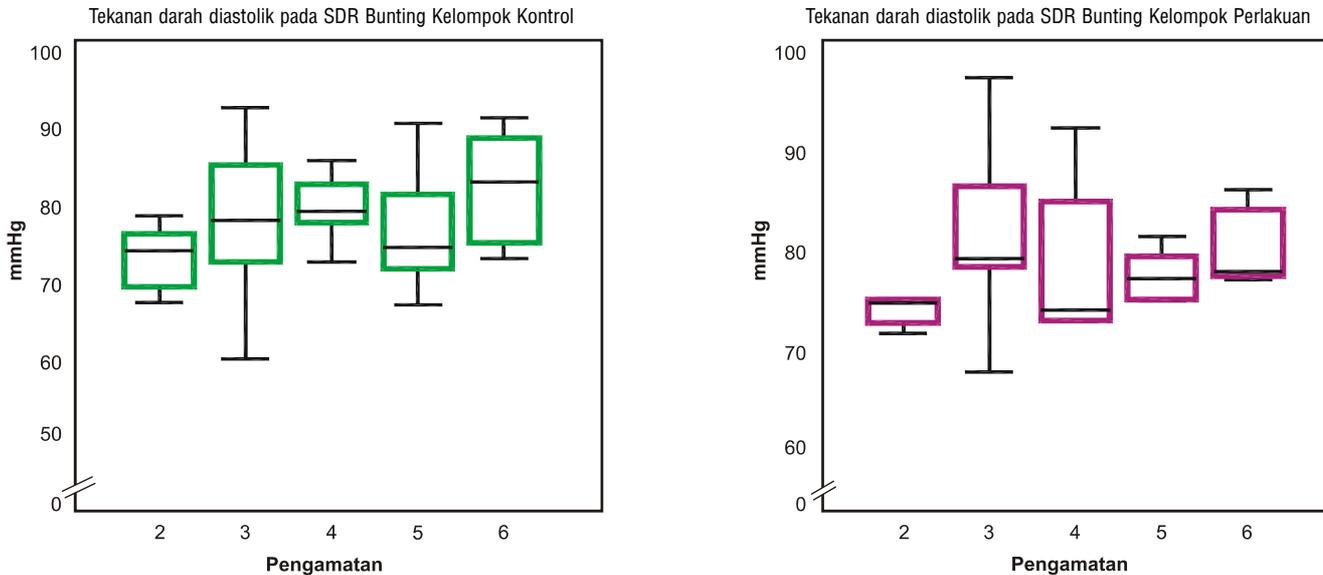
Tekanan darah yang diukur	SDR Bunting Kelompok Perlakuan (n = 16)				
	Preterm (n = 11)		A'term (n = 5)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
Sistolik 2-6	124,29	20,92	134,60	24,71	0,521 ^{ns}
Diastolik 2-6	80,08	9,38	84,97	6,98	0,682 ^{ns}

ns: Non Signifikan

Tabel 2 menunjukkan hasil perhitungan uji-t untuk tekanan darah sistolik dan diastolik pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan. Hasil analisis uji-t tersebut menunjukkan bahwa kedua rerata data tekanan darah sistolik antara keduanya ditemukan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,521 > 0,05$, dan nilai tekanan darah sistolik cenderung lebih tinggi pada SDR bunting a'term. Demikian pula untuk uji-t terhadap kedua rerata data tekanan darah diastolik antara keduanya, juga ditemukan perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,682$, dan nilai tekanan darah diastolik cenderung lebih tinggi pada kelompok a'term.



Gambar 6. Boxplot untuk tekanan darah sistolik SDR Bunting Preterm dan A'term Kelompok Perlakuan



Gambar 7. Boxplot untuk tekanan darah diastolik SDR Bunting Preterm dan A⁷term Kelompok Perlakuan

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian DMTG dapat menyebabkan hipertensi pada SDR bunting.

Pemberian DMTG dapat menyebabkan terjadinya persalinan preterm

Tabel 3. Persentase Persalinan Preterm dan A⁷term pada Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Persalinan		n	%
Perlakuan	Preterm	11	68
	A ⁷ term	5	32
	Total	16	100
Kontrol	Preterm	4	33
	A ⁷ term	8	67
	Total	12	100

Pada Tabel 3 terlihat bahwa persentase persalinan preterm lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan a⁷term dengan persentase sebesar 68%. Pada SDR bunting kelompok kontrol dengan persalinan a⁷term persentasenya lebih besar daripada kelompok preterm yaitu masing-masing 67% dan 33%.

Hasil pengujian hipotesis proporsi dapat disimpulkan bahwa proporsi persalinan preterm pada SDR bunting kelompok perlakuan lebih tinggi se-

cara bermakna dari pada proporsi preterm pada SDR bunting kelompok kontrol pada $\alpha = 0,05$. (Tabel 4)

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian DMTG menyebabkan terjadinya persalinan preterm.

Tabel 4. Deskripsi Data Proporsi SDR Bunting Kelompok Perlakuan Preterm dan Kelompok Kontrol Preterm

Persalinan Preterm	P	F	N	P _{AB}	q (1-P _{AB})	Z _{hit}	Z _{tab} ($\alpha = 0,05$)	Ket
Perlakuan (A)	0,68	11	16					
				0,54	0,46	1,115*	$\pm 1,96$	Signifikan
Kontrol (B)	0,33	4	12					

- P : Proporsi
- F : Jumlah persalinan preterm kelompok perlakuan dan kontrol
- N : Jumlah SDR bunting kelompok perlakuan dan kontrol
- P_{AB} : Proporsi AB
- *Signifikan : $-1,96 \leq Z_{hit} \leq 1,96$

Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan nilai GPx Darah ataupun GPx Jaringan

Tabel 5. Nilai GPx Darah dan GPx Jaringan pada SDR Bunting Preterm dan A⁷term Kelompok Perlakuan

Tekanan darah yang diukur	SDR Bunting Kelompok Perlakuan (n = 16)				
	Preterm (n = 11)		A ⁷ term (n = 5)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
GPx Darah (U/gHb)	2894,18	28,89	3326,40	41,31	0,000**
GPx Jaringan (U/I)	668,78	376,11	821,30	386,75	0,053 ^{ns}

** : Sangat signifikan
ns : Non signifikan

Analisis dilakukan pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan, terdapat perbedaan rerata GPx darah yang bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,000 < 0,05$ dan rerata GPx darah pada SDR bunting a'term lebih tinggi dari rerata GPx darah pada SDR bunting preterm. (Tabel 5)

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian DMTG dapat meningkatkan nilai GPx darah tetapi tidak bermakna. Namun pada kelompok perlakuan, ternyata terdapat perbedaan peningkatan nilai GPx darah antara SDR bunting preterm dan SDR bunting a'term secara bermakna dan pada SDR bunting preterm dari kelompok perlakuan, nilai GPx darah lebih rendah daripada SDR bunting a'term. (Tabel 5)

Selanjutnya hasil analisis uji-t menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang mendekati bermakna antara nilai rerata GPx jaringan jantung dari kedua kelompok SDR bunting tersebut. (Tabel 5)

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian DMTG dapat menurunkan nilai GPx jaringan jantung walaupun tidak secara bermakna dan pada SDR bunting preterm dari kelompok perlakuan, nilai rerata GPx jaringan jantung lebih menurun secara bermakna dibandingkan dengan nilai GPx jaringan jantung pada SDR bunting a'term. (Tabel 5)

Pemberian DMTG dapat meningkatkan nilai MDA jaringan jantung

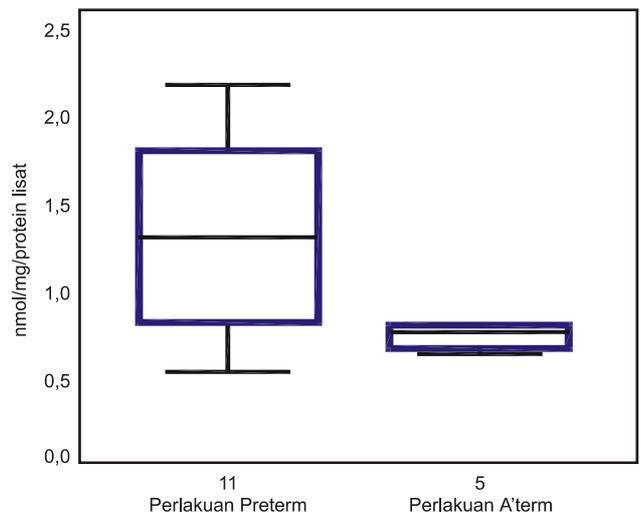
Tabel 6. Nilai MDA pada SDR Bunting Preterm dan A'term pada Kelompok Perlakuan

Pengukuran	SDR Bunting Kelompok Perlakuan (n = 16)				
	Preterm (n = 11)		A'term (n = 5)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
MDA (nmol/mg/protein lisat)	1,25	0,53	0,80	0,19	0,016*

*: Signifikan

Analisis dilakukan terhadap nilai MDA pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan. Hasil uji-t menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai rerata MDA yang bermakna.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian diet makanan tinggi garam dapat menurunkan nilai MDA jaringan jantung, tetapi tidak bermakna. Sedangkan pada SDR bunting a'term dari kelompok perlakuan, nilai MDA mengalami penurunan dengan nilai signifikansi 0,80, dan antara SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan terdapat perbedaan nilai rerata MDA yang bermakna. (Tabel 6)



Gambar 8. Boxplot untuk MDA Jaringan Jantung pada SDR Bunting Preterm dan A'term Kelompok Perlakuan

Tabel 7. Nilai GSH Jaringan antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Pengukuran	SDR Bunting (n = 28)				
	Kontrol (n = 12)		Perlakuan (n = 16)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
GSH ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	286,25	7,78	390,65	6,71	0,428 ^{ns}

ns: Non signifikan

Tabel 7 menunjukkan hasil analisa data untuk nilai Glutation Tereduksi (GSH) jaringan pada SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan. Hasil analisis perbedaan rerata dengan uji-t menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna antara nilai rerata GSH jaringan dari SDR bunting kelompok perlakuan dan SDR bunting kelompok kontrol, dan nilai rerata GSH jaringan dari SDR bunting kelompok perlakuan lebih tinggi daripada SDR bunting kelompok kontrol.

Tabel 8. Nilai GSH Jaringan pada SDR Bunting Preterm dan A'term Kelompok Perlakuan

Pengukuran	SDR Bunting Kelompok Perlakuan (n = 16)				
	Preterm (n = 11)		A'term (n = 5)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
GSH ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	0,314	7,60	0,295	4,61	0,604 ^{ns}

ns: Non signifikan

Analisis dilakukan terhadap nilai GSH pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan. Hasil uji-t menunjukkan bahwa nilai rerata GSH pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok

perlakuan, ternyata tidak ada perbedaan yang bermakna antara nilai rerata GSH pada kedua kelompok tersebut, dan nilai rerata GSH pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan hampir sama yaitu 0,314 dan 0,295. (Tabel 8)

Pemberian DMTG dapat menyebabkan perubahan komponen sel darah

Tabel 9 menunjukkan hasil analisa data untuk pengukuran komponen sel darah pada SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan. Hasil analisis rerata dengan uji-t antara SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna untuk nilai rerata WBC, NEU, RBC, MCV, MCHC dan PLT. Sedangkan untuk nilai rerata HCT antara SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan terdapat perbedaan rerata yang sangat bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,004 < 0,05$. Nilai WBC, NEU dan PLT cenderung menurun pada SDR bunting kelompok perlakuan, sebaliknya nilai-nilai RBC, MCV, dan MCHC cenderung meningkat.

Tabel 9. Nilai Komponen Sel Darah pada SDR Bunting antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Pengukuran	SDR Bunting (n = 28)				
	Kontrol (n = 12)		Perlakuan (n = 16)		
	Rerata	SD	Rerata	SD	p
Sel Darah Putih					
WBC (10e3/ul)	1,68	0,87	1,36	0,79	0,321 ^{ns}
NEU	0,17	0,44	0,16	0,62	0,952 ^{ns}
RBC (10e6/ul)	6,11	1,23	6,49	0,71	0,311 ^{ns}
HCT (%)	19,81	15,93	37,14	10,35	0,004 ^{**}
MCV (fL)	62,08	2,91	62,32	2,30	0,813 ^{ns}
MCHC (g/dL)	31,70	0,55	32,03	0,75	0,209 ^{ns}
PLT (10e3/ul)	1240,92	201,31	1198,13	258,32	0,639 ^{ns}

**^{*}: Sangat signifikan ($p, 0,05/0,01$)

^{ns}: Non signifikan

Analisis dilakukan terhadap komponen sel darah pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan. Hasil uji-t menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada nilai WBC dengan nilai signifikansi $p = 0,037 < 0,05$, dan pada SDR bunting a'term nilai WBC lebih tinggi daripada SDR bunting preterm. Sedangkan untuk nilai NEU, RBC, HCT, MCV, MCHC, PLT tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Tabel 10. Nilai Komponen Sel Darah pada SDR Bunting Preterm dan A'term Kelompok Perlakuan

Pengukuran	SDR Bunting Kelompok Perlakuan (n = 16)				
	Preterm (n = 11)		A'term (n = 5)		p
Sel Darah Putih	Rerata	SD	Rerata	SD	
WBC (10e3/ul)	1,09	0,54	1,95	0,98	0,037 [*]
NEU	5,36	3,53	0,50	1,10	0,142 ^{ns}
RBC (10e6/ul)	6,52	0,80	6,43	2,56	0,821 ^{ns}
HCT (%)	38,29	9,68	34,62	12,48	0,530 ^{ns}
MCV (fL)	62,25	2,05	62,46	3,05	0,875 ^{ns}
MCHC (g/dL)	32,12	0,62	31,84	1,05	0,512 ^{ns}
PLT (10e3/ul)	1213,45	257,93	1164,40	286,07	0,738 ^{ns}

^{}: Signifikan ($P < 0,05$)

^{ns}: Non signifikan

Pemberian DMTG tidak menyebabkan perubahan frekuensi denyut jantung

Tabel 11. Denyut Jantung SDR Bunting antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Denyut jantung yang diukur	SDR Bunting (n = 28)				
	Kontrol (n = 12)		Perlakuan (n = 16)		
	Rerata	SD	Rerata	SD	p
BPM Sistolik 2-6	456,39	95,10	493,57	82,54	0,291 ^{ns}
BPM Diastolik 2-6	427,48	82,79	432,33	106,26	0,862 ^{ns}

^{ns}: Non signifikan

Selain tekanan darah sistolik dan diastolik SDR bunting, nilai *Beat Per Minute* (BPM) sistolik dan BPM diastolik juga diukur. Analisis di atas dilakukan terhadap nilai BPM pada SDR bunting kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil uji-t terhadap tekanan darah sistolik dalam bentuk BPM sistolik menunjukkan bahwa tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara SDR bunting kelompok kontrol dan perlakuan dengan $p = 0,291 > 0,05$. Demikian pula dengan uji-t terhadap BPM diastolik, juga tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara SDR bunting kelompok kontrol dan perlakuan dengan $p = 0,682 > 0,05$. (Tabel 11)

Tabel 12. Denyut Jantung pada SDR Bunting Preterm dan A'term Kelompok Perlakuan

Tekanan darah yang diukur	SDR Bunting Kelompok Perlakuan (n = 16)				
	Preterm (n = 11)		A'term (n = 5)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
BPM Sistolik 2-6	485,20	97,42	511,53	37,82	0,519 ^{ns}
BPM Diastolik 2-6	444,05	113,07	406,53	69,52	0,406 ^{ns}

ns: Non signifikan

Analisis dilakukan terhadap BPM jantung pada SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan. Hasil analisis uji-t menunjukkan bahwa pada SDR bunting kelompok perlakuan terhadap BPM sistolik tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara SDR bunting preterm dan SDR bunting a'term dengan $p = 0,519 > 0,05$. Demikian pula untuk hasil uji-t terhadap BPM diastolik antara SDR bunting preterm dan a'term dari kelompok perlakuan, juga tidak ditemukan perbedaan yang bermakna dengan $p = 0,406 > 0,05$. (Tabel 12)

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian DMTG tidak menyebabkan perubahan frekuensi denyut jantung.

Pemberian DMTG tidak menyebabkan perbedaan berat badan induk model penelitian

Tabel 13. Berat Badan (Body Weight) Induk Penelitian antara Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

Pengukuran	SDR Bunting (n = 28)				
	Kontrol (n = 12)		Perlakuan (n = 16)		p
	Rerata	SD	Rerata	SD	
Body Weight (gram)	239,82	26,84	236,12	19,69	0,677 ^{ns}

ns: Non signifikan

Variabel berat badan sebagai salah satu karakteristik SDR yang diteliti mengalami perubahan dari waktu ke waktu. Analisis dilakukan terhadap berat badan SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan. Hasil uji-t terhadap kedua rerata antar SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan menunjukkan nilai signifikansi $p = 0,677 > 0,05$. (Tabel 13) Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan rerata berat badan yang bermakna antara SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting kelompok perlakuan.

Analisis Korelasi dan Regresi

Analisis ini diperlukan untuk melihat seberapa kuat pengaruh antara satu faktor dengan faktor lainnya. Dalam hal ini akan dikaji korelasi nilai MDA terhadap nilai GSH, GPx darah dan GPx jaringan dan kaitannya dengan pemberian DMTG.

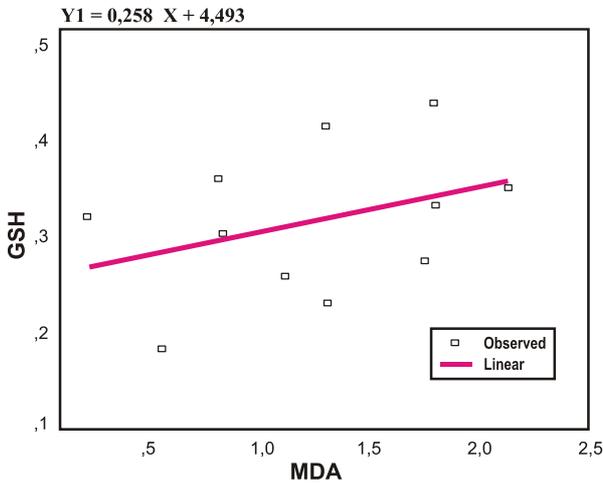
Tabel 14. Korelasi antara MDA dan GSH, MDA, dan GPx Darah, MDA dan GPx Jaringan pada SDR Bunting dari kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

KORELASI		SDR BUNTING				
		n = 28	Kelompok Kontrol (n = 12)	Kelompok Perlakuan (n = 16)	Kelompok Perlakuan	
					Preterm (n = 11)	A'term (n = 5)
MDA dan GSH	r_{tab} r_{hit}	0,361 0,417*	0,576 0,541	0,497 0,415	0,602 0,366	0,707 0,878*
Pers. Garis Regresi	Y_1	$0,240x + 4,178$	$0,200x + 6,016$	$0,253x + 5,000$	$0,258x + 4,493$	$0,215x + 0,122$
MDA dan GPx Darah	r_{tab} r_{hit}	0,361 0,126	0,576 0,541	0,497 -0,187	0,602 0,580	0,707 0,149
Pers. Garis Regresi	Y_2	$19,07x + 679,39$	$74,561x + 577,78$	$-26,540x + 746,52$	$27,04x + 636,07$	$32,670x + 795,11$
MDA dan GPx Jaringan	r_{tab} r_{hit}	0,361 0,262	0,576 0,416	0,497 -0,207	0,602 -0,009	0,707 -0,151
Pers. Garis Regresi	Y_3	$2301,66x + 7929,37$	$499,44x + 2762,34$	$-155,96x + 3202,02$	$-5,433x + 2900,98$	$-311,09x + 3575,77$

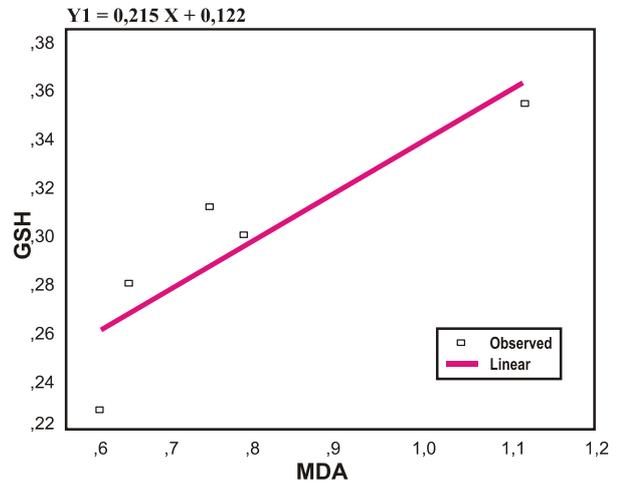
* : Signifikan pada $p < (0,05)$

PERSAMAAN REGRESI ANTARA MDA DAN GSH, MDA DAN GPx DARAH, MDA DAN GPx JARINGAN PADA SDR BUNTING PRETERM KELOMPOK PER-LAKUAN (n = 11)

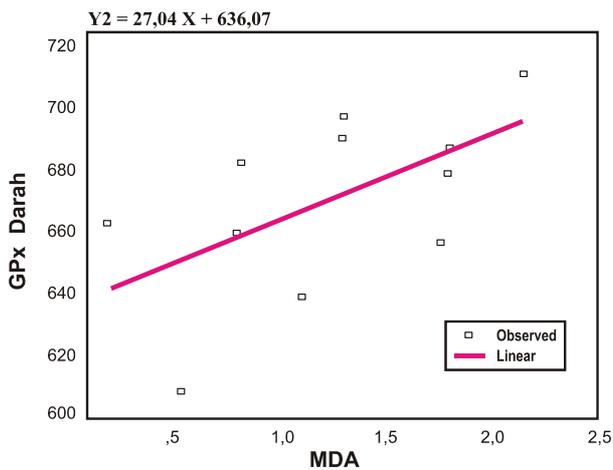
PERSAMAAN REGRESI ANTARA MDA DAN GSH, MDA DAN GPX DARAH, MDA DAN GPX JARINGAN PADA SDR BUNTING A' TERM KELOMPOK PER-LAKUAN (n = 5)



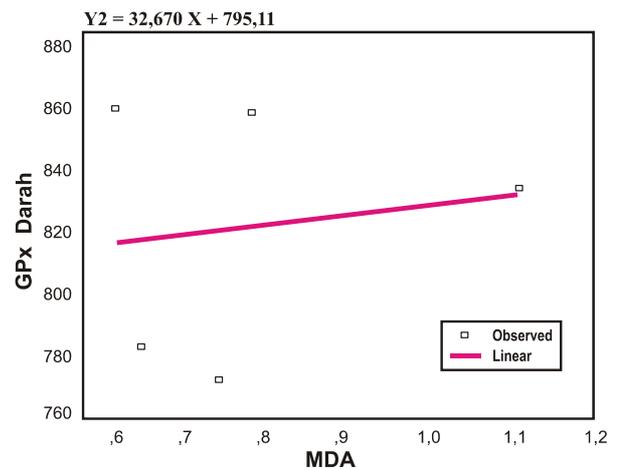
Gambar 9a. Kurva Regresi pada SDR Bunting Preterm dari Kelompok Perlakuan antara: MDA (X) dan GSH (Y₁)



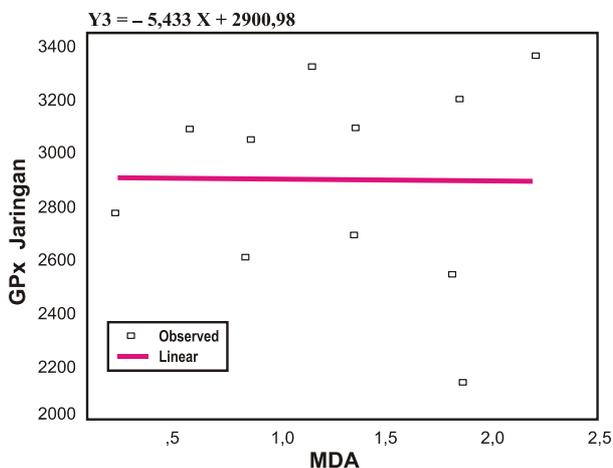
Gambar 10a. Kurva Regresi pada SDR Bunting A' term dari Kelompok Perlakuan antara: MDA (X) dan GSH (Y₁)



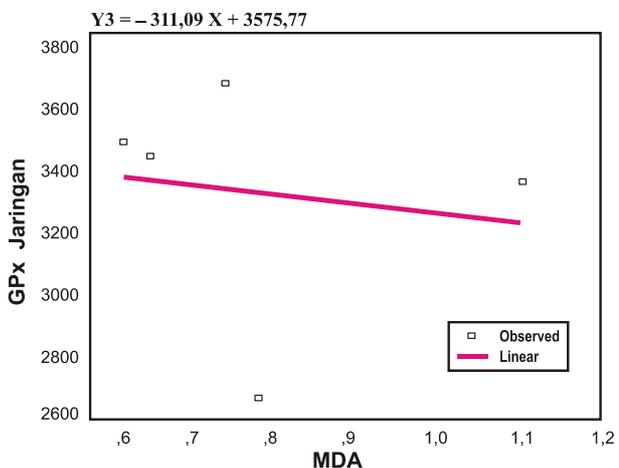
Gambar 9b. Kurva Regresi pada SDR Bunting Preterm dari Kelompok Perlakuan antara: MDA (X) dan GPx Darah (Y₂)



Gambar 10b. Kurva Regresi pada SDR Bunting A' term dari Kelompok Perlakuan antara: MDA (X) dan GPx Darah (Y₂)



Gambar 9c. Kurva Regresi pada SDR Bunting Preterm dari Kelompok Perlakuan antara: MDA (X) dan GPx Jaringan (Y₃)



Gambar 10c. Kurva Regresi pada SDR Bunting A' term dari Kelompok Perlakuan antara: MDA (X) dan GPx Jaringan (Y₃)

Dari analisis korelasi dan regresi dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi positif, kuat dan secara statistik bermakna antara nilai MDA dan GSH dengan $r = 0,417$ dan persamaan garis regresi $Y_1 = 0,240X + 4,178$. Dengan demikian dapat dikatakan makin tinggi nilai MDA maka makin tinggi pula nilai GSH (Tabel 14). Hal tersebut juga terjadi pada SDR bunting A'term kelompok perlakuan dengan $r = 0,878$ dan persamaan garis regresi $Y_1 = 0,215X + 0,122$, antara nilai MDA dan GSH terdapat korelasi positif, kuat dan secara statistik bermakna. Sementara itu antara MDA dan GPx darah juga terdapat korelasi positif, kuat, tetapi secara statistik tidak bermakna pada SDR bunting kelompok kontrol dan SDR bunting preterm kelompok perlakuan.

Dengan demikian dapat disimpulkan walaupun secara statistik tidak bermakna tetapi ada kecenderungan makin tinggi MDA maka semakin tinggi pula GPx darah (Tabel 14 dan Gambar 9b).

Korelasi antara MDA dan GPx jaringan pada SDR bunting kelompok perlakuan terjadi korelasi negatif, lemah dan secara statistik tak bermakna. (Tabel 14; Gambar 9c dan Gambar 10c)

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa berdasarkan analisis korelasi dan regresi, antara nilai MDA dan GSH terdapat korelasi positif pada SDR bunting kelompok perlakuan dan kontrol, dan juga pada SDR bunting kelompok perlakuan A'term. Antara nilai MDA dan GPx darah, pada SDR bunting preterm kelompok perlakuan terdapat korelasi positif tetapi secara statistik tidak bermakna. Sedangkan antara MDA dengan GPx jaringan, terdapat korelasi negatif, lemah dan secara statistik tidak bermakna pada SDR bunting preterm dan a'term kelompok perlakuan.

Gambaran Histopatologik

INDUK DAN EMBRIO KONTROL

Sel otot jantung umumnya reguler dengan miofibril yang tidak terputus dengan zona 1 yang jelas. Arteri dan arterioli ber dinding rata dan licin dengan lapisan tunika elastika bergelombang reguler. Sel otot jantung pada embrio belum terbentuk sempurna, le-

tak lebih jarang, miofibril pendek, dan arah reguler. (Gambar 11A dan 11B)

INDUK DAN EMBRIO DENGAN DMTG

Sel otot jantung tersusun tidak reguler, susunan miofibril lebih pendek, zona 1 kadang tidak jelas. Arteri dan arterioli menunjukkan lumen yang lebar atau *distended* (Gambar 11C) dengan lapisan elastika gelombang tidak reguler atau berkurang (Gambar 11E) sesuai dengan derajat 1 pada kriteria Billingham. Sel otot jantung dengan miofibril yang lebih pendek. Arteri dan arterioli dengan kelainan derajat 1.

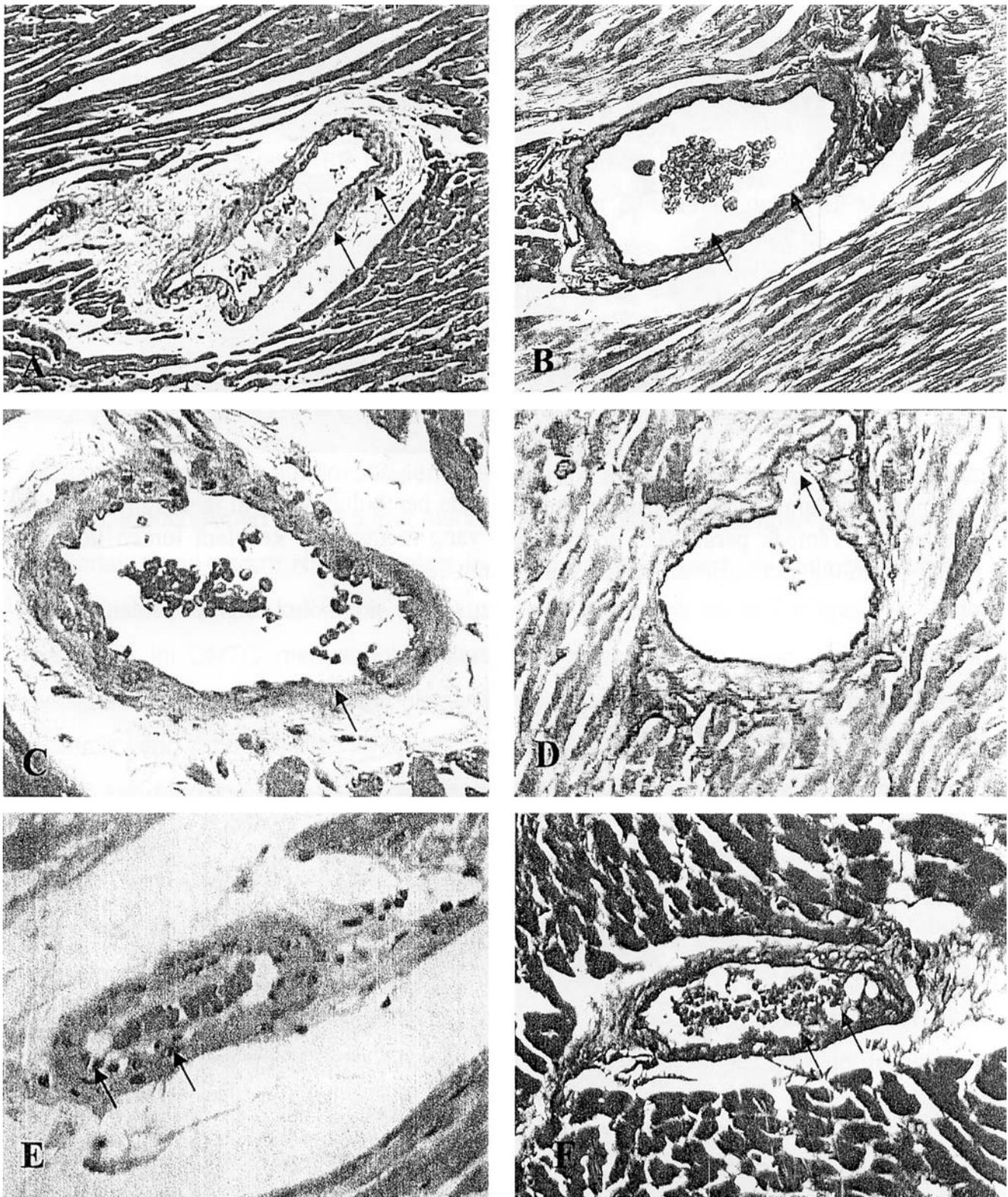
Gambaran Ultrastruktur

INDUK DAN EMBRIO KONTROL

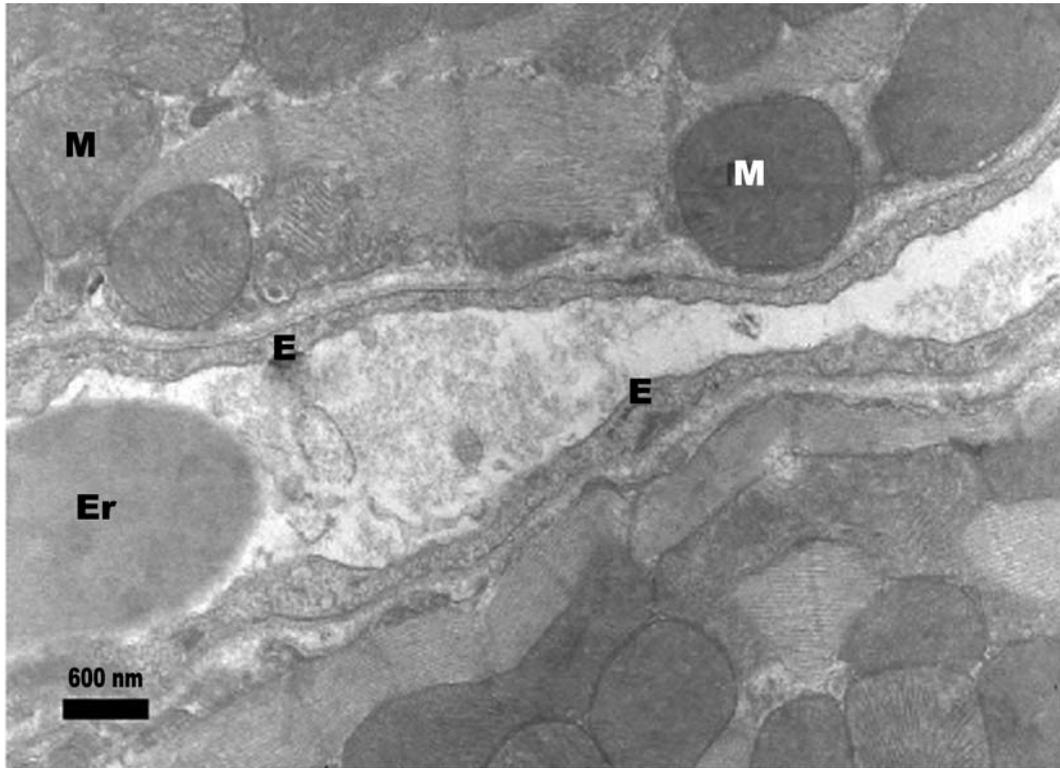
Sel miokardium/miosit menunjukkan miofibril yang relatif reguler. Mitokondria berjumlah banyak dan tersusun berkelompok. Pada umumnya berbentuk bulat lonjong. Ukuran bervariasi antara 500-800 nm. Membran luar dan dalam utuh, kristal reguler. Mitokondria pada induk berjumlah lebih banyak dan memiliki ukuran besar dibandingkan janin. Densitas matriks mitokondria pada induk lebih tinggi dibandingkan dengan embrio yang menunjukkan terjadinya akumulasi hasil metabolisme pada mitokondria jantung induk tikus.

INDUK DAN EMBRIO DENGAN DMTG

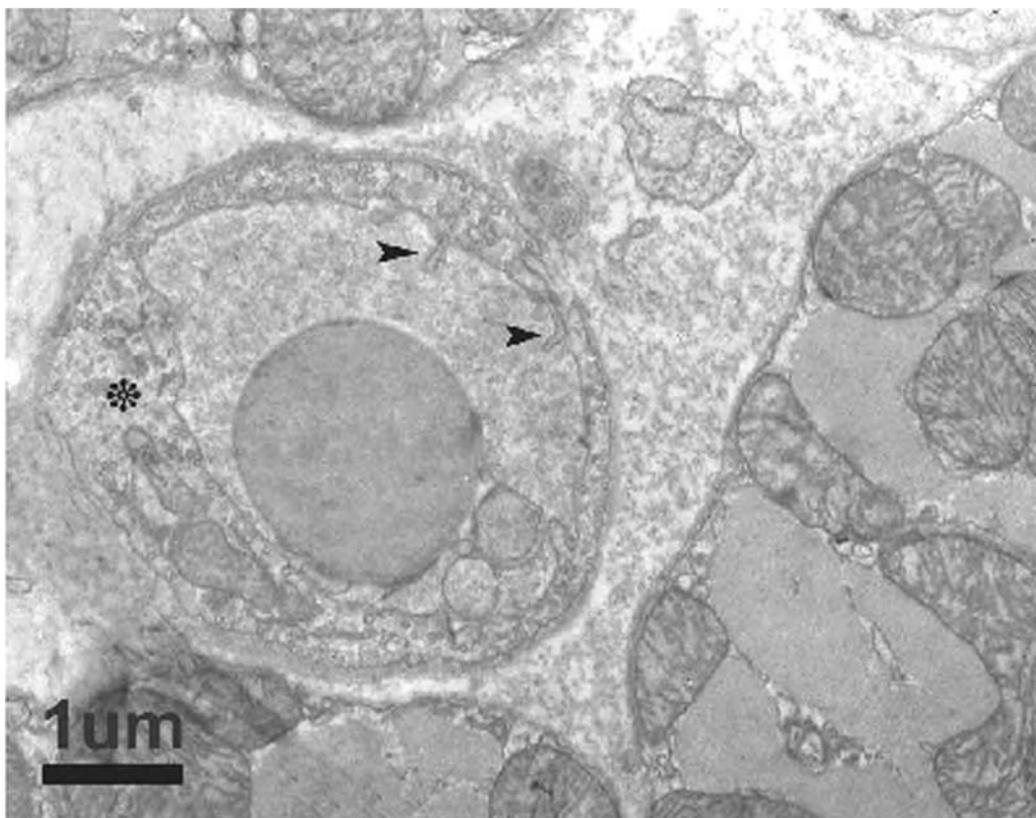
Mitokondria tidak tersusun dalam kelompok dan tersebar secara merata. Bentuk umumnya memanjang. Ukuran mitokondria dari induk dan embrio dengan DMTG lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol (1000 nm). Tampak mitokondria mengalami pembengkakan dengan krista yang tidak tersusun rapi dan jarak antara krista mengalami pelebaran. Krista yang mengalami pelebaran mencerminkan adanya gangguan dalam mitokondria terutama dalam proses pembentukan energi berupa ATP. Miofibril tidak reguler.



Gambar 11. Perubahan pada dinding arteri jantung. Tampak dinding arteri dengan endotel bentuk gepeng tanpa penonjolan (→) (A). Dengan pulsan elastika Verhoeff terlihat tunika elastika interna bergelombang dan reguler (→). Dengan pulsan HE: Arteri pada kelompok dengan diet tinggi garam menunjukkan dinding dengan endotel yang tidak reguler (→) (C). Pada pulsan elastika Verhoeff tampak tunika elastika putus (→) (D). Arteri pada embrio janin dari induk dengan diet tinggi garam menunjukkan endotel bengkak (→) sesuai dengan derajat 1 (E). Pada pulsan elastika Verhoeff dari sediaan E tampak tunika elastika tidak utuh (→) (F). Pembesaran asli 200 kali.



Gambar 12. Gambaran ultrastruktur endotel pada pembuluh darah di jantung induk tanpa perlakuan. Tampak permukaan endotel (E) yang menghadap ke dalam lumen licin dan utuh. M = mitokondria, Er = eritrosit. (Pembesaran 15.000 kali)



Gambar 13. Gambaran ultrastruktur endotel kapiler pada miokardium induk dengan diet tinggi garam. Tampak endotel yang membengkak (*) dengan penonjolan sitoplasma (▶) menyebabkan penyempitan kapiler. (Pembesaran 12.000 kali)

Pembahasan

Pemberian DMTG dan kaitannya dengan hipertensi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada tensi sistolik maupun diastolik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Gambar 4 dan Gambar 5). Hal ini memberikan indikasi bahwa pemberian DMTG menyebabkan hipertensi tetapi tidak menyebabkan perubahan dalam BPM. Hal ini terjadi karena mungkin jantung melakukan kompensasi dengan kondisi hipertensi. Selain itu juga mungkin ada faktor-faktor lain yang dialami SDR sebagai akibat pemberian DMTG yang mempengaruhi BPM, misalnya pengaruh saraf autonom jantung.

Model hewan coba SDR sangat baik untuk penelitian antioksidan dan histopatologi kelainan kardiovaskuler, tetapi karena masa bunting yang pendek, sekitar 21 hari, kemungkinan belum dapat menunjukkan kelainan fisik dengan pemberian diet makanan tinggi garam NaCl 6%. Ada perbedaan yang bermakna pada tensi sistolik dan diastolik antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. (Tabel 1) Pada penelitian ini DMTG menyebabkan kenaikan tekanan darah yang pada kelompok perlakuan melalui jalur kerusakan ginjal. Kerusakan ginjal dapat terjadi karena tekanan sistemik yang ditransmisikan ke dalam glomerulus sehingga menimbulkan jejas (*injury*) pada sel glomerulus. Kerusakan glomerulus akan menyebabkan dilepaskannya berbagai vasoaktif, akumulasi makromolekul, deposit lemak vaskular dan proliferasi sel serta penambahan matriks ekstraseluler yang akhirnya akan menjadi glomerulosklerosis. Kerusakan ini dapat berlanjut dengan kerusakan pada tubulus proksimal. Sel epitel tubulus proksimal yang mengalami disfungsi akan melepaskan vasoaktif dan sitokin pro-inflamsi ke dalam interstitium. Perubahan tersebut akan menyebabkan proliferasi fibroblast sehingga proses fibrogenesis menjadi teraktivasi, dan terjadi renal hipertensi.^{12,16,17,18}

Kardiovaskular hipertensi dapat terjadi karena elastisitas arteri-arteri berkurang karena kerusakan serabut-serabut elastin. Hal ini sesuai dengan perubahan gambaran histologik pada model tikus perlakuan. Kerusakan elastisitas tersebut jadi terbukti pada pemberian DMTG pada tikus perlakuan. Penemuan ini diharapkan dapat memberikan kontribusi mengenai penyebab terjadinya kardiomiopati peripartum.

Kardiomiopati peripartum penyakit otot jantung yang sebabnya belum jelas. Di samping gangguan elastisitas arteri, juga terjadi disfungsi sistolik dan diastolik, selain itu didapatkan rendahnya kadar se-

lenium ibu hamil. Selenium merupakan unsur pokok dari enzim antioksidan GPx yang pada penelitian ini GPx kelompok preterm secara bermakna lebih rendah dari kelompok a'term dari MTP yang diberi DMTG. Prevalensi kardiomiopati peripartum di USA diperkirakan 1 : 1300 - 15000 kehamilan, di Jepang 1 : 6000 kehamilan, di Haiti 1 : 350 - 400 kehamilan, di Indonesia sejauh ini belum ada di kepustakaan. Prevalensi yang tertinggi ada di Nigeria disebabkan oleh tradisi sesudah melahirkan untuk meminum garam sambil berjemur panas selama 40 hari setelah melahirkan. Mortalitas penyakit ini berkisar 7 - 50%, dan separuh dari kematian terjadi dalam 3 bulan post partum.^{12,19,20,21}

Markus et al²² meneliti pengobatan hipertensi kardiomiopati binatang coba tikus. Delapan ekor tikus SDR dengan strain gen hipertensi (renin 2nd) gene (TG(mREN2) 27 umur delapan minggu, MTP diberi pengobatan dengan captopril 100 mg/kg di makanannya dan diberi AT 1-Ra 10-1673 (Bay) di makanannya. Pada model kardiomiopati hipertensi ini, pengobatan dengan AT1-RA dan ACE ternyata sama-sama efektif secara bermakna, dapat mengurangi tekanan arteri, mencegah hipertrofi miokardium, dan disfungsi kontraktif diastolik. Menormalkan ekspresi gene sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-AT-Pase (SERCA 2a) dengan pengobatan dengan AT1-RA ataupun dengan ACE kemungkinan mempunyai kontribusi terhadap perbaikan fungsi diastolik.

Mekanisme lain renal hipertensi dapat melalui jalur endotel. Endotel adalah sel yang melapisi bagian dalam pembuluh darah termasuk kapiler glomerulus. Hipertensi akan menyebabkan tekanan pada dinding pembuluh darah (*wall tension*) dan meningkatkan tekanan aliran (*shear stress*) yang keduanya dapat menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel mempunyai kontribusi terhadap vasokonstriksi dan pertumbuhan sel yang abnormal melalui pelepasan vasodilatator dan vasokonstriktor yang tidak seimbang. Penurunan *nitric oxide* (NO) dalam urin pasien hipertensi membuktikan bahwa kerusakan endotel kapiler glomerulus juga terjadi akibat hipertensi. Disfungsi endotel juga dapat menyebabkan hipertensi, jadi disfungsi endotel dan hipertensi, kedua keadaan patologik ini dapat terjadi dari salah satu penyebab tersebut.^{23,24}

Dari hasil penelitian tekanan darah tampak *Beat Per Minute* (BMP) tidak ada perbedaan yang bermakna pada tensi sistolik maupun pada tensi diastolik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang memperlihatkan kelainan mitokondria pada otot jantung pada model tikus perlakuan. Kemungkinan curah jantung belum berkurang tetapi kepatuhan (*compliance*) dari ventrikel sudah berkurang karena

kerusakan di mitokondria terjadi lebih awal dari kerusakan baik di sel maupun di jaringan.

Pemberian DMTG terhadap Persalinan

Hasil penelitian menunjukkan persalinan preterm pada kelompok perlakuan sebesar 68% jauh lebih besar jika dibandingkan kelompok kontrol preterm hanya 33% (Tabel 3). Hal ini dapat disebabkan karena pemberian DMTG menyebabkan hipertensi dan stres oksidatif karena ada kerusakan di membran sel yang dibuktikan dengan tingginya nilai MDA di kelompok perlakuan preterm (1,25 nmol/ml protein lisat) dibandingkan dengan MDA di kelompok a'term (0,80 nmol/mmol protein lisat), dan perbedaan ini bermakna.

Pemberian DMTG terhadap GPx Darah

GPx darah pada SDR bunting kelompok perlakuan dalam penelitian ini meningkat tetapi tidak signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tetapi pada kelompok perlakuan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan preterm dan a'term. Pada kelompok perlakuan preterm, hasil pengukuran GPx lebih rendah dari pada kelompok perlakuan a'term (Gambar 6 dan Gambar 7). Hal ini menunjukkan ada indikasi timbulnya masalah stres oksidatif yang tinggi, yang didukung oleh hasil pengukuran MDA yang tinggi pada kelompok preterm dibandingkan dengan kelompok perlakuan a'term, dan perbedaan ini bermakna (Tabel 5).

Pemberian DMTG berpengaruh terhadap nilai GPx jaringan

Hasil penelitian membuktikan bahwa DMTG dapat menurunkan nilai GPx jaringan walaupun tidak bermakna (Tabel 6). Hal ini sesuai dengan keadaan stres oksidatif yang disebabkan oleh ROS. Pada kelompok perlakuan a'term, GPx jaringan lebih tinggi dari pada kelompok preterm, dan perbedaan ini mendekati bermakna dengan $p < 0,053$. Hal ini sesuai dengan keadaan stres oksidatif yang dapat menyebabkan terjadinya persalinan preterm, sedangkan pada kelompok perlakuan a'term, nilai GPx jaringan masih tinggi dan ini masih cukup untuk menjaga keseimbangan antara antioksidan dengan oksidan peroksida lipid (Gambar 6 dan Gambar 7).

Hasil Glutation Peroksidase (GPx) yang dikerjakan oleh Laboratorium Klinik Prodia menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan GPx yang bermakna antara model perlakuan dan kontrol, hanya ada perbedaan mendekati bermakna antara GPx jaringan otot jantung model hewan coba perlakuan dan kontrol. Demikian juga tidak ada perbedaan

bermakna tentang pertumbuhan berat badan dan tekanan darah. Hal ini kemungkinan besar karena ada kemampuan dari makhluk hidup untuk berkompensasi pada keadaan yang tidak baik sebelum terjadinya toksisitas yang nyata. Gutteridge²⁵ juga telah mengungkapkan hal tersebut. Hasil penelitian ini memperlihatkan ada kelainan pemeriksaan mitokondria dari model perlakuan.

Hal ini sesuai dengan pendapat Barton^{26,27} meskipun kelainan fisik belum tampak nyata, tetapi kelainan-kelainan intraseluler sudah dapat memberikan gejala-gejala yang belum diketahui dengan benar. Seperti pada kasus Barton ada eklampsia berat, dan dari hasil penelitian ini ada kelahiran "prematurn" pada kelompok perlakuan yang jauh lebih besar dari kelompok kontrol, yaitu sepuluh berbanding satu.

Pemberian DMTG dengan nilai MDA

Pada SDR bunting kelompok perlakuan, nilai MDA menurun tetapi tidak signifikan sedangkan antara kelompok perlakuan a'term dan preterm terdapat perbedaan yang bermakna. Nilai MDA pada kelompok perlakuan preterm lebih tinggi dari kelompok perlakuan a'term, dan perbedaan ini bermakna (Tabel 6). Pada SDR bunting kelompok kontrol dan perlakuan tidak terdapat perbedaan nilai MDA yang bermakna, ini memungkinkan karena MDA masih dapat diimbangi oleh antioksidan yang ada. Pada kelompok SDR bunting perlakuan, ternyata nilai MDA pada kelompok preterm lebih tinggi dari kelompok a'term, hal ini sesuai dengan ditemukannya angka kelahiran preterm yang tinggi yaitu hampir 68% (Gambar 8).

Pengaruh pemberian DMTG terhadap nilai GSH

Nilai GSH pada SDR bunting kelompok perlakuan lebih tinggi dari pada kelompok kontrol tetapi perbedaan ini tidak signifikan. Sedangkan pada kelompok perlakuan preterm dan a'term hampir sama jumlahnya. Hasil penelitian ini menunjukkan kemungkinan GSH diproduksi terus dari berbagai sel, dan masih cukup untuk mengatasi stres oksidatif yang ada.

Korelasi MDA dengan GSH

Hasil analisis korelasi antara MDA dan GSH menunjukkan terdapat korelasi positif, pada kelompok kontrol dan perlakuan (Tabel 14), dengan nilai $r = 0,417$. Ini berarti jika ada kerusakan membran sel, GSH juga meningkat untuk menjaga keseimbangan oksidan dan antioksidan. Jadi pada penelitian ini pemberian DMTG tidak menyebabkan penurunan GSH.

Pada kelompok perlakuan preterm dan a'term, terdapat korelasi yang positif antara MDA dengan GSH, pada kelompok perlakuan a'term terdapat korelasi positif yang kuat dengan $r = 0,878$. Pada kelompok perlakuan preterm terdapat korelasi positif tetapi tidak bermakna $r = 0,366$, hal ini karena kemungkinan antioksidan lain masih berfungsi. Jadi kalau ada peningkatan MDA, GSH juga meningkat, ini menunjukkan bahwa GSH siap menghadapi kerusakan membran sel (Gambar 9 dan Gambar 10).

Korelasi MDA dengan GPx darah

Pada SDR bunting kelompok kontrol dan perlakuan ($n = 28$) terdapat korelasi positif tetapi sangat lemah $r\text{-hit} = 0,126$. Pada SDR bunting kelompok perlakuan preterm ada korelasi positif mendekati kuat karena $r\text{-hit} = 0,580$ mendekati $r\text{-tab} = 0,602$. Pada kelompok perlakuan preterm terdapat korelasi positif yang kuat dan mendekati bermakna antara MDA dan GPx darah. Pada kelompok perlakuan ($n = 16$), antara MDA dan GPx darah terdapat korelasi negatif dan lemah. Ini berarti bahwa pada kondisi ini GPx darah masih dapat menjaga keseimbangan karena adanya kerusakan membran sel oleh peroksidasi lipid. (Tabel 14; Gambar 9 dan Gambar 10)

Korelasi MDA dan GPx jaringan

Pada SDR bunting kelompok kontrol dan perlakuan ($n = 28$) terdapat korelasi positif dan lemah. Sebaliknya, pada kelompok perlakuan preterm dan a'term terdapat korelasi negatif dan yang sangat lemah bahkan hampir tidak ada hubungan ($r\text{ hit} = -0,09$) pada kelompok perlakuan preterm. Hal ini menunjukkan bahwa GPx jaringan tidak berperan kuat untuk menetralkan MDA yang tinggi, sehingga jaringan jantung rentan dengan kerusakan membran sel karena peroksidasi lipid.

Pemberian DMTG dengan perubahan pada komponen darah

Pemeriksaan komponen darah memperlihatkan WBC dan monosit ada perbedaan bermakna antara model tikus perlakuan dan model tikus kontrol sedangkan parameter yang lain tidak ada perbedaan bermakna.

Banyaknya WBC dan monosit menunjukkan adanya tanda-tanda inflamasi dan kemungkinan mulai ada tanda-tanda kerusakan endotelium pembuluh darah. Jika WBC dan monosit sudah menembus endotelium pembuluh darah, akan ada adhesi dan monosit akan berubah menjadi makrofag sangat mungkin sudah terjadi FGF dan VEGF.

Hasil pemeriksaan darah yang menonjol adalah

adanya sel darah putih (WBC) dan monosit yang berbeda secara bermakna. Sel darah putih ini juga berkorelasi kuat dengan variabel-variabel yang lain. Dengan bertambah banyaknya sel darah putih kemungkinan ada gejala-gejala inflamasi, infeksi ataupun disfungsi endotel yang tidak terdeteksi secara dini sehingga kualitas kesehatan dapat berkurang tanpa disadari.

Pemberian DMTG menunjukkan nilai HCT pada SDR bunting kelompok perlakuan yang lebih tinggi dari pada kelompok kontrol, perbedaan ini sangat bermakna dengan $p = 0,004$. Komponen darah lainnya seperti WBC, NEU, RBC, MCV, MCHC dan PLT, terdapat perubahan tetapi tidak bermakna. Hematokrit pada kehamilan menjelang persalinan secara normal menurun untuk mengencerkan darah dalam sirkulasi, guna meringankan beban jantung. Pada MTP yang diberi DMTG hematokrit jauh lebih tinggi dari kontrol, hal ini kemungkinan karena ada gangguan di sistem kardiovaskuler sehingga darah lebih pekat dibandingkan dengan kontrol.

Pada perlakuan antara preterm dan a'term, terdapat peningkatan WBC pada kelompok a'term dan bermakna. Hal ini menunjukkan masih ada beban inflamasi dan stres oksidatif karena masih bunting. Komponen darah yang lainnya terdapat perubahan tetapi tidak signifikan. Perubahan leukosit merupakan salah satu gejala dari *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS). SIRS merusak pembuluh darah sel jantung dan dapat menyebabkan terminasi kehamilan, yang berupa keguguran atau kelahiran preterm.^{28,29,30,31}

Hasil Pemeriksaan Histopatologi

Hasil pemeriksaan histopatologi jaringan jantung induk dan jantung janin pada model perlakuan dan model kontrol didapatkan perbedaan. Baik pada jantung janin pada model perlakuan terdapat kelainan endotel derajat satu sampai derajat dua. Hal ini menunjukkan ada dampak dari diet makanan tinggi garam akan menyebabkan kelainan pada tingkat seluler. Kelainan tampaknya belum kelihatan manifest secara nyata pada kelainan fisik dan fisiologi. Hal ini masih perlu dibuktikan lebih lanjut, kalau terbukti ada kelainan perlu diketahui juga nilai ambang batas patologis. Kelainan struktur pada pembuluh arteri MTP perlakuan yang memperlihatkan gambaran kerusakan pada lapisan elastin. Penelitian ini menunjukkan bahwa DMTG dengan menimbulkan stres oksidatif dapat merusak susunan sel jantung maupun endothelium arteri jantung. Hal ini barangkali dapat membawa wacana baru dalam penanganan *respiratory distress syndrome* (RDS), *adult respiratory distress syndrome* (ARDS), kardio-

miopati dan *anti fosfolipid syndrome* (AFS), melalui jalur ROS dan stres oksidatif.

Pemberian DMTG pada model tikus penelitian ternyata menyebabkan perubahan yang nyata pada struktur sel otot jantung dan susunan endotelnya tidak reguler. Pada dinding arteri yang diberi DMTG, susunan endotelnya tidak reguler dan tampak tunika elastika yang putus. Pada arteri embrio dengan induk yang diberi DMTG tampak ada perubahan yang berupa endotel bengkak dan tunika elastika tidak utuh. Hal ini menunjukkan ada perubahan pada struktur yang berupa kerusakan endotel di pembuluh darah (Gambar 11).

Gambaran Histologik

Ada perubahan struktur endotel arteri maupun susunan sel otot jantung, baik pada induk maupun embrio model tikus penelitian. Meskipun derajat perubahan tersebut pada derajat I pada skala ringan-berat 0 sampai IV, namun hal ini sudah membuktikan ada perubahan patologik dini.

Gambaran ultrastruktur

Gambaran ultrastruktur sel otot jantung induk tikus kontrol, tampak mitokondria berbentuk bulat lonjong berukuran bervariasi, dan memiliki krista yang banyak dan densitas matriks yang pekat. Krista yang banyak mencerminkan aktivitas sel yang tinggi, sedangkan densitas matriks yang pekat menunjukkan terjadinya hasil akumulasi metabolisme.

Gambaran ultrastruktur endotel pada pembuluh darah di jantung induk tanpa perlakuan tampak permukaan endotel menghadap ke dalam lumen dan lumen licin sedangkan gambaran ultrastruktur endotel pada jantung induk yang diberi DMTG, tampak endotel bengkak dengan penonjolan sitoplasma yang menyebabkan penyempitan kapiler (Gambar 12 dan Gambar 13).

Gambaran ultrastruktur mitokondria sel otot jantung embrio model tikus perlakuan yang diberi DMTG. Mitokondria jumlahnya relatif lebih sedikit dan tersusun agak jauh satu dengan yang lain, selain itu ditemukan gambaran mitokondria yang abnormal (Gambar 13). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian DMTG pada induk perlakuan sudah dapat menunjukkan ada kelainan pada tingkat mitokondria di embrionya.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan di atas, dapat dibuat beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. DMTG menyebabkan kenaikan nilai peroksida lipid yang diukur secara kuantitatif dengan malondialdehida (MDA).
2. DMTG menyebabkan persalinan preterm sampai dengan 40% dan peroksida lipidnya tinggi.
3. DMTG dapat menyebabkan hipertensi pada model SDR yang bunting.
4. DMTG menyebabkan kenaikan nilai MDA jaringan jantung yang disertai dengan penurunan Glutathion Peroksidase (GPx).
5. GPx jaringan tidak berperan untuk menetralkan MDA pada jaringan jantung.
6. DMTG tidak menyebabkan perubahan denyut jantung pada model tikus penelitian.
7. DMTG tidak menyebabkan perubahan komponen darah tetapi menaikkan HCT dan WBC pada SDR bunting kelompok perlakuan.
8. DMTG menyebabkan perubahan yang nyata pada struktur otot jantung baik pada induk maupun embrio SDR bunting kelompok perlakuan.
9. DMTG menyebabkan kelainan endotelium pembuluh kapiler jantung.
10. DMTG menyebabkan kelainan struktur mitokondria pada sel jantung induk dan embrio, dan lebih kecil dari kasus kontrol (tanpa perlakuan).

Saran

Hasil penelitian ini dapat memberikan beberapa saran sebagai berikut:

1. Karena hasil penelitian ini DMTG menyebabkan kelainan-kelainan:
 - menyebabkan hipertensi,
 - menyebabkan stres oksidatif,
 - menyebabkan kerusakan membran sel,
 - menyebabkan kelainan pada endotel pembuluh darah, dan
 - menyebabkan kelainan mitokondria jantung, maka perlu penelitian pada ibu hamil mengenai asupan garam dari makanan, karena dapat menyebabkan radikal bebas, untuk mencegah hipertensi dalam kehamilan.
2. Perlu penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mencari faktor-faktor prognosis yang paling dominan agar supaya dapat dicegah penyakit tersebut secara dini dalam arti lebih hulu dalam tingkatan genetik dan molekuler.
3. Perlu penelitian tentang penggunaan antioksidan yang tepat-guna, untuk penanganan hipertensi pada kehamilan ataupun pada penyakit jantung koroner.

RUJUKAN

1. Swee A, Lacy F, DeLano FA, Schmid-Schonbein GW. Oxidative stress in the Dahl hypertensive rat. *Hypertension* 1997; 30: 1628-33.
2. Simon G, Jaeckel M, Ilyes J. Development of structural vascular changes in salt red rats. *American Journal of Hypertension (AJH)* 2003; 16: 488-93.
3. Meng S, Roberts II LJ, Cason GW, Curry TS, Manning Jr RD. Superoxide dismutase and oxidative stress in Dahl salt-sensitive Hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002; 283: 732-8.
4. Mckee T, Mckee JR. *Biochemistry an introduction*, 2nd ed. Boston: McGraw Hill, 1999: 316-33.
5. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74: 139-62.
6. Maxwell SR. Prospect the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1994; 49: 345-61.
7. Vaziri ND, Wang XQ, Oveisi F, Rad B. Induction of oxidative stress by glutathione depletion causes severe hypertension in normal rats.
8. Davidge ST, Hubel CA, Braden RD, Capeless EC, MCLAughlin MK. Sera antioxidants activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 897.
9. Chappel LC, Seed PT, Brikey AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt RJ et al. Effect of antioxidants on the occurrence of preeclampsia in women at increase risk: A randomized trial. *Lancet*: 1999; 254: 810.
10. Cunningham FG, Gilstrap III LC, Gant NF, Hauth JC, Wenstrom KD, Leveno KJ (eds). *Williams Obstetrics 21st Ed.* New York: McGraw Hill 2001: 591.
11. Sherwood L. *Human Physiology from cells to systems*. 4th ed. Belmont CA.: Thomsom Brooks/Cole 2004, 10: 379-81.
12. Saling E. *Foetal and neonatal hypoxia in relation to clinical obstetric practise*. London: Edward Arnold Publisher Ltd., 1996: 1-132.
13. Pepin CJ, Handberg EM. The vascular biology of hypertension and atherosclerosis and intervention with calcium antagonist and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Clin Cardiol.* 2001; 24 (Supl, V) VI - V5.
14. Hanafiah KA. *Rancangan percobaan, teori dan aplikasi*. Edisi revisi. Cetakan ke 7. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada; 2001.
15. Gorecka R, Kleczkowski M, Klucinski W, Kasztelan R, Sitariska E. Changes in antioxidant components in blood of mares during pregnancy and after foaling. *Bull. Vet. Inst Pulawy* 2002; 46: 301-5.
16. Prodjosudjadi W. *Perlindungan ginjal pada hipertensi*. Dalam: Setati S, Alwi I, Kolopaking MS, Sari NK, Chen K. *Prosiding simposium, Current Diagnosis and treatment in internal medicine 2004*. Jakarta: Pusat Informasi dan penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam, FKUI; 2004: 95-101.
17. Kaplan Nm. Renal parenchymal hypertension. In: Kaplan NM, editor. *Kaplan's Clinical hypertension*. Philadelphia: Lippincott Williams & Walkins, a Wolters Kluwer Company; 2002: 357-80.
18. Remuzzi G, Bertani T. Mechanisms of disease, Pathophysiology of progressive nephropathies. *N Engl N Med* 1998; 1448-56.
19. Siswanto BB. *Perkembangan terakhir tentang kardiomiopati peripartum*. Dalam: Harimurti Gm, Idhami, Karo SK, Soe-rianata S. eds. *Women's cardiovascular health: upstream to downstream v.v. 16th weekend course on cardiology 7-9 October 2004*.
20. Fet JD, Carraway RD, Perry H, Dowell DL. Emerging insight into peripartum cardiomyopathy. *J Health Popul Nutr* 2003; 21: 1-7.
21. Carsob M, Jacob DE, Sander GE, Talavera F, Sheridan FM, Suleman A, et al. *Peripartum cardiomyopathy uptodate (Electronic clinical references) 2004*. (www.uptodate.com)
22. Markus F, Frank S, Oliver Z, Yigal P, Peter SJ, Andreas K, et al. Angiotensin receptor antagonism and angiotensin converting enzyme inhibition improve diastolic dysfunction and Ca²⁺ATPase expression in the sarcoplasmic reticulum in hypertensive cardiomyopathy.
23. Higashi Y, Oshima T, Ozono R, Matsuura H, Kajiyama G. Aging and severity of hypertension attenuate endothelium-dependent renal vascular relaxation in humans. *Hypertension* 1997; 30: 252-8.
24. Rubanyi GM. Causes and consequences of endothelial dysfunction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1993; 22 (Suppl 4) S1-S4.
25. Gutteridge JMC. *Invited review free radicals in disease process: a compilation of cause and consequence*. *Free Rad Res Com* 1992; 19: 598-620.
26. Takeshita S, Zheng LP, Brogi E, Kearney M, Asahara T, Pu LQ, et al. Therapeutic angiogenesis: A single intra-arterial bolus of endothelial vascular growth factor augments revascularization in rabbit ischemic hindlimb model. *J Clin Invest* 1994; 93: 662-70.
27. Bauters C. Growth factors as a potential new treatment for ischemic heart disease. *Clin Cardiol.* Vol. 20 (Suppl II) 1997.
28. Sugshita Y, Shimizu T, Yao A, Kinugawa K, Nojiri T, Harada K, et al. Lipopolysaccharide augments expression and secretion of vascular endothelial growth factor in rat ventricular myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 68(2): 657-62.
29. Licinio J, Wong ML. Interleukin 1 receptor antagonist gene expression in rat pituitary in the systemic inflammatory response syndrome: pathophysiological implications. *Mol Psychiatry* 1997; 2: 99-103.
30. Abas AK, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and molecular immunology*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000.
31. Bayorh MA, Gabafa AA, Socc RR, Silvestrov N, Abukhalaf IK. The role of oxidative stress in salt-induced hypertension Rat. *American Journal of Hypertension (AJH)* 2004; 31-6.