

PENGARUH HIPEROKSIA SISTEMIK TERHADAP KADAR GLUTATION TEREDUKSI (GSH) DARAH DAN JANTUNG TIKUS SPRAGUE DAWLEY

Oleh:
Maria Christina Dwiyanti¹

ABSTRACT

Influence of Systemic Hyperoxia Against the Reduced Glutathione (GSH) Blood and heart Sprague Dawley Rats

Introduction : Hyperoxia is a state of oversupply of oxygen in tissues and organs that can increase reactive oxygen species (ROS) in the body. ROS which imbalance with antioxidants in the body will cause oxidative stress, which can trigger a variety of diseases. GSH (reduced glutathione) as one of the antioxidants that can be very useful to counteract oxidative stress.

Purpose : This research aims to know the effect of hyperoxia to the changes level of antioxidant blood as well as heart in mice that were conditioned into a state of hyperoxia.

Method : The mice were divided into five groups (n=6): control (normoxia) and hyperoxia (75% O₂, 25% N₂) with duration 1 day, 3 days, 7 days, 14 days. GSH level were calculated by using Ellman Method. Histopathology with H.E & PAS stain

Result : Increased blood levels of GSH in hyperoxia day 1 compare with control which further decline, the levels of GSH heart increased in hyperoxia day 1, day 3, and day 7 compare with control which further decline as well. There is no correlation between GSH blood and GSH heart with Pearson $r = -0,1604$. There are changes in histopathology such as cell hypertrophy and fibrosis.

Conclusion : At the end of the hyperoxia treatment (14 days), GSH levels in blood and heart of mice were decreased, and the remodeling of the cardiac structures. Have to do more research about hyperoxia with oxygen >75%, another oxidative stress marker, other state that affect GSH, and examination of oxidative stress.

Keyword : Hyperoxia, Glutathione, Reactive Oxygen Species, Heart, Blood, Remodeling

ABSTRAK

Pengaruh Hiperoksia Sistemik Terhadap Glutathion Tereeduksi (GSH) Darah Dan Jantung Tikus Sprague Dawley

Pendahuluan : Hiperoksia adalah keadaan kelebihan pasokan oksigen di jaringan dan organ yang dapat meningkatkan reaktif oksigen spesies (ROS) pada tubuh. ROS yang tidak seimbang dengan antioksidan didalam tubuh akan menyebabkan stress oksidatif, yang dapat memicu berbagai penyakit. GSH (Glutathion tereeduksi) merupakan salah satu antioksidan yang dapat membersihkan stress oksidatif tersebut.

Tujuan : Untuk mengetahui efek hiperoksia terhadap perubahan kadar antioksidan darah maupun jantung pada tikus yang dikondisikan kedalam keadaan hiperoksia.

Metode: Tikus dibagi menjadi 5 kelompok (n=6): kontrol (normoksia) dan hiperoksia (75% O₂, 25% N₂) dengan durasi 1 hari, 3 hari, 7 hari, 14 hari. Penghitungan kadar GSH dengan menggunakan metode Ellman. Histopatologi dengan pewarnaan H.E & PAS

Hasil: Kadar GSH darah meningkat pada hiperoksia 1 hari dibanding kontrol yang selanjutnya mengalami penurunan, kadar GSH jantung meningkat pada hiperoksia 1 hari, 3 hari, dan 7 hari dibanding kontrol yang selanjutnya mengalami penurunan pula.. Tidak ada korelasi antara GSH darah dengan GSH jantung dengan Pearson $r = -0,1604$. Terdapat perubahan histopatologi seperti hipertrofi sel dan fibrosis.

Kesimpulan & Saran: Hiperoksia mempengaruhi penurunan kadar GSH pada akhir perlakuan (14 hari) darah dan jantung tikus, serta remodeling dari struktur jantung. Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai hiperoksia dengan oksigen >75%, marker stress oksidatif lain, keadaan lain yang mempengaruhi GSH, dan pemeriksaan stress oksidatif langsung.

Kata-kata kunci: Hiperoksia, Glutation, Reaktif Oksigen Spesies, Jantung, Darah, Remodeling

PENDAHULUAN

Oksigen adalah salah satu substansi yang sangat dibutuhkan oleh makhluk hidup di seluruh muka bumi ini, khususnya untuk bernafas, beraktivitas dan yang lebih rinci lagi untuk melakukan proses metabolisme tubuh. Oksigen juga dapat membantu membentuk energi bagi tubuh agar dapat melakukan

aktivitasnya sehari-hari.¹

Hiperoksia adalah keadaan kelebihan pasokan oksigen di jaringan dan organ.² kadar oksigen dalam kehidupan sehari-hari yang digunakan untuk bernafas adalah 21%, jika kadar melebihi 21% bahkan mencapai 50% (pada terapi bayi prematur³), ada pula beberapa terapi medis yang menggunakan

¹ Maria Christina Dwiyanti
Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara
Prof.Dr.dr.Frans Ferdinal,M.S Dosen Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara Jl. S. Parman No. 1 Jakarta 11440

oksigen 100% (terapi cardiac arrest⁴), maka hal ini dapat dikatakan sebagai hiperoksia, yang mana dapat menyebabkan kerusakan, perubahan struktur serta fungsional organ bahkan kematian sel.^{3, 4, 5-6}

Pada saat terjadi hiperoksia, sebagaimana oksigen meningkat, yang pertamakali mempertahankan tubuh dari hiperoksia tersebut adalah antioksidan yang salah satu contohnya adalah Glutation, namun pertahanan antioksidan tubuh kewalahan dengan peningkatan produksi ROS dalam mitokondria, nukleus, sitosol, membran, dan kompartemen cairan ekstraseluler, sehingga kerusakan atau kematian sel pun tidak dapat dihindarkan.⁶ Peningkatan ROS ini akan semakin signifikan seiring dengan lamanya paparan hiperoksia serta tinggi kadar oksigen yang dihirup, semakin tinggi ROS yang ada di dalam tubuh maka stress oksidatif pun semakin tinggi dan semakin

banyak pula sel-sel yang rusak, hancur atau mati karenanya.⁷ ROS dapat terbentuk diberbagai sel organ yang salah satunya sel jantung melalui proses fosforilasi oksidatif mitokondria sebagai produk metabolisme sel yang normal, selain itu Xantin oksidase, NADPH oksidase, CYP P450, dan pelepasan sambungan NO sintase juga dapat menghasilkan ROS pada jantung⁸. Tubuh juga memiliki respon dalam mengompensasi hiperoksia berupa hipoventilasi serta memberikan efek resistensi pembuluh darah sistemik yang membuat jantung bekerja kurang optimal sehingga menimbulkan kesan adanya penurunan denyut dan curah jantung yang mana hal ini merupakan mekanisme kompensasi tubuh akut.⁹

Hiperoksia juga meningkatkan HIF (Hypoxia Induceble Factor)¹⁰. HIF merupakan heterodimer dari subunit α dan β , yang mana HIF-1 β selalu diproduksi secara konstan oleh sel. Namun pada

HIF-1 α , tetap diproduksi tetapi akan langsung terdegradasi dengan sendirinya dalam keadaan normoksia, yang mana proses degradasi ini membutuhkan enzim Prolyl hydroxylase (PHD)¹¹. Pada keadaan hiperoksia enzim PHD ini berkurang sehingga proses degradasi HIF-1 α pun terganggu, karena itulah hiperoksia meningkatkan HIF-1 α yang berlebih dalam tubuh¹⁰. Efek HIF-1 α itu sendiri antara lain mengaktifkan VEGF (Vascular endothelial growth factor) untuk angiogenesis, dan mensintesis EPO (eritropoetin) guna untuk eritropoiesis.

Glutation (GSH) adalah suatu tripeptida yang terdiri dari asam glutamat, sistein, dan glisin. Glutation merupakan mekanisme pertahanan penting terhadap senyawa toksik, karena glutacion dapat mengikat senyawa toksik sehingga senyawa toksik tersebut tidak berikatan secara kovalen dengan DNA, RNA atau protein sel yang dapat mencegah terjadinya kerusakan bahkan

kematian sel.¹² Glutation diproduksi oleh semua sel termasuk sel-sel otot jantung. Kekurangan glutacion pada jantung maupun sistemik memiliki hubungan dengan gagal jantung dan remodeling dari jantung yang merupakan mekanisme kompensasi tubuh kronik.¹¹

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental in vivo* yang menggunakan model hewan coba yaitu tikus Sprague dawley jantan berusia 8-12 minggu dengan berat berkisar 150-250 gram, yang didapatkan dari bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian telah mendapatkan keterangan lolos kaji ektik dari komisi ektik riset Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti dengan nomor 81/KER/FK/X/2015.

Penelitian ini menggunakan 6 ekor tikus setiap kelompoknya yang mana telah dihitung berdasarkan rumus besar sampel

menurut Federer¹³, tikus akan dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok perlakuan, kelompok pertama yaitu P1 akan dikonsidikan secara normoksia atau kontrol dengan oksigen 21%, serta 4 kelompok lainnya (P2-P5) akan di perlakuan secara hiperoksia dengan kadar oksigen 75%, masing-masing selama 1 hari, 3 hari, 7 hari, dan 14 hari dalam sungkup yang disebut dengan hyperoxic chamber. Sebelum di mulai perlakuan hiperoksia, tikus terlebih dahulu diadaptasi selama 2 - 3 hari untuk meminimalisasi hasil yang bias karena tikus dalam keadaan stres. Setelah adaptasi sebelum di masukan kedalam sungkup, tikus ditimbang terlebih dahulu. Selama perlakuan tikus diberi makan (pelet) dan minum, disamping itu setiap hari secara berkala sungkup dibersihkan, dan makanan serta minuman diganti. Selama sungkup dibersihkan (3-5 menit), tikus dipindahkan ke sungkup kecil

yang sudah dipersiapkan sebelumnya dalam kondisi hiperoksia. Pada akhir masa perlakuan satu persatu tikus dikeluarkan dari sungkup dan segera ditimbang, lalu kemudian tikus tersebut akan disacrificed dengan dianestesi terlebih dahulu menggunakan 40-80 mg/kgBB Ketamine yang dikombinasikan dengan 10-20 mg/kgBB Xylazine melalui injeksi intraperitonium. Setelah tikus dianestesi, tikus akan disacrificed lalu tikus dibedah pada mid-sternumnya untuk diambil organ jantung dan darahnya dari masing-masing tikus. Yang Kemudian dibuat homogenate dengan menambahkan PBS pada sampel dengan perbandingan sampel : PBS = 1 : 1 serta bertahap ambil sampel lalu dihaluskan menggunakan tissue grinder (Homogenizer). Setelah itu, homogenate yang telah dibuat disentrifuge menggunakan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk

memisahkan supernatan dengan pelet.

Kadar GSH diukur dengan menggunakan dithiobisnitrobenzoate (DTNB). Sebanyak 250 μ L homogenat supernatan jantung ditambahkan 8,9 mL 0,1 M larutan dapar fosfat pH 7,0. Kemudian 5% TCA ditambahkan untuk mengendapkan protein. Setelah disentrifuge, 50 μ L DTNB ditambahkan pada homogenat supernatan jantung dan di inkubasi selama 1 jam. Serapan warna kuning yang berasal dari TNB diukur pada gelombang λ 412 nm kemudian kadar glutation pada jantung dihitung dengan menggunakan standar GSH dengan kadar 0; 10; 20; 40; 50; 100 mg/mL. kadar GSH pada jaringan jantung dinyatakan dalam mg GSH/g protein jaringan jantung. Data dicatat dan dikumpulkan dalam bentuk laporan dan dilakukan Uji statistic dengan menggunakan perangkat lunak program statistic GraphPad Prism v.5.0

HASIL PENELITIAN

Analisa Gas Darah dan Hematologi

Pada gambar 1, jika dibandingkan dengan normoksia terlihat bahwa adanya peningkatan pO_2 yang bermakna pada tikus yang mengalami hiperoksia selama 1 hari, 3 hari, 7 hari, hingga 14 hari. Demikina pula dengan pCO_2 yang menunjukkan adanya peningkatan, namun pada perlakuan hiperoksia 1 hari hingga 3 hari belum menunjukkan peningkatan yang bermakna, peningkatan bermakna pCO_2 dapat dilihat pada perlakuan hiperoksia 7 hari dan 14 hari. Berbeda halnya dengan pO_2 dan pCO_2 , pH darah tikus yang dihiperoksia mengalami penurunan yang bermakna dalam perlakuan 1 hari hingga 14 hari. HCO_3 pada perlakuan hiperoksia 7 hari dan 14 hari menunjukkan peningkatan yang bermakna dibanding dengan normoksia. Hasil analisa gas darah yang terakhir adalah saturasi oksigen, yang mana pada gambar 1

menunjukkan penurunan saturasi oksigen yang bermakna jika dibandingkan dengan normoksia pada perlakuan hiperoksia 3 hari hingga 14 hari.

Sementara itu, hasil hematologi darah tikus yang mengalami hiperoksia menunjukkan penurunan hemoglobin yang bermakna pada perlakuan 1 hari hingga 14 hari. Sama dengan hemoglobin, hematokrit tikus yang mengalami hiperoksia mengalami penurunan

yang bermakna pada perlakuan 3 hari hingga 14 hari. Selain gambar 1 juga menunjukkan adanya penurunan sel darah merah yang bermakna pada perlakuan 1 hari hingga 14 hari.

KADAR GSH JANTUNG

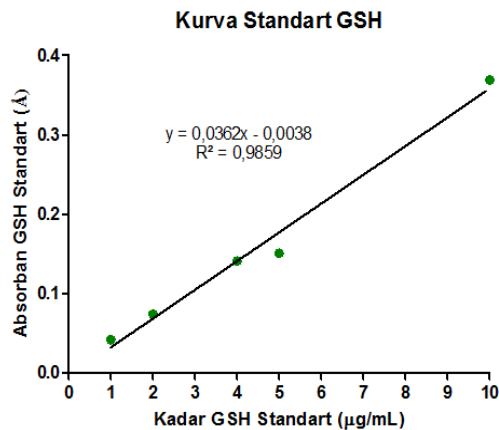
Data yang didapat untuk menghitung kadar GSH pada jantung berupa absorbansi dalam panjang gelombang λ 412 nm. Untuk mendapatkan kadar GSH

Gambar 1. Data Nilai Analisa Gas Darah dan Hematologi

Parameter	Normoksia	Hiperoksia			
		1 Hari	3 Hari	7 Hari	14 Hari
pO ₂ , mmHg	95,9 ±2,1	134,7 ±1,7*	173,8 ±1,7*	248,1 ±1,2*	412,3 ±1,1*
pCO ₂ , mmHg	35,5 ±1,2	36,2 ±1,1	37,7 ±1,5	39,6 ±0,8*	42,1 ±1,2*
pH	7,46 ±0,006	7,43 ±0,003*	7,40 ±0,004*	7,35 ±0,004*	7,00 ±0,005*
HCO ₃ , mmol/L	24,2 ±0,4	24,7 ±0,4	25,2 ±0,4	25,8 ±0,4*	26,8 ±0,3*
Saturasi O ₂ , %	94,7 ±0,6	93,6 ±0,7	92,2 ±0,5*	91,0 ±0,6*	88,6 ±0,8*
Hemoglobin, g/dL	12,0 ±0,12	11,2 ±0,08*	10,7 ±0,04*	9,5 ±0,07*	8,6 ±0,10*
Hematokrit, %	40,8 ±0,4	40,2 ±0,2	39,5 ±0,2*	38,9 ±0,3*	37,6 ±0,2*
SDM, μl/1000	6,2 ±0,1	5,9 ±0,07*	5,3 ±0,2*	4,9 ±0,2*	4,2 ±0,2*

Nilai rerata ± SEM, *perbedaan bermakna dibanding normoksia ($p < 0,05$, uji Mann-Whitney)

maka dapat digunakan rumus persamaan garis linear yang didapatkan dari kurva standart GSH (Gambar 2) yaitu $y=0,0362x-0,0038$



Gambar 2. Kurva Standart GSH

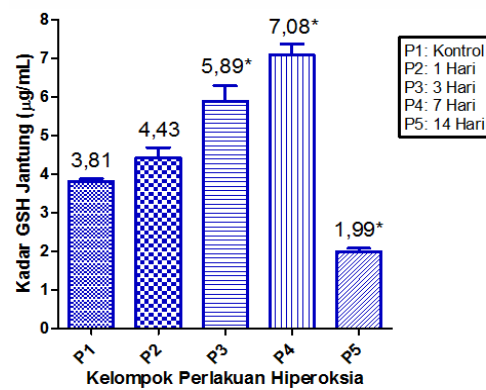
0,0038. Hasil perhitungan didapatkan dengan memasukkan nilai absorbansi pada variable y, dan kemudian mendapatkan hasilnya dari variable x yang menunjukkan jumlah kadar GSH Jantung yang dicari. Untuk lebih jelasnya, Gambar 3 ini menampilkan nilai rerata kadar GSH jantung sesuai dengan kelompok perlakuannya yang lalu akan diplot menjadi grafik pada gambar 4.

Pada grafik menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar GSH jantung pada perlakuan 1 hari hingga 7 hari. Peningkatan

bermakna dapat dilihat pada perlakuan 3 hari dan 7 hari. Sebaliknya, terlihat adanya penurunan bermakna kadar GSH pada perlakuan 14 hari.

Gambar 3. Rerata Kadar GSH Jantung

Kelompok Perlakuan	Kadar GSH Jantung (µg/mL)
P1	3,816
P2	4,431
P3	5,897
P4	7,089
P5	1,993



Gambar 4. Grafik Kadar GSH Jantung
Perbedaan bermakna dibanding normoksia ($p < 0,05$, uji Mann-Whitney)

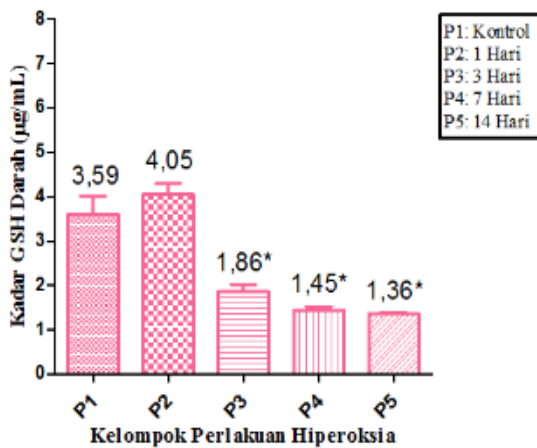
Kadar GSH Darah

Seperti yang diuraikan sebelumnya, kadar GSH darah juga dapat dihitung dengan menggunakan rumus persamaan garis linear yang didapat dari kurva standart GSH yang lalu dicatat dan dapat dilihat pada gambar 5, kemudian diplot kedalam grafik yang juga dapat dilihat pada gambar 6. Pada grafik

menunjukkan peningkatan kadar GSH darah pada perlakuan hiperoksia selama 1 hari, namun setelahnya yaitu perlakuan 7 hari hingga 14 hari terlihat terjadi

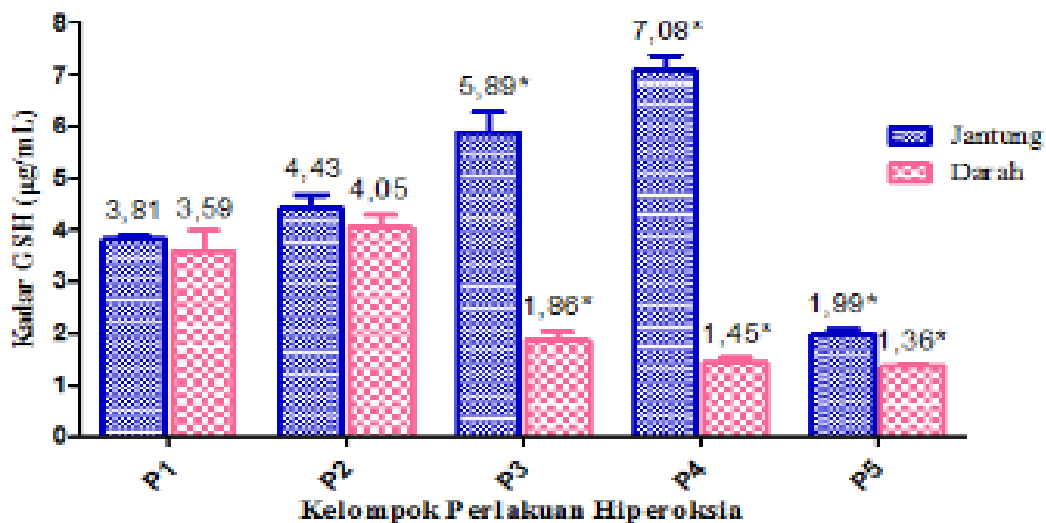
Gambar 5. Rerata Kadar GSH Darah

Kelompok Perlakuan	Kadar GSH Darah (µg/mL)
P1	3,595
P2	4,052
P3	1,866
P4	1,454
P5	1,367



Gambar 6. Grafik Kadar GSH Darah

*Perbedaan bermakna dibanding normoksia ($p < 0,05$, uji Mann-Whitney)



Gambar 7. Perbandingan Kadar GSH Jantung dan GSH Darah

penurunan jumlah kadar GSH darah.

Jika grafik kadar GSH Jantung dan GSH darah digabungkan sebagai perbandingan seperti yang ditampilkan pada gambar 7, terlihat bahwa pada perlakuan hiperoksia 1 hari kadar GSH darah maupun Jantung sama-sama mengalami peningkatan, tetapi pada perlakuan hiperoksia 3 hari dan 7 hari kadar GSH darah dan Jantung berjalan saling berlawanan, kadar GSH darah semakin menurun sedangkan kadar GSH Jantung semakin meningkat. Pada perlakuan hiperoksia 14 hari terlihat bahwa kadar GSH jantung menurun

drastis hingga kadarnya mendekati kadar GSH darah yang semakin lama semakin menurun dari perlakuan 1 hari, dan jika diperhatikan kadar GSH darah selalu lebih rendah dari kadar GSH Jantung.

PERUBAHAN MAKROSKOPIK JANTUNG

Pada gambar 8 masih dapat terlihat dinding ventrikel jantung tikus tanpa perlakuan atau kontrol yang normal, sedangkan pada gambar 9 sudah mulai dapat dilihat bahwa adanya hipertrofi dinding ventrikel pada jantung tikus yang telah mendapatkan perlakuan hiperoksia selama 14 hari jika dibandingkan dengan gambaran dinding ventrikel jantung tikus kontrol.

PERUBAHAN MIKROSKOPIK JANTUNG

Macam-macam perubahan mikroskopik jantung dapat dilihat pada gambar 10 hingga gambar

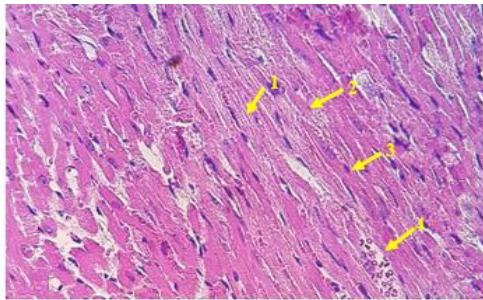
13 beserta dengan keterangannya, pada penelitian ini pewarnaan yang digunakan adalah pewarnaan H.E dan pewarnaan PAS dengan pembesaran masing-masingnya adalah 400x, gambaran mikroskopik pada penelitian ini membandingkan perubahan mikroskopik jantung tikus kontrol dengan jantung tikus perlakuan 14 hari, adapun berbagai perubahan mikroskopik ini menunjukkan adanya tanda remodeling jantung dan cenderung berujung pada gagal jantung.



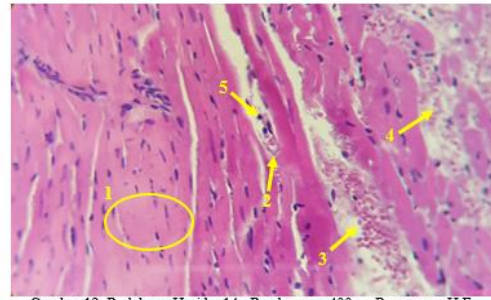
Gambar 8. Makroskopik Dinding Ventrikel Jantung Tanpa Perlakuan (Kontrol)



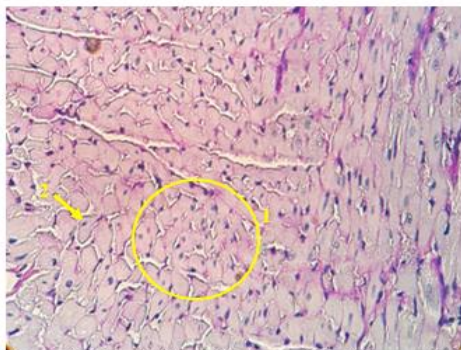
Gambar 9. Makroskopik dinding Ventrikel Jantung Perlakuan 14 Hari



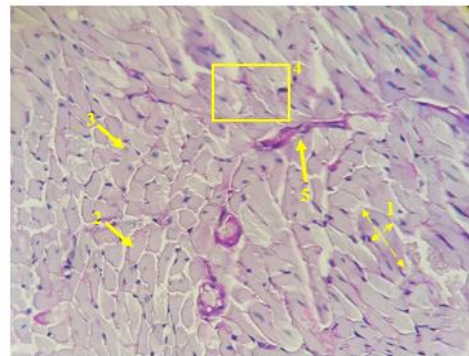
Gambar 10. Tanpa Perlakuan: Pembesaran 400x – Pewarnaan H.E.
Keterangan: Sel otot Jantung berukuran normal, garis-garis melintang tampak (1), diskus interkalaris tampak (2). Inti sel normal (3), pembuluh darah normal (4), tidak tampak angiogenesis, kongesti, atau fibrosis.



Gambar 12. Perlakuan Hari ke 14 : Pembesaran 400x – Pewarnaan H.E.
Keterangan: Garis-garis melintang tidak tampak dan diskus interkalaris tidak tampak (1), terdapat angiogenesis (2) serta kongesti (3), fokus perdarahan (4), dan tanda-tanda infiltrasi sel radang (5).



Gambar 11. Tanpa Perlakuan: Pembesaran 400x – Pewarnaan PAS
Keterangan: Ukuran Sel normal (1), inti sel jelas (2), tidak tampak degenerasi inti.



Gambar 13. Perlakuan Hari ke 14: Pembesaran 400x-Pewarnaan PAS.
Keterangan: terdapat sekumpulan sel yang mengalami hipertrofi (1), terdapat inti sel yang menghilang/degenerasi inti sel (2), terdapat perinuclear space (3), nekrosis (4), dan fibrosis (5).

PEMBAHASAN

Analisa Gas Darah dan Hematologi

pO_2 arteri tikus yang meningkat secara signifikan dan bermakna mulai dari hari perlakuan 1 hari hingga 14 hari jika dibandingkan dengan tikus tanpa perlakuan atau dalam keadaan normoksia menunjukkan tikus benar dalam keadaan hiperoksia.

Penurunan pH yang bermakna kemungkinan terjadi dikarena hiperoksia menyebabkan respon tubuh berupa hipoventilasi, sehingga menyebabkan CO_2 tidak dapat keluar dari tubuh sehingga kadar pCO_2 dalam tubuh meningkat dan menyebabkan suasana asam dalam darah, kadar pCO_2 yang meningkat ini juga telah didapatkan dalam penelitian Respon tubuh berupa hipoventilasi yang menyebabkan penimbunan CO_2 sehingga meningkatkan kadar pCO_2 ini juga dipaparkan dalam buku yang

berjudul *Comparative Aspects of Extracellular Acid-Base Balance*¹⁴ yang pada menyatakan hiperoksia membuat tubuh mengalami asidosis respiratorik. Namun, pada penelitian ini didapatkan pula HCO₃ yang meningkat bermakna yang merupakan mekanisme kompensasi tubuh dimana hal ini dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini hiperoksia menyebabkan asidosis respiratorik yang terkompensasi sebagian.

Pada tikus yang mengalami hiperoksia. terjadi penurunan yang bermakna pada ketiga parameter hematologi dalam penelitian ini yaitu kadar hemoglobin, hematokrit, dan sel darah merah. Penurunan kadar sel darah merah ini diduga karena hiperoksia menyebabkan proses peroksidasi lipid pada membran sel darah merah ini yang pada akhirnya menyebabkan hemolisis seperti yang dipaparkan dalam penelitian Charles E Mengel¹⁵, yang mana hemolisis membuat kadar hematokrit dan hemoglobin

juga menurun seiring dengan lisisnya sel darah merah.

Pada penelitian ini pula menyatakan bahwa terjadi penurunan saturasi oksigen yang bermakna pada perlakuan hiperoksia pada hari ke 3 hingga hari ke 14. Peneliti menduga penurunan saturasi oksigen ini berhubungan dengan penurunan kadar hemoglobin yang diakibatkan karena lisisnya sel darah merah.

Kadar GSH Darah dan Jantung

Peningkatan kadar GSH terhadap perlakuan hiperoksia moderate juga sempat dilaporkan oleh Rodney D Britt et al¹⁶, Adapula Victor Steiger et al¹⁷ yang menyatakan bahwa peningkatan kadar GSH pada perlakuan hiperoksia ini dikarenakan adanya peningkatan uptake dari Glutamic acid yang merupakan prekursor dalam pembentukan GSH.

Mengingat akan salah satu fungsi GSH adalah memecah H₂O₂ menjadi 2H₂O, kemungkinan

meningkatnya kadar GSH dalam penelitian ini adalah kecenderungan enzim Glutation Peroksidase yang tidak beraktivitas pada saat terjadi keadaan hiperoksia, penelitian Barja de Quiroga G et al¹⁸ menyatakan bahwa enzim Katalase lebih berperan dalam memecah H₂O₂ pada keadaan hiperoksia, pernyataan ini dapat dibenarkan dalam hasil penelitian ini serta hasil penelitian dari Febrinavega W¹⁹ yang mendapatkan hasil bahwa hiperoksia menyebabkan peningkatan aktivitas enzim Katalase pada perlakuan hiperoksia 1 hari hingga 7 hari.

Dalam penelitian ini, tidak didapatkan adanya hubungan korelasi secara statistik antara kadar GSH darah dengan kadar GSH Jantung dan kadar GSH darah dengan nilai Pearson $r = -0,1604$. Namun, kemungkinan ada korelasi secara teori terhadap kadar GSH darah dengan kadar GSH Jantung, yang mana kadar GSH darah selalu lebih rendah dari

kadar GSH Jantung yang diduga karena sebagian besar kadar GSH yang berada didalam darah berasal dari kebocoran sel. Keadaan kadar GSH darah yang selalu lebih rendah dari kadar GSH jaringan juga dilampirkan pada penelitian yang dilakukan oleh Thierry Malmezat et al²⁰.

Histopatologi Jantung

Gambaran makroskopik yang sedemikian rupa belum dapat menjelaskan perubahan-perubahan yang sebenarnya terjadi dalam jaringan Jantung itu sendiri. Gambaran histopatologi Jantung yang telah menerima perlakuan hiperoksia 14 hari dengan pewarnaan H.E tidak tampak adanya garis-garis melintang maupun diskus interkalaris yang disertai dengan batas antar sel yang tidak jelas, hal ini merupakan tanda-tanda dari nekrosis sel²¹. Disamping itu terdapat pula angiogenesis, penelitian S Zara²² tertulis bahwa hiperoksia dapat meningkatkan

HIF-1 α yang mana HIF-1 α ini dapat meningkatkan angiogenesis. Hiperoksia juga menyebabkan vasokonstriksi yang kemudian dapat menyebabkan iskemik, pada penelitian yang dilakukan oleh Yannick J H J Taverne et al²¹ keadaan iskemik terdapat ROS yang meningkat dan menyebabkan inflamasi pada otot jantung yang mana salah satu tandanya adalah infiltrasi sel radang pada sediaan histopatologi. Gambar histopatologi Jantung perlakuan 14 hari dengan pewarnaan PAS menunjukkan adanya sel-sel yang mengalami hipertrofi, yang mana pada penelitian K J Anderson⁹ mengatakan bahwa hiperoksia memiliki efek vasokonstriksi yang diikuti dengan resistensi pembuluh darah, resistensi pembuluh darah inilah yang membuat jantung berusaha mengkompensasi keadaan tersebut dengan cara memperbesar sel-sel ototnya sehingga terjadilah hipertrofi. Gambaran nekrosis juga dapat

ditemukan pada sediaan histopatologi dengan pewarnaan PAS ini, diikuti dengan degenasi inti yang merupakan tanda dari proses nekrosis. Yang menarik dari pewarnaan PAS ini adalah dapat melihat dengan jelasnya, bahwa terjadi fibrosis pada perlakuan hiperoksia ini dikarenakan banyak sel-sel yang rusak dan nekrosis yang belum sempat diregenerasi sehingga terbentuknya jaringan ikat fibrosis.

KESIMPULAN

- Pada akhir perlakuan (14 hari) tikus yang diinduksi hiperoksia sistemik didapatkan penurunan kadar glutathion tereduksi pada darah dan Jantung
- Pada akhir perlakuan (14 hari) tikus yang diinduksi hiperoksia sistemik didapatkan Peningkatan pO₂ yang cukup besar
- Pada akhir perlakuan (14 hari) tikus yang diinduksi hiperoksia

- sistemik didapatkan Perubahan histopatologi Jantung
- Tidak ada korelasi statistik antara kadar glutathion tereduksi pada darah dan Jantung
 - Dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai marker lain yang mungkin dipengaruhi oleh hiperoksia sistemik
 - Dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai keadaan lain yang mungkin mempengaruhi GSH

SARAN

- Dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai efek hiperoksia sistemik dengan kadar oksigen lebih dari 75%
- Dilakukannya penelitian mengenai pemeriksaan stres oksidatif langsung

DAFTAR PUSTAKA

1. Sherwood L. Fisiologi manusia. Edisi 6. Jakarta: EGC; 2011
2. Betteridge DJ. What is oxidative stress?. Pubmed. 2000. Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10693912>
3. W Tin, S Gupta. Optimun Oxygen Therapy in Preterm Babies. Arch Dis Child Fetal Neonatal. 2007. ed 2007. Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675464/>
4. Henlin T, Michalek P, Tyll T, Hinds J D, Dobias M. Oxygenation, Ventilation, and Airway Management in Out-Of-Hospital Cardiac Arrest : A Review. Hindawi. 2014. Volume 2014. Available from : <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/376871/>
5. Damy T, Kirsch M, Khouzami L, Caramelle P, Corvoisier P L, Roudot-Thoraval F, et al. Glutathione Deficiency in Cardiac Patients is Related to the Functional Status and Structural Cardiac Abnormalities. PLoS one. 2009. 4(3). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2655715/>
6. Jay B. Dean, Daniel K. Mulkey, Richard A. Henderson III, Stephanie J. Potter, Robert W. Putnam. Hyperoxia, Reactive Oxygen Species, and Hyperventilation: Oxygen Sensitivity of Brain Stem Neurons. Journal of Applied Physiology. February 2004. Vol. 96 no. 2. Available from : <http://jap.physiology.org/content/96/2/784#sec-3>
7. Brueckl C, Kaestle S, Kerem A, Habazettl H, Krombach F, Kuppe H, et al. Hyperoxia-Induced Reactive Oxygen Species Formation in Pulmonary

- Capillary Endothelial Cell In Situ. American Thoracic Society. 2006. Vol. 34, No.4. Available from:
<http://www.atsjournals.org/doi/full/10.1165/rcmb.2005-0223OC#.VexFYxGqqkp>
8. Giordano FJ. Oxygen, Oxidative Stress, Hypoxia, and Heart Failure. *J Clin Invest.* 2005; 115:500-8
 9. K. J. Anderson, J. M. Harten, M. G. Booth, C. Berry, A. McConnachie, A. C. Rankin, et al. The Cardiovascular Effects of Normobaric Hyperoxia in Patients With Heart Rate Fixed by Permanent Pacemaker. *Anaesthesia.* 2009. Vol 65. Available from : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2044.2009.06195.x/full>
 10. Sabine Van Huffel, Gunnar Naulaers, Alexander Caicedo, Duane F. Bruley, David K. Harrison. *Oxygen Transport To Tissue XXXV.* London: Springer; 2013
 11. Halliwell B, Gutteridge John M.C. *Free Radicals In Biology And Medicine.* 4th ed. Great Britain: Antony Rowe Ltd;2007.
 12. Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. *Biokimia harper* (27 ed.). Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2009
 13. Federer W. *Statistic and Society : Data Collection and Interpretation.* Second edition. New York: Marcel Dekker, 1991.
 14. Truchot JP. *Comparative Aspects of Extracellular Acid-Base Balance.* Berlin: Springer-Verlag; 1987.
 15. Mengel CE, Kann HE. Effects of In Vivo hyperoxia on Erythrocytes. III. In Vivo Peroxidation of Erythrocyte Lipid. *Journal of Clinical Investigation.* 1966. Vol.45, No.7. Available from:
<http://dm5migu4zj3pb.cloudfront.net/manuscripts/105000/105421/JCI66105421.pdf>
 16. Britt RD, Velten M, Rogers LK. Moderate Hyperoxia Treatment Increases Glutathione Levels During Direct LPS-induced Lung Injury in Mice. *The FASEB Journal.* 2012; 26:692.10. Available from:
http://www.fasebj.org/cgi/content/meeting_abstract/26/1_MeetingAbstracts/692.10
 17. Steiger V, Deneke SM, Fanburg BL. Effect of Hyperoxia on Glutathione Levels and Glutamic Acid Uptake in Endothelial Cells. *Pulmonary Division, New England Medical Center Hospitals, Boston, Massachusetts.* 1987. 63(5) : 1966-71. Available from:
http://www.researchgate.net/publication/20263936_Effect_of_hyperoxia_on_glutathione_levels_and_glutamic_acid_uptake_in_endothelial_cells
 18. G Quiroga B, P Gill, M Lopez-Torres. Physiological Significance of Catalase and Glutathione Peroxidases, and In Vivo Peroxidation, In Selected Tissues of The Toad *Discoglossus pictus* (Amphibia) During Acclimation to Normobaric Hyperoxia. *J Comp Physiol B.* 1988. 158(5):583-90. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3249021>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3249021>
 19. Wandy F. Pengaruh Hiperoksia Sistemik Kronik terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Katalase (EC 1.11.1.6) pada Darah dan Jantung Tikus Sprague Dawley. Universitas Tarumanagara. 2015.

20. Malmezat T, Breuille D, Capitan P, Mirand PP, Obled C. Glutathione Turnover Is Increased During The Acute Phase of Sepsis in Rats. *The Journal of Nutrition*. 2000. vol. 130 no. 5 1239-1246. Available from: <http://jn.nutrition.org/content/130/5/1239.full>
21. Taverne YJHJ. Bogers AJJC. Duncker DJ. Merkus D. Reactive oxygen Species and The Cardiovascular System. *Hindawi*. 2013. Vol 2013, Article ID 862423. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2013/862423/>
22. Zara S, Macchi V, Caro RD, Rapino M, Cataldi A, Porzionato A. pPKCa Mediated-HIF-1 α Activation Related to The Morphological Modifications Occuring In Neonatal Myocardial Tissue In Response To Severe and Mild Hyperoxia. *Eur J Histochem*. 2012. 56(1):e2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3352131/>