

J I M K I

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

The Journal Of The Indonesian Medical Student's Association



JIMKI | Volume I Edisi 2 | Januari – Juni 2013

Susunan Pengurus

Penasihat

Prof. dr. Saleha Sungkar, DAP&E, MS

Penanggungjawab

Yufi Aulia Azmi

Pemimpin Umum

Damar Susilaradeya

Pemimpin Redaksi

Dina Faizah

Redaktur Bagian

Felita Surya Rini

Tata Letak dan Ilustrasi

Rachel Maya

Keuangan

Denys Putra Alim

Promosi

Rifa Imaroh

Ni Nyoman Ayu Widyanti

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

*The Journal of the Indonesian Medical Student
Association*

Satu-satunya Jurnal Resmi Mahasiswa Kedokteran Indonesia

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia (JIMKI) atau *The Journal of the Indonesian Medical Student Association* diterbitkan oleh Badan Analisis dan Pengembangan Ilmiah (BAPIN) Ikatan Senat Mahasiswa Kedokteran Indonesia (ISMKI) per semester. JIMKI merupakan bagian dari Berkala Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Indonesia.

Jurnal ini merupakan jurnal resmi mahasiswa kedokteran Indonesia yang khusus memuat hasil karya tulis dan penelitian mahasiswa kedokteran se-Indonesia. Sistem redaksional yang digunakan adalah seleksi *peer-reviewer* dan redaktur. Selanjutnya, seluruh hasil karya ilmiah yang dikirim ke alamat redaksi akan dinilai oleh mitra bestari, yang merupakan para ahli di bidangnya masing-masing.

JIMKI memuat artikel **penelitian asli** yang berhubungan dengan dunia kedokteran dan kesehatan masyarakat, artikel **tinjauan pustaka**, **laporan kasus**, serta **editorial**. Tulisan merupakan tulisan asli (bukan plagiat) dan sesuai dengan kompetensi mahasiswa kedokteran.

JIMKI merupakan simbol kompetensi sekaligus sumbangsih mahasiswa kedokteran Indonesia bagi dunia kedokteran dan kesehatan masyarakat.

Pedoman Penulisan Artikel Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia (JIMKI)

The Journal of the Indonesian Medical Students' Association

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia (JIMKI) adalah publikasi per semester yang menggunakan sistem seleksi *peer-review* dan redaktur. Naskah yang diterima oleh redaksi, mendapat seleksi validitas oleh *peer-reviewer*, serta seleksi dan pengeditan oleh redaktur. JIMKI menerima artikel **penelitian asli** (*original article*) yang berhubungan dengan dunia kedokteran, kesehatan masyarakat, ilmu dasar kedokteran, baik penelitian klinis, laboratorium, maupun epidemiologi, artikel **tinjauan pustaka**, **laporan kasus**, **artikel penyegar ilmu kedokteran dan kesehatan**, **advertorial**, dan **editorial**. Tulisan merupakan tulisan asli, tidak plagiat, dan sesuai dengan kompetensi mahasiswa kedokteran.

Kriteria dan sistematika artikel

- 1. Penelitian asli:** hasil penelitian asli dalam ilmu kedokteran, kesehatan masyarakat, ilmu dasar kedokteran. Format terdiri dari judul penelitian, nama dan lembaga penulis, abstrak, pendahuluan, metode, hasil, diskusi, simpulan, saran, dan referensi.
- 2. Tinjauan pustaka:** tulisan artikel *review*/tinjauan terhadap suatu fenomena atau ilmu dalam dunia kedokteran dan kesehatan, ditulis dengan memperhatikan aspek aktual dan bermanfaat bagi pembaca. Format terdiri dari judul, nama dan lembaga penulis, abstrak, pendahuluan, teks (bagian isi), simpulan, saran, dan referensi.
- 3. Laporan kasus:** artikel tentang kasus yang menarik dan bermanfaat bagi pembaca. Artikel ini ditulis sesuai pemeriksaan, diagnosis, dan penatalaksanaan sesuai kompetensi dokter umum dan dokter muda. Format terdiri dari judul penelitian, nama dan lembaga penulis, pendahuluan, ilustrasi kasus, pembahasan kasus, dan simpulan.
- 4. Artikel penyegar ilmu kedokteran dan kesehatan:** artikel yang bersifat bebas ilmiah, mengangkat topik-topik yang menarik dalam dunia kedokteran atau kesehatan, bisa mengangkat topik yang masih menjadi suatu pro-kontra di dunia kedokteran, mampu memberikan nilai *human interest* karena sifat keilmiahannya, serta ditulis dengan baik. Artikel bersifat tinjauan serta mengingatkan pada hal-hal dasar atau klinis yang perlu diketahui oleh pembaca. Format penulisan seperti artikel tinjauan pustaka.
- 5. Advertorial:** artikel singkat mengenai obat atau kombinasi obat terbaru, beserta penelitian, dan kesimpulannya. Format penulisan seperti artikel tinjauan pustaka.

Petunjuk Bagi Penulis

1. JIMKI hanya memuat tulisan asli yang belum pernah diterbitkan pada jurnal lain.

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

Tulisan tersebut adalah hak milik penulis, tidak terikat pada lembaga manapun. Untuk menjamin hal ini, artikel yang diserahkan dilengkapi dengan Lembar Pernyataan Orisinalitas dan Persetujuan Publikasi dengan format terlampir.

2. Tidak ada batasan jumlah penulis.
Naskah diketik dalam bahasa Indonesia atau bahasa Inggris yang baik dan benar, jelas, lugas, serta ringkas. Naskah diketik di atas kertas A4 dengan dua (2) spasi, kecuali untuk abstrak satu (1) spasi. Naskah diketik menggunakan *font Times New Roman* ukuran 12. Naskah tidak diketikbolak-balik. Penomoran dimulai dari halaman judul diketik di tengah bawah. Batas atas, bawah, kiri dan kanan setiap halaman adalah 2.5 cm. Format pengetikan lain yang tidak tercakup pada poin ini, hendaknya dibuat dengan rapi dengan memperhatikan estetika.
3. Naskah terdiri dari minimal 3 halaman dan maksimal 15 halaman.
4. Naskah harus diketik dengan memakai program *Microsoft Word*. Naskah dikirim melalui email ke alamat **jimki_ina@yahoo.com** dengan menyertakan biodata singkat penulis (identitas diri, riwayat pendidikan, karya tulis sebelumnya yang dipublikasikan maupun yang tidak).
5. Penulis yang artikelnya diterima untuk dipublikasikan akan mendapat sertifikat.
6. Naskah yang pernah disajikan dalam bentuk presentasi oral ataupun poster pada pertemuan ilmiah nasional ataupun internasional dibuat keterangan berupa catatan kaki. Jika mendapat penghargaan, beri keterangan penghargaan tersebut.
7. Nama penulis yang dicantumkan paling banyak enam orang, dan bila lebih cukup diikuti dengan kata “dkk”. Nama penulis harus disertai dengan asal fakultas dan universitas penulis. Alamat korespondensi ditulis lengkap dengan nomor telepon dan email.
8. Abstrak harus dibuat dalam bahasa Inggris serta bahasa Indonesia. Panjang abstrak tidak melebihi 200 kata dan diletakkan setelah judul dan nama penulis.
9. Kata kunci (*key words*) yang menyertai abstrak ditulis dalam bahasa Inggris dan bahasa Indonesia. Kata kunci tidak lebih dari lima kata/frasa dan diurutkan berdasarkan abjad. Kata kunci diletakkan di bawah abstrak.
10. Kata asing yang belum diubah ke dalam bahasa Indonesia ditulis dengan huruf miring (*italic*).
11. Format tabel sesuai dengan format penulisan ilmiah, yakni hanya mengandung unsur garis horisontal. Nama tabel diletakkan di sebelah atas rata kiri, dengan **mencetak tebal kata “tabel”**. Nama tabel tidak perlu dicetak tebal. Huruf awal menggunakan huruf kapital. Ukuran tulisan penamaan tabel adalah 11. Contoh: **Tabel 1.** Karakteristik Responden.
12. Gambar tidak dikotaki. Nama gambar diletakkan di sebelah bawah gambar dengan **mencetak tebal kata “gambar”**. Nama gambar tidak perlu dicetak tebal. Ukuran tulisan penamaan gambar adalah 11 dan rata tengah. Contoh: **Gambar 1.** Patofisiologi Infark Miokardium.
13. Daftar rujukan disusun menurut sistem *Vancouver*, diberi nomor sesuai dengan urutan pemunculan dalam keseluruhan teks, bukan menurut abjad. Contoh cara penulisan adalah sebagai berikut.

1. Artikel dalam jurnal

i. Artikel standar

Vega Kj, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1;124(11):980-3.

atau

Vega Kj, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

Penulis lebih dari enam orang

Parkin Dm, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Freidl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br j Cancer* 1996;73:1006-12.

ii. Suatu organisasi sebagai penulis

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

iii. Tanpa nama penulis

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

iv. Artikel tidak dalam bahasa Inggris

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1996;116:41-2.

v. Volum dengan suplemen

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994;102 Suppl 1:275-82.

vi. Edisi dengan suplemen

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women`s psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 2):89-97.

vii. Volum dengan bagian

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 3):303-6.

viii. Edisi dengan bagian

Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap laceration of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1990;107(986 Pt 1):377-8.

ix. Edisi tanpa volum

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995;(320):110-4.

x. Tanpa edisi atau volum

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993;325-33.

xi. Nomor halaman dalam angka Romawi

Fischer GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr;9(2):xi-xii.

2. Buku dan monograf lain

i. Penulis perseorangan

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. Edisi ke-2. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

ii. Editor, sebagai penulis

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

iii. Organisasi dengan penulis

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

iv. Bab dalam buku

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

Philips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. Edisi ke-2. New York: Raven Press; 1995.hal.465-78.

v. Prosiding konferensi

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

vi. Makalah dalam konferensi

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical information. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992.hal.1561-5.

vii. Laporan ilmiah atau laporan teknis

1. Diterbitkan oleh badan penyanggah dana/sponsor:
Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspection; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOEI69200860.
2. Diterbitkan oleh unit pelaksana:
Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and education issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract no.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and research.

viii. Disertasi

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly/access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington univ.; 1995.

ix. Artikel dalam Koran

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21;Sect A:3 (col. 5).

x. Materi audiovisual

HIV + AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year book; 1995.

3. Materi elektronik

i. Artikel jurnal dalam format elektronik

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]:1(1):[24 screens]. Available from: URL: HYPERLINK <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>.

ii. Monograf dalam format elektronik

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. Edisi ke-2nd. Versi 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

iii. Arsip computer

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Versi 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

J I M K I | Vol. I Ed.2 | Januari – Juni 2013

Salam Pemimpin Umum

Salam sejahtera bagi kita semua,

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan YME karena dapat menerbitkan JIMKI kembali. Pada tahun ini, JIMKI memasuki tahun yang ke-5. Kini sebagai bagian dari BIMKES, JIMKI berusaha untuk tetap mempertahankan kualitasnya.

Mempublikasikan tulisan merupakan hak seorang mahasiswa. Mahasiswa dapat membagikan dan membanggakan hasil penelitiannya melalui tulisan yang dipublikasikan. Hasil penelitian akan bermanfaat jika dapat dibaca dan dimanfaatkan oleh orang lain guna membangun tubuh pengetahuan atau mengaplikasikannya secara langsung. Namun selain merupakan hak, publikasi juga merupakan kewajiban seorang mahasiswa. Oleh karena itu, seharusnya mahasiswa berlomba-lomba untuk menulis dan mempublikasikan penelitiannya.

Ke depan JIMKI berharap dapat meningkatkan kinerja dan kualitas. JIMKI juga berharap mahasiswa kedokteran dapat semakin terdorong untuk aktif meneliti, menulis dan mempublikasikan tulisannya. Sehingga pada akhirnya layanan kesehatan yang kita berikan dapat semakin meningkat.

Damar Susilaradeya
Pemimpin Umum Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

Daftar Isi

EDITORIAL

Gerakan Nasional Sadar Gizi pada Seribu Hari Pertama Kehidupan: Saatnya Memanfaatkan Teknologi *Mobile* dan Internet

Dina Faizah 1

PENELITIAN

The Correlation between Gestational Age and Stress Levelin Pregnant Women, in Ciracas Health Care Service, East Jakarta

AnggiaWidyasari, Elfikri Asril, Fahmi Rusnanta, Irene SintaFebriana,Susie Susilawati, Yuditiya Purwosunu 5

Potential Analysis of Cottonwood Parasite (*Dendrothoepentandra*) Stem Extract in Decreasingof Mutant P53 Protein Expression on Cervical Cancer Cell (HeLa Cells) in Vitro

Gamal, Efriko Septananda 11

Pengaruh Induksi *Cathepsin K* terhadap Pembentukan Imunoglobulin (IgG) Anti-*Cathepsin K*, Osteosit, dan Kadar *Alkaline Phosphatase* (ALP) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Betina Galur Wistar Pascaovariektomi

Francisco Wahyu Santoso, Arif Ismail, Oktavia Rahayu Adianingsih, Yurike Mandrasari 16

Chelating Effect of Water Extract of *Mangiferafoetida L.* Leaf inSerum of Thalassemia Patient by Ex Vivo Test

Dessy Framita Sari, Erni Hernawati Purwaningsih, Desak Gede Budi Krisnamurti 25

TINJAUAN PUSTAKA

PotensiX-Box Binding Protein (XBP1) dalam Meregulasi Stres Retikulum Endoplasma sebagai Pencegahan Diabetik Retinopati pada Penderita Diabetes MelitusTipe 2

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

Ayu Widyanti, Mien Dwi Cahyani, Dian Pratita Lestari 33

Potensi Teknologi *Microentrapment*-Hidrogel-2Metoksiestradiol (MEH-2ME) sebagai Supresor *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) dalam Upaya Preventif dan Kuratif Penanganan Preeklamsia

Felita Surya Rini, Putu Dian Pratita Lestari, I GstAgungDwiMahasurya 40

Analisis Potensi Curcumin Kunyit (*Curcuma longa*) Sebagai Agen Neuroprotektor, Antiinflamasi, dan Antioksidan: Inovasi Pengembangan Terapi yang Efektif pada Penderita Alzheimer

Surya Wijaya, MuthmainnahArifin 48

LAPORAN KASUS

Penatalaksanaan Kegawatdaruratan Gagal Jantung Kongestif secara Komprehensif pada Pasien Pediatri di Pelayanan Primer

Kevin Saputra, Felix Chikita Fredy 58

Gerakan Nasional Sadar Gizi pada Seribu Hari Pertama Kehidupan: Saatnya Memanfaatkan Teknologi *Mobile* dan Internet

Dina Faizah

Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Indonesia sebagai negara berkembang dihadapkan dengan persoalan beban ganda (*double burden*), di satu sisi masalah anak kurang gizi masih banyak terjadi, tetapi di sisi lain jumlah anak dengan obesitas juga kian meningkat. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang dilakukan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada 2010 menyebutkan ada 17,9% status gizi kurang pada anak usia di bawah lima tahun (balita), sementara ada 14% anak pada kelompok usia yang sama mengalami kegemukan. Di samping itu, dari 23 juta balita di Indonesia, 7,6 juta (35,6%) tergolong pendek (*stunting*).¹

Berbagai studi menunjukkan bahwa faktor penyebab terpenting tubuh pendek, kurus, obesitas, dan beberapa indikator kualitas hidup lainnya adalah gizi sejak konsepsi sampai anak usia dua tahun. Apabila dihitung dari sejak hari pertama kehamilan (270 hari), kelahiran bayi sampai anak usia dua tahun (730 hari), maka periode ini merupakan periode 1000 hari pertama kehidupan manusia. Periode ini telah dibuktikan secara ilmiah merupakan periode sensitif yang menentukan kualitas kehidupan karena akibat yang ditimbulkan terhadap bayi pada masa ini akan bersifat permanen dan tidak dapat dikoreksi. Dampak tersebut tidak hanya pada pertumbuhan fisik, tetapi juga perkembangan mental dan kecerdasannya, yang pada usia dewasa terlihat dari ukuran fisik yang tidak optimal dan kualitas kerja yang tidak

kompetitif hingga berakibat pada rendahnya produktivitas ekonomi.²

Sejak tahun 2010, upaya percepatan perbaikan gizi telah berkembang menjadi suatu gerakan gizi internasional yang luas dan dikenal sebagai gerakan *Scaling Up Nutrition* (SUN). Di Indonesia, gerakan ini disebut sebagai Gerakan Nasional Sadar Gizi pada Seribu Hari Pertama Kehidupan (1000 HPK).²

Masalah gizi pada 1000 HPK dapat dikelompokkan dalam tiga periode, yaitu masa kehamilan, 0-6 bulan, dan 6-24 bulan. Masalah gizi yang paling umum ditemui pada masa kehamilan berdasarkan Riskesdas 2010 adalah 44,2% ibu hamil di Indonesia mengalami defisiensi zat gizi makro dan mikro yang dapat menyebabkan kelainan dalam proses perkembangan janin, meningkatkan risiko angka kematian ibu dan bayi serta angka kejadian bayi dengan berat badan lahir rendah.^{1,3} Masalah gizi pada usia bayi 0-6 bulan yaitu praktik pemberian air susu ibu (ASI) eksklusif di Indonesia masih tergolong rendah (32%), sedangkan pemberian susu formula mencapai 28% (Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia/ SDKI, 2007). Adapun masalah gizi pada periode usia bayi 6-24 bulan yaitu pemberian makanan pendamping ASI (MP-ASI) sering tidak tepat dan tidak cukup, baik kualitas maupun kuantitasnya.⁴

Akar dari semua permasalahan tersebut adalah kurangnya pengetahuan ibu. Beberapa faktor yang mempengaruhi bayi tidak diberikan ASI eksklusif antara

lain dukungan keluarga khususnya suami, banyaknya ibu menyusui yang tidak dibekali pengetahuan yang cukup tentang teknik menyusui yang benar dan manajemen kesulitan laktasi (ASI tidak keluar, masalah payudara, bayi tidak mau, dan lain-lain), termasuk tantangan yang dihadapi oleh ibu bekerja.^{5,6} Untuk meningkatkan pengetahuan ibu tentang pemenuhan gizi seimbang pada 1000 HPK, diperlukan edukasi kesehatan.⁷

Edukasi Konvensional Kurang Efektif

Upaya yang telah dilakukan selama ini antara lain kebijakan pemerintah mengenai pemberian asupan nutrisi untuk ibu hamil dan menyusui, penyuluhan gizi yang dilakukan oleh petugas kesehatan ataupun lembaga swadaya masyarakat (LSM), serta informasi-informasi yang ada di media masa. Namun, metode-metode tersebut dianggap belum cukup efektif untuk memperbaiki perilaku keluarga dalam meningkatkan status gizi pada 1000 HPK dan terdapat banyak kendala seperti kurangnya pengetahuan dan keterampilan tenaga kesehatan (penyuluh) dalam memberikan edukasi gizi serta kurangnya jumlah tenaga kesehatan di daerah terpencil. Diperlukan metode edukasi kesehatan yang masif, interaktif, mudah dipahami, dan mudah diakses oleh masyarakat.^{8,9}

Beberapa studi menunjukkan bahwa pemanfaatan teknologi berbasis aplikasi *mobile* dan internet terbukti efektif dalam meningkatkan pengetahuan dan perilaku sadar gizi masyarakat, dibandingkan dengan metode konvensional seperti ceramah atau penyebaran brosur.⁸⁻¹⁰ Fahey *et al* (2008) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa edukasi berbasis *mobile* dan internet terbukti efektif dalam edukasi kesehatan mental anak-anak bagi para tenaga kesehatan di daerah terpencil.¹⁰ Begitupun penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati *et al* (2007) menyebutkan bahwa ada peningkatan pengetahuan, sikap, dan tindakan ibu tentang gizi setelah dilakukan

penyuluhan dengan media audio-visual (video).¹¹

Terkait dengan masalah gizi pada 1000 HPK, penelitian Morica (2012) menyimpulkan terdapat hubungan yang bermakna antara pengetahuan ibu dan sikap ibu dalam pemberian MP-ASI dengan status gizi balita, dan cara meningkatkan pengetahuan ibu yang paling efektif yaitu dapat dengan edukasi menggunakan multimedia.¹² Pengetahuan merupakan hasil dari tahu dan ini terjadi setelah orang melakukan penginderaan terhadap objek tertentu, sedangkan sikap merupakan reaksi atau respon yang masih tertutup dari seseorang terhadap suatu stimulan tau objek.⁷ Dengan multimedia yang disajikan dalam teknologi berbasis *mobile* dan internet, semakin banyak panca indera yang terstimulasi sehingga dapat memperbaiki perilaku sehat masyarakat.

Prospek Pengembangan Aplikasi berbasis *Mobile* dan Internet

Pemanfaatan teknologi berbasis aplikasi *mobile* dan internet memiliki prospek yang baik untuk diimplementasikan. Hal ini didukung oleh perkembangan siklus teknologi yang cepat serta peningkatan penetrasi telepon seluler dan internet sebesar 30% (Nielsen, 2010). Berdasarkan data APJII (2012), pengguna Internet di Indonesia bertambah menjadi sekitar 63 juta orang (24,23%) dari total populasi saat ini. Pengguna internet terbanyak saat ini masih berada di pulau Jawa, posisi kedua diikuti Pulau Sumatera, Sulawesi, Bali, dan Kalimantan. Pengguna terbanyak Internet berusia 12-34 tahun, yang mencapai 64 persen dari total pengguna.¹⁵ Kebanyakan pengguna mengakses internet menggunakan ponsel cerdas (65%) dan ini didorong dengan semakin banyaknya ponsel cerdas berharga murah sehingga jumlah pengguna ponsel cerdas di Indonesia terus meningkat.¹⁴

Akses internet yang dapat diterapkan dalam masyarakat, termasuk masyarakat di daerah perifer dapat berupa

mobile web maupun instalasi dengan *software* tertentu. Aplikasi berbasis *mobile* kini sedang sangat berkembang (dengan *platform* Android, iOS, Blackberry, dan Windows). Model ini memungkinkan penggunaannya untuk mendapatkan informasi mengenai cara pemenuhan gizi yang tepat pada 1000 HPK secara atraktif dan interaktif dalam bentuk multimedia (teks, gambar, animasi, dan video). Selain itu, dalam aplikasi ini juga terdapat layanan *reminder* yang bertujuan untuk memberikan informasi kesehatan maupun pengingat tanggal penting kepada pengguna sistem, seperti pengingat konsumsi rutin suplemen asam folat dan besi pada masa kehamilan, periksa kehamilan ke dokter kandungan, serta jadwal imunisasi bayi dan kunjungan ke posyandu atau dokter anak. Layanan *reminder* ini dapat sangat berguna khususnya bagi ibu yang bekerja. Dalam aplikasi berbasis *mobile* ini juga terdapat menu layanan konsultasi tidak langsung maupun konsultasi langsung.^{13,14}

Pemanfaatan teknologi *mobile* memungkinkan masyarakat dapat menikmati akses informasi kesehatan yang dibutuhkan dengan berbagai kemudahan yang disediakan tanpa terkendala jarak dan waktu. Terlebih data dari SDKI 2007 yang menggambarkan bahwa pusat layanan kesehatan primer dan jumlah tenaga dokter sebagai penyedia informasi dan layanan kesehatan belum cukup dan belum tersebar merata di berbagai daerah.⁴ Selain itu, kelebihan model edukasi ini dibandingkan metode edukasi kesehatan lainnya antara lain yaitu dapat disajikan dengan multimedia, dibawa kemana-mana, mencakup banyak orang, terdapat layanan *reminder* dan konsultasi, serta fiturnya dapat dikembangkan sesuai perkembangan teknologi dan kondisi sosial-ekonomi masyarakat.

Namun, implementasi teknologi *mobile* dalam edukasi gizi dan kesehatan sebagai sebuah strategi baru membutuhkan kerja sama dengan pemerintah dan pemangku kepentingan lainnya, baik dari

segi pelaksanaan maupun pembiayaan. Tanpa adanya kerja sama yang baik, model edukasi tersebut tidak akan dapat terlaksana dengan baik dan berkesinambungan. Untuk mengatasi hal ini, dapat dirumuskan strategi untuk mengadakan kerja sama yang dapat menguntungkan semua pihak.^{2,15} Selain itu, dibutuhkan program sosialisasi secara berkesinambungan yang dapat melingkupi seluruh lapisan masyarakat untuk mengatasi tingkat adaptasi masyarakat yang cenderung rendah terhadap kemajuan teknologi baru, terutama masyarakat menengah ke bawah dan masyarakat di daerah perifer.

Sebagai kesimpulan, pemanfaatan teknologi berbasis *mobile* dan internet akan membawa suatu akselerasi dalam perbaikan gizi di Indonesia, khususnya pada 1000 HPK yang merupakan periode sensitive tumbuh kembang anak. Melalui akses yang mudah terhadap informasi kesehatan, pengetahuan dan perilaku masyarakat akan pentingnya kesehatan dan pemenuhan gizi seimbang dapat dicapai dengan lebih efektif dan efisien.

Referensi

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Tahun 2010. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kemenkes RI; 2011.
2. Badan Perencanaan dan Pembangunan Nasional. Kerangka Kebijakan Gerakan Sadar Gizi dalam Rangka Seribu Hari Pertama Kehidupan (1000 HPK). Jakarta: Bappenas; 2012.
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Kinerja Kegiatan Pembinaan Gizi Tahun 2011: Menuju Perbaikan Gizi Perseorangan dan Masyarakat yang Bermutu. Jakarta: Direktorat Bina Gizi Kemenkes RI; 2012.

4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Peta Kesehatan Indonesia 2007. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Depkes RI; 2008.
5. Februhartanty J. Strategic Roles of Fathers in Optimizing Breastfeeding Practices: A Study in an Urban Setting of Jakarta. Jakarta: Faculty of Medicine University of Indonesia Postgraduate Program in Nutrition; 2008 [Summary of Dissertation].
6. Josefa KG. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Perilaku Pemberian ASI Eksklusif pada Ibu. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2011 [Skripsi].
7. Notoatmodjo S. Pendidikan dan Perilaku Kesehatan. Jakarta: Rineke Cipta; 2003.
8. Macko SA, Faulkner J, Hunt C, Schmitz R, Szuba TA. Teleducation: Opportunities for Expanding Educational Access in the Developing World through Real-Time Interactive Virtual Classes. *Geophysical Research Abstracts*. 2006;8:527-8.
9. Zulaekah S. Efektivitas Pendidikan Gizi dengan Media Booklet terhadap Pengetahuan Gizi Anak SD. *KEMAS*. 2012;7(2):121-8.
10. Fahey A, Day NA, Gelber H. Tele-education in child mental health for rural allied health workers. *J Telemed Telecare*. 2008;9(2):84-8.
11. Rahmawati I, Sudargo T, Paramastri I. Pengaruh Penyuluhan dengan Media Audio Visual Terhadap Peningkatan pengetahuan, Sikap, dan Perilaku Ibu Balita Gizi Kurang dan Buruk Dikabupaten kota Waringin Barat Propinsi Kalimantan Tengah. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*. 2007;4(2):69-77.
12. Morica L. Hubungan Pengetahuan, Sikap, dan Tindakan Ibu dalam Pemberian Makanan Pendamping ASI dengan Status Gizi Bayi Umur 7-12 Bulan di Kelurahan Tengah Sawah Bukittinggi 2012. Padang: Fakultas Kedokteran Universitas Andalas; 2012.
13. Saputro RR. Aplikasi Kamus Kesehatan Menggunakan Platform Andorid. Depok: Fakultas Ilmu Komputer dan Teknologi Informasi Universitas Gunadarma; 2012.
14. Asosiasi Penyelenggara Jasa Internet Indonesia. Pengguna Internet di Indonesia Terus Melonjak. Diunduh dari: <http://www.apji.or.id/v2/index.php>. Diakses pada 5 Maret 2013.
15. Nielsen Indonesia. Peningkatan Penetrasi Telepon Seluler di Indonesia Tahun 2010. Dinduh dari: www.nielsen.com/id.html. Diakses pada 1 Maret 2013.

The Correlation between Gestational Age and Stress Level in Pregnant Women, in Ciracas Health Care Service, East Jakarta

Anggia Widyasari*, Elfikri Asril*, Fahmi Rusnanta*, Irene Sinta Febriana*,
Susie Susilawati**, Yuditiya Purwosunu***

Faculty of Medicine Universitas Indonesia

Department of Obstetric and Gynecology Faculty of Medicine Universitas Indonesia

Correspondence: fahmirusnanta@yahoo.co.id

ABSTRACT

Stress is one of common problems that occurs easily in pregnant women. American College of Obstetrician and Gynecologist (ACOG) makes a recommendation regarding a routine screening assessing psychosocial stress during pregnancy. This study aims to know correlation between gestational age and stress level in pregnant women. Cross sectional design was used in this study and had taken 100 subjects selected by consecutive sampling. This study used questionnaire contained demographic data, obstetric history, and stress level refers to The Prenatal Psychosocial Profile Hassles Scale. The result of this study showed that that gestational age was significantly correlated with stress scores ($p=0,022$). It had a negative value which means increasing gestational age would reduce stress scores. However, the power possessed weak correlation ($R=-0,230$). Based on linear regression analysis, each increment of a week gestation reduced stress score as much as 0,053. Based on this study, gestational age was significantly correlated with stress level. The greater gestational age, the lower stress level. It is very important thing to do psychosocial stress screening during pregnancy, especially in first trimester.

Keywords: Gestational age, pregnancy, stress

ABSTRAK

Kehamilan merupakan masa yang rentan terjadi stres. *American College of Obstetrician and Gynecologist* (ACOG) mengeluarkan rekomendasi terkait skrining stres psikososial selama kehamilan. Tujuan studi ini untuk mengetahui hubungan antara usia gestasi dan tingkat stres pada ibu hamil. Studi ini menggunakan desain potong lintang dengan total sampel sebesar 100 subjek penelitian yang dipilih dengan teknik *consecutive sampling*. Data diambil dengan menggunakan metode kuesioner untuk menilai data demografik, riwayat obstetri, dan tingkat stres yang mengacu pada *The Prenatal Psychosocial Profile Hassles Scale*. Hasil studi menunjukkan terdapat korelasi bermakna antara usia gestasi dengan skor stres ($p=0,022$). Korelasi bersifat negatif yang berarti semakin bertambah usia gestasi maka skor stres akan berkurang, tetapi kekuatan korelasi yang dimiliki masih lemah ($R=-0,230$). Berdasarkan analisis regresi linier, setiap penambahan usia gestasi sebesar satu minggu akan menurunkan skor stres sebanyak 0,053. Studi ini menyimpulkan terdapat korelasi yang bermakna antara usia gestasi dengan tingkat stres. Korelasi tersebut memperlihatkan bahwa semakin bertambah usia gestasi akan menurunkan tingkat stres. Oleh karena itu, skrining stres psikososial selama kehamilan sangat diperlukan, terutama pada trimester pertama.

Kata kunci: Kehamilan, stres, usia gestasi

INTRODUCTION

Pregnancy is a period that is very vulnerable to stress and may cause psychiatric disorders. Department of Health and Human Services reported that 1 out of every 8 peoples would experience a depressive disorder and this number almost happened twice in

women.¹ Psychosocial stress during pregnancy is defined when a pregnant mother felt she could not meet the match requirement should be. These conditions can be seen both physically and psychologically. American College of Obstetrician and Gynecologist (ACOG) in 2006 expressed the opinion that psychosocial stress during pregnancy

could predict how big their concern for personal health, healthy controls, and the health of her children.² Di Pietro et al³, stated that the mother's emotional affected fetal development and birth outcomes. Negative emotions, such as maternal anxiety and persistent stress, cause decrease fetal heart rate variability, increase motor activities, and interfere fetal habituation. Changes in psychosocial stress also increase the risk of spontaneous abortion, pregnancy complications, lower gestational age, preterm delivery, and low birth weight.^{3,4} This is due to the disruption of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and increasing cortisol levels during pregnancy. All those changes lead to behavioral disorders. In addition, the stress factors also influence directly or indirectly to the cycle uteroplacental.⁴

Based on the above conditions, handling stress in pregnant women becomes a very important thing. One way to combat it is by early detection of stress experienced in pregnant women. ACOG provides recommendations to do psychosocial stress screening and other psychosocial issues to all pregnant women in each trimester and postpartum.² However, in Indonesia, antenatal care still does not involve psychosocial stress screening as one of the routine examination, as well as in Ciracas health care service (*Pusat Kesehatan Masyarakat Ciracas*), East Jakarta. Based on ACOG, gestational age becomes important in screening for psychosocial stress. According to Lobel et al⁵, there is a significant correlation between stress exposure at any gestational age and pregnancy outcome. However, it is not certain whether there is a correlation between gestational age and stress level. Therefore, we need a study to determine whether gestational age has a relationship in influencing psychosocial stress in pregnant women.

METHOD

This study used a cross-sectional design conducted on 25th and 28th February 2013 in Ciracas Health Center, East Jakarta. Target populations were all pregnant. Affordable populations were all pregnant women at Ciracas health care service, East Jakarta that was doing antenatal examination on 25th and 28th February 2013. Total research subjects were 100 subjects selected by consecutive sampling. Inclusion criterias for the study were pregnant women who were willing to fill out a questionnaire study. Drop out criterias were respondents with incomplete questionnaire data.

This study used a questionnaire to assess stress level in pregnant women. The assessment refers to the Prenatal Psychosocial Profile Hassles Scale.⁶ This questionnaire was used to assess the daily stress level during pregnancy. The questionnaire contained 11 questions to assess stress associated with aspects of daily life such as financial problems, family problems and marriage, work problems during pregnancy, and mobilization disturbances. In addition, as a baseline study, we asked demographic data and obstetric history of the subject.

Data displayed in numeric variables to see the correlation between gestational age and stress scores. The statistical analysis used Pearson statistical test. If it was not qualified, the test would be changed by Spearman statistical test.

RESULTS

Obtained total research subjects were 100 subjects. There was one subject who dropped out because of incomplete questionnaire data. Table 1 shows the distribution of demographic data subjects. The datas show that the characteristic of most research subjects are in the age between 20 to 35 years of age (84,8%). Last educational is dominated by senior high school graduate/equivalent (43,4%). Related social and economic conditions, most research subjects have income below IDR 1.000.000 monthly (48,5%). This is in

accordance with the type of work the subject is dominated by housewife/not working (85,9%).

Most of the subjects had experienced more than one pregnancy/multiparous (80,8%). Incidence of abortion was not commonly found in the most subjects (14,1%). The mean of gestational age of the subjects at the age of 28 weeks or had entered at third trimester. The average of stress score between nulliparous (15,42) and multiparous (15,21) is not too much different descriptively. We counted the stress score in each stress variable. The result showed

stress variables with the highest scores was a variable, namely the loss of a loved one. Stress variable questionnaire was based on questions from the Prenatal Psychosocial Profile.

There was a significant correlation between gestational age with stress scores ($p=0,022$). Strength of the correlation was weak (-0,230) with a negative direction, which means the greater the gestational age, the lower stress scores. Statistical test using Spearman test because it did not meet the requirements to do Pearson test.

Table 1. The demographic characteristic of subjects

Characteristic	Frequency	%
Age		
< 20years of age	3	3
20-35 years of age	84	84,8
> 35 years of age	12	12,1
Educational		
Not passing elementary school	2	2
Elementary school/equivalent	32	32,3
Junior high school/equivalent	15	15,2
Senior high school/equivalent	43	43,4
Diploma/Bachelor/Master/Doctoral	7	7,1
Income		
<IDR 1.000.000	48	48,5
IDR 1.000.001 – Rp 3.000.000	46	46,5
IDR 3.000.001 – Rp 5.000.000	3	3
>= IDR 5.000.001	2	2
Occupation		
Housewife/not working	85	85,9
Bureaucrat/government employee	2	2
Private sector employee	9	9,1
Others	3	3

Figure 1 showsthat the pattern of points spread between the mean of stress score and gestational age (in weeks) according to the negative correlation. It showsthat the greater gestational age, less the score stress in pregnant women.

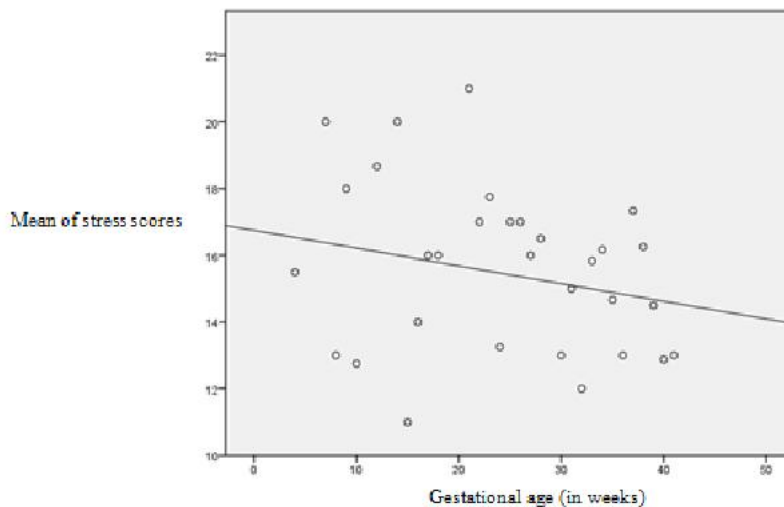


Figure 1. The pattern of points spread and line between gestational age and mean of stress score

Based on linear regression analysis, the correlation between gestational age in weeks with stress scores showed a negative correlation with the strength of a very weak ($R=0,149$). The higher the gestational age, the lower stress scores. Each increment of 1 weeks' gestation would reduce stress score as much as 0,053. However, the gestational age variable only explain as much as 2,2% of the variation in stress scores variable or gestational age variable was not too explain about stress score variable. Statistically, this correlation was not significant ($p=0,141$).

DISCUSSION

Table 1 shows that most of the subjects at the age between 20-35 years of age. Last educational is senior high school graduate/equivalent and followed by income under IDR 1.000.000 for a month. These results are in line with the dominant subjects who choose to be housewives or unemployed. Demographic conditions of subjects show that they experience during pregnancy are still at reproductive age. The process of pregnancy itself also supported by occupation that is not too much burden of pregnancy due to as a

housewife. However, the economic conditions are very important in supporting the process of pregnancy still seems to be a problem most of the subjects. The low income may be one of the triggering stress in pregnancy. According to Gavin et al⁷, poverty and low educational during pregnancy were linked with decreased fetal growth and lower gestational age. The possible mechanisms is due to altenating of immunoendocrinology and reproductive systems that increase the risk of preterm delivery and low birth weight.³⁻⁵

Most of subjects had more than one pregnancy or multiparous. These conditions are in accordance with the demographic distribution that shows the subject lies at the reproductive age. Descriptively, the average of stress score between nulliparous and multiparous groups are not too much different. These results are in line with the study conducted by Woods et al², stated that there was no significant difference in the mean of stress scores between nulliparous and multiparous groups ($p=0,385$). It could be because of stress exposure did not affect the pregnancy history. Woods et al², also

state that the previous history of pregnancy complications was not related to the emergence of psychosocial stress.

The results of the questionnaire stated that the variables most often create a feeling of stress in pregnant women was the loss of a loved one, while the lowest was the sexual, emotional, or physical violence. It meant that the subject was still in a favorable environment because of no one threatened her during pregnancy. However, the cause of stress is feeling the loss of a loved one needs to get further intervention. Family and community support is required very well when the subject is experiencing the symptoms of stress are difficult removed. It is still an opportunity for further study.

The results of statistical tests showed that there was a significant correlation between gestational age and stress scores. The correlation indicates that increasing gestational age will lower stress scores. Earlier gestational age will be vulnerable to get higher stress levels than the older gestational age. It is still unclear because of many factors influencing the occurrence of stress in early pregnancy. Nevertheless, the results of this study can complement the study conducted by Matton et al⁴, stated that stress exposure in pregnancy under 20 weeks of pregnancy leads to complications. The most complication was preterm delivery.⁴

Based on linear regression analysis, the correlation showed each increment of 1 weeks' gestation reduced stress score as much as 0,053. However, these results had a very weak correlation. The results were caused many confounding factors that affected stress levels during pregnancy. According to Dole et al⁸, showed that the influential factor of stress during pregnancy were low income and socioeconomic status.

CONCLUSION

Gestational age had a significant correlation with stress level during

pregnancy. The greater gestational age, the lower stress level in pregnant women.

RECOMMENDATION

Psychosocial stress screening should be a routine examination in antenatal care, especially in the first trimester. This study supports the recommendation from ACOG for psychosocial stress screening during pregnancy. Further study is needed to identify the stressors in early pregnancy.

REFERENCES

1. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap LC, Wenstrom KD. Williams obstetrics. 23rd edition. New York: Mc-Graw Hill Companies. 2010.
2. Woods SM, Melville JL, Guo Y, Fan MY, Gavin A. Psychosocial stress during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202:61.
3. DiPietro JA, Ghera MM, Costigan K, Hawkins M. Measuring the ups and downs of pregnancy stress. *J Psychosom Obstet Gynecol.* 2004;25:189-201.
4. Matton NR, Moutquin JM, Brown C, Carrier N, Bell L. The impact of perceived maternal stress and other psychosocial risk factor on pregnancy complications. *J Obstet Gynaecol Can.* 2011;33(4):344-52.
5. Lobel M, DeVincent C, Kaminer A, Meyer B. The impact of prenatal maternal stress and optimistic disposition on birth outcomes in medically high-risk women. *Health Psychol.* 2000;19:544-53.
6. Arabia DL. Asses the stres: identifying psychosocial risk to optimize perinatal outcomes in military gravids. Arizona State University. 2002.
7. Gavin AR, Nurius P, Greene PL. Mediators of adverse birth outcomes among socially disadvantaged women. *Journal of Women's Health.* 2012;21(6):634-42.

Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia

8. Dole N, Savitz DA, Siega-Riz AM, Hertz-Picciotto I, McMahon MJ, Buekens P. Psychosocial factors and preterm birth among African, American and white women in central North Carolina. *Am J Public Health*. 2004;94:1358-65.

Potential Analysis of Cottonwood Parasite (*Dendrophthoe pentandra*) Stem Extract in Decreasing of Mutant P53 Protein Expression on Cervical Cancer Cell (HeLa Cells) in Vitro

Gamal*, Efriko Septananda*

*Department of Biomedical Faculty of Medicine University of Brawijaya

Korespondensi: gamal_scientist@yahoo.co.id

ABSTRACT

Cervical cancer is the second most common type of cancer in women and the most common cause of mortality related cancer in developing countries. In 2005, cervical cancer leads to over 250,000 deaths in the world. Treatment in cancer are including surgery, chemotherapy and radiotherapy. Surgery can not be done for the metastasized cancer, while chemotherapy and radiotherapy treatment can cause various side effects. Cottonwood Parasite (*Dendrophthoe pentandra*) stem contains quercetin 39.8 mg/g. Quercetin acts as an anticancer on cell cycle regulation, interacts with estrogen receptor type II, inhibits tyrosine kinase enzymes, and suppresses the expression of mutant p53 protein. This research aims to know the effect of Cottonwood Parasite stem extract against mutant p53 expression on HeLa cell (cervical cancer). Cottonwood parasite stem is obtained from extraction and followed by evaporation with ethanol 70%. HeLa cells were divided into 4 groups: HeLa cells without treatment (A), HeLa cells treated with 25 µg/ml extract concentration (B), 50 µg/ml (C), 100 µg/ml (D). Immunocytochemistry method was performed using monoclonal antibody to mutant p53 to measure the expression of mutant p53 level as an indicator of apoptosis on HeLa cells, by examining the appearance of brown colour under light microscope on 1000x magnification. This results showed that cottonwoods Parasite stem extract was decrease mutant p53 protein expression in HeLa cells culture. Based on these facts, quersetin which are found mainly in the cottonwood parasite is likely to be developed as an anticancer drug that is promising in the future, either as agent chemoprevention or co-chemotherapy (companion agent of chemotherapy).

Keywords: Cottonwood parasite, cervical cancer, p53 mutant, quersetin

INTRODUCTION

Cervical cancer is the second most common type of cancer in women and the most common cause of mortality related to cancer in developing countries. It attacks 16 of 100,000 women per year and kills about 9 out of 100,000 women per year.¹ In 2005, cervical cancer leads over 250,000 deaths in the world and without adequate managements, it expected that the death rate will increase as much as 25% in the next 10 years.²

Conventional treatments in cancer are including surgery, chemotherapy, and radiotherapy. Therapeutic cancer surgery can not be done for the metastasized cancer, while chemotherapy and radiation treatment can cause various side effects.³

Cottonwood parasite (*Dendrophthoe pentandra*) stem contains quercetin 39.8 mg/g. Quercetin acts as an anticancer on cell cycle regulation, interacts with estrogen receptor (ER) type II, inhibits tyrosine kinase enzymes, and suppresses the expression of mutant p53 protein.⁴

METHOD

This study uses cervical cancer cell line (HeLa cells) which is cultured in the Laboratory of Biomedical, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. The extract from stem of cottonwood parasite is obtained from extraction and followed by evaporation with ethanol 70%. HeLa cells were divided into 4 groups: Negative

control group or HeLa cells without treatment, HeLa cells treated with 25 mg/ml extract concentration, HeLa cells treated with 50 mg/ml extract concentration, HeLa cells treated with 100 mg/ml extract concentration.

Once given the treatment, cell cultures were incubated for 24 hours. Then, cell cultures were fixed and then performed staining. Immunocytochemistry method was performed using monoclonal antibody to mutant p53 to measure the expression of p53 level as an indicator of apoptosis on HeLa cells, by examining the appearance of brown colour under light microscope on 1000x magnification. Immunocytochemistry staining is observed as brown spots in nuclear cell.

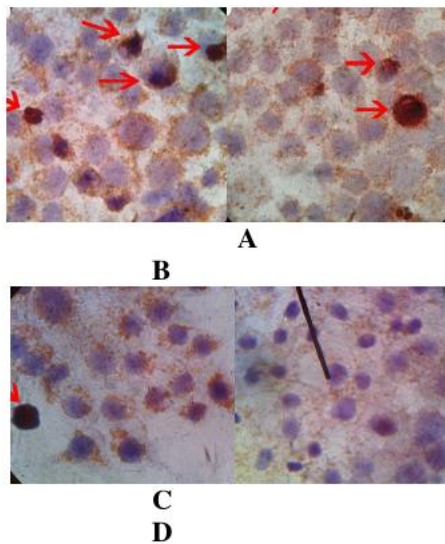


Figure 1. Immunocytochemistry staining was performed on mutant p53 protein. Mutant p53 protein expressions were decrease after incubated with parasite cottonwoods. Mutant p53 protein expression on normal HeLa cell or control (A); 25mg/ml parasite cottonwoods (B); 50mg/ml parasite cottonwoods (C); 100mg/ml parasite cottonwoods (D).

RESULTS

The calculation was done by counting the number of HeLa cells that express mutant p53 protein in each field of view. Each treatment was calculated as many as 20 field of view with 1000x magnification. The appearance of HeLa cells with mutant p53 protein will be seen as brown color on the nucleus. Whereas the normal HeLa cell will be blue-purple colour on the nucleus. The results of the calculation can be seen in the following table:

Table 1. Results of Immunocytochemistry

Treatment	Average (per 20 field of view)
Negative Control	86
25 mg/ml	67
50 mg/ml	58
100 mg/ml	47

From the table above, it can be seen the effect of cottonwood parasite stem extract on the number of HeLa cells showing the expression of mutant p53 protein. The effect can be seen in the difference of mutant p53 protein expression between the control group and the treatment group. The decrease of mutant p53 protein expression in the treated group increase perpendicularly with doses concentration from the extract.

Data Analysis

In calculating the results of this study used 95% confidence interval ($\alpha = 0.05$). Statistical data analysis using One-Way ANOVA because in this study the data used is ratio, which has one dependent variable and one independent variable with some groups with a single differentiating factor (concentration of cottonwood parasite stem extract). Subsequent analysis was done by Pearson correlation test to analyze the relationship between the extract of parasite cottonwood on the expression of mutant p53 protein in HeLa cell. After that, linear regression analysis

was done to analyze percentage of the effect of parasite cottonwoods extracts on the decline of mutant p53 protein expression

Analysis of One-Way Anova

Data analysis was performed with One-way Anova test using SPSS16.0 program for Windows. The analysis aims to determine the significant difference in parasite cottonwood stem extract between groups and to know concentration of parasite cottonwood stem extract which provide a significant difference in the decrease of expression of mutant p53 protein. Before One-way Anova test, data requirements test consists of normality test and homogeneity tests was carried out. Both of the tests must have a probability p value > 0.05 to be able to proceed in One-way Anova test. Shapiro-Wilk test was used in normality test with result is significant probability (p value > 0.05). This results indicate that the distribution of data is normal. Homogeneity test result probability p value > 0.05 which means that the variance of the data is normal. Because all of test results have significant value, it can proceed to one way Anova test. In this test, the p value = 0.000 (p < 0.05), so it can be concluded that "at least there are significantly differences in the expression of mutant p53 protein in HeLa cell between the two groups." Furthermore, *Post Hoc Multiple Comparison* (Tukey HSD) analysis was performed to determine the comparative differences between the treatment group and which groups have significant differences.

Table 1. Post Hoc Multiple Comparison Analysis

In the table above, differences value is significant if p value < 0.05. From the analysis, it can be concluded that :

1. There is no significant different between control and treatment doses of 25 mg/ml. The new difference value is significant at doses 50 and 100 mg/ml.

Comparison between treatment		Significance value	Conclusion
control	Doses 25	0,084	-
	doses 50	0,017	Significance
	doses 100	0,003	Significance
doses 25	Control	0,084	-
	doses 50	0,337	-
	doses 100	0,051	Significance
doses 50	Control	0,017	Significance
	doses 25	0,337	-
	doses 100	0,240	-
doses 100	Control	0,003	Significance
	doses 25	0,051	Significance
	doses 50	0,240	-

2. The insignificant difference between the doses of 25 mg/ml compared with a doses of 50 mg/ml. But there is a difference that approached significance (p=0.051) when compared with the doses of 100 mg/ml.
3. There is no significant different between doses of 50 mg/ml with doses of 100 mg/ml.

Pearson Correlation Test

To assess relationship between the extract of parasite cottonwood with mutant p53 protein expression in HeLa cell was performed Pearson correlation test. From these test, it is known that the Pearson correlation test have significance value 0.001 (p < 0.01), which means there is a significant relationship between parasite cottonwoods stem extract and the expression of mutant p53 protein. Value of Pearson correlation is -0.808. The correlation is negative, which means increasing dose of parasite cottonwood stem extract will cause further decline in the expression of mutant p53 protein (negative correlation).

Linear Regression Test

Linear regression analysis was performed to find out the magnitude effect of parasite cottonwood stem extract on the

decrease of mutant p53 protein expression. The results of the analysis was read in R square. These results are multiplied by 100% to turn it into a percentage. final results of the analysis is 69.4% which means parasite cottonwood stem extracts can give effect to the decrease of mutant p53 protein expression as much as 69.4%.

DISCUSSION

One of the causes of malignancy is the failure or inactivation of tumor suppressor gene p53. Tumor suppressor gene p53 is a recessive gene on short arm of chromosome 17 acting on the p53 wild-type allele and function to inhibits growth and differentiation of cells thus preventing the onset of cell transformation that leads to malignancy. If there is damage or mutation of the tumor suppressor gene p53 by genetic and environmental factors, unstable mutant p53 protein is formed and unable to inhibit growth from the G1 phase to S phase so that if there is any damage in the cells the damage can not be repaired. As the result, the damage cells continue to differentiate and initiate the process of malignancy in epithelial cells. These mutations tend to occur in the gene at codon 132 to 281. Mutations in the p53 protein is the most frequent genetic abnormalities occur in human cancer. In a study assessing correlation between mutant p53 protein expression with prognosis of cervical cancer, there was found the mutant p53 protein expression percentage of 47.8% on the total 399 cases.⁴

Parasite cottonwoods stem extract has a major content of flavonoid, that is quercetin. Parasite cottonwood has the highest composition of quercetin than other plant, i.e 39.8 mg/g. Quercetin was believed to have an important role in lowering the expression of mutant p53 protein. Physiologically, P53 protein is a pro-apoptotic proteins. However, more than 50% of cancers have mutations of this protein. These mutations make proteins unable to work properly and result in cell

proliferation continuously. According to Lamson, et al., quercetin, in certain concentrations, can suppress the expression of mutant p53 proteins are formed by breast cancer cells until undetectable in these cells.⁴ The mechanism is through inhibition at the gene that encodes mutant p53 protein. If this gene is inhibited, the production of mutant p53 protein will decline. Inhibition of the p53 protein expression caused the cells suspended in the G2-M phase of the cell cycle. In this phase there is examination of DNA damage (G2-M DNA damage checkpoint). This checkpoint make sure the cells not to initiate mitosis until DNA damage is repaired. Cells unable to repair after entering G2-M phase checkpoint will undergo apoptosis.⁵

Previous studies was conducted to determine the effects of quercetin in downregulating mutant p53 protein expression in breast cancer cell line. We repeated this study, but using a different cell-line cancers, called HeLa cells (cervical cancer). The results of the experiment can be seen in Table 1. From this table, it can be seen that, in average, the cell generally show a significant reduction of cells that express mutant p53 protein in the extract of parasite cottonwood stem. Any increase in doses of parasite cottonwood stem extract will decrease the expression of mutant p53 protein in HeLa cell.⁶

However, there are some results that showed no change between the control and treatment, such as between the control repetition 1 with a treatment of 25 mg/ml repetition 1. *Post Hoc Statistical Tests Multiple Comparison* (Tukey HSD) results there was no significant difference in the comparison control group with a treatment of 25 mg/ml. This not significant results also repeated in the comparison between the doses of 25 mg/ml to 50mg/ml doses, a doses of 50 mg/ml with a doses of 100 mg/ml. In average the cells number is decrease, but the statistical tests provide results which are less significant. The new

dose was significant in comparison with the control doses of 50 mg/ml and 100 mg/ml. In comparison between doses of 25 mg/ml with doses of 100 mg/ml, statistical tests showed the value approached significance ($p=0.051$, significant if $p < 0.05$). From these results, it can be concluded that the parasite cottonwood stem extract needs certain increase doses to be able to give meaningful effect in suppressing expression of mutant p53 proteins. Comparison of doses approached significance was between the doses of 25 mg/ml with a doses of 100 mg/ml, with increasing doses of 75mg/ml. Significant results come from a comparison of control with a doses of 100 mg/ml, with increasing doses of 100 mg/ml. From this data, it can be concluded that the doses of parasite cottonwoods stem extract will give significant effect on decline of expression of mutant p53 proteins at dose > 75 mg / ml.

The results of this study are almost similar to previous studies on breast cancer cells (MDA-MB 468). In this study, the suppression effect to mutant p53 protein was reach at a doses of 30 mg/ml. Increased concentrations of quercetin provides a dramatic effect, and cause the expression of mutant p53 protein to almost undetectable levels at doses of 75 mg / ml.

In the linear regression test, the analysis value is 0,694 or 69.4%. That's mean, the effect of parasite cottonwood stem extract to the decrease of mutant p53 protein expression in HeLa cells amounted to 69.4%. 20.6% are caused by other factors, such as temperature, humidity, durability of the cell, etc. However, 69.4% can be quite significant since parasite cottonwood stem extracts give effect more than 50%. However, further research is needed to assess the effectiveness of parasite cottonwood stem extracts and to determine an effective doses in humans.

CONCLUSION

This results showed that parasite cottonwoods stem extract were suppress mutant p53 protein expression in HeLa cells culture. Based on these facts, quersetin which are found mainly in the cottonwood parasite is likely to be developed as an anticancer drug, either as agent chemoprevention or co-chemotherapy (companion agent of chemotherapy). Moreover, it can increase the sensitivity of cancer cells to chemotherapy as well as reduce resistance and side effects. The development and cultivation of cottonwood parasites as well as further processing into product has properties necessary for optimal chemotherapeutic agents and also promising modality in the future.

REFERENCE

1. Xavier. Worldwide Human Papillomavirus Etiology of Cervical Adenocarcinoma and Its Cofactors: Implications for Screening and Prevention. *EMBO J*. 2006;3(13):3257-62. PMID 6396087.
2. Rasjidi, Imam. *Guideline of Gynecology Cancer Treatment*. Jakarta: EGC; 2007.p. 40-5.
3. Apantaku, L.M. Breast-conseving surgery for breast cancer. *Am. Fam. Physician*. 2002;66(12):2271-8.
4. Lamson, Davis W, MS, ND, and Brignall, Matthew S. ND. Antioxidants and cancer III: Quercetin, *Alternative Medicine Review Volume 5 Number 3*. 2000.
5. Kiu Hua-shing. Loranthoideae. In: Kiu Hua-shing & Ling Yeou-ruenn, eds., *Fl. Reipubl. Popularis Sin.* 2008.24: 87139.
6. Hawariah, A.L.P. *Kanker payudara*. Serdang: Universiti Putra Malaysia. 2008. p. 70-73

Pengaruh Induksi *Cathepsin K* terhadap Pembentukan Imunoglobulin (IgG) Anti-*Cathepsin K*, Osteosit, dan Kadar *Alkaline Phosphatase (ALP)* pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Betina Galur Wistar Pascaovarietomi

Fransisco Wahyu Santoso*, Arif Ismail*, Oktavia Rahayu Adianingsih**, Yurike Mandrasari*

*Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Korespondensi: oktavia.rahayu92@gmail.com

ABSTRAK

Osteoporosis adalah suatu "silent disease" yang dapat melemahkan tulang dan menyebabkan fraktur. Dua dari lima penduduk Indonesia berisiko terkena osteoporosis dan diperkirakan pada tahun 2025 angka tersebut meningkat tiga kali lipat. Saat ini telah ditemukan obat-obatan yang berfungsi sebagai inhibitor *cathepsin K* yang menunjukkan potensi besar dalam menurunkan tingkat osteoporosis. *Cathepsin K* berperan penting dalam destruksi jaringan, *remodelling*, dan merusak kartilago tulang. Penelitian ini ditujukan untuk membuktikan pengaruh pemberian kandidat vaksin berbasis dasar *cathepsin K* terhadap penurunan kecepatan resorpsi tulang pada tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diovariectomi. Tikus putih Wistar betina berusia 10-12 minggu dikelompokkan menjadi 5 kelompok: kontrol (-), kontrol (+) yang diovariectomi, kelompok perlakuan yang diovariectomi dan diberikan *cathepsin K* 50ng/200 µL, 100 ng /200 µL, dan 200 ng/200 µL. Pembedahan dilakukan pada hari ke-30 dan dilakukan pengukuran titer IgG anti-*cathepsin K*, penghitungan jumlah osteosit, dan pengukuran kadar ALP serum. Uji ANOVA menunjukkan bahwa pemberian kandidat vaksin *cathepsin K* yang ditambahkan dengan CFA-IFA secara bermakna meningkatkan titer IgG anti-*cathepsin K* dalam serum ($p=0,00$). Pemberian *cathepsin K* dosis 50ng/200 µL, 100 ng /200 µL, dan 200 ng/200 µL tidak mengurangi jumlah osteosit secara bermakna. Pemberian *cathepsin K* dosis 50ng/200 µL, 100 ng /200 µL, dan 200 ng/200 µL tidak meningkatkan ALP serum ($p>0,05$) secara bermakna. Kesimpulan penelitian adalah bahwa pemberian kandidat vaksin *cathepsin K* dapat meningkatkan titer IgG anti-*cathepsin K* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diovariectomi, tetapi tidak berpengaruh secara bermakna terhadap jumlah osteosit dan kadar ALP serum. Oleh karena itu, kandidat vaksin osteoporosis dengan bahan dasar *cathepsin K* masih perlu diteliti dan dikembangkan lebih lanjut.

Kata kunci: Osteoporosis, *cathepsin K*, IgG anti-*cathepsin K*, osteosit, ALP

ABSTRACT

Osteoporosis is a "silent disease" that can weaken bones and cause fractures. Two from five of Indonesia's population at risk of osteoporosis and it is estimated in 2025 that number will become tripled. It has been found a kind of drug, that serves as *cathepsin K* inhibitors, that shows great potential in reducing osteoporosis. *Cathepsin K* has an important role in tissue destruction, bone remodeling, and cartilage destruction. This study is aimed to verify the effect of the *cathepsin K* vaccine candidate to the decrease of bone resorption in *Rattus norvegicus* strain wistar post-ovariectomy. *Female Rattus norvegicus Strain Wistar* (age: 10-12 weeks) are divided into 5 groups: control (-), control (+) with ovariectomy, the treatment groups are ovariectomized and given *cathepsin K* 50 ng/200 µL, 100 ng /200 µL, and 200 ng/200 µL. Surgery perform on the 30th day and then IgG titers of anti-*cathepsin K* and ALP serum level are measured and the number of osteocytes is counted. ANOVA test shows that the administration of the vaccine candidate, *cathepsin K* that are added with CFA-IFA, is significantly increase the titers of IgG anti-*cathepsin K* in the serum ($p = 0.00$). The administration of *cathepsin K* 50 ng/200 µL, 100 ng /200 µL, and 200 ng/200 µL do not significantly reduce the number of osteocytes. The administration of *cathepsin K* 50 ng/200 µL, 100 ng / 200 µL, and 200 ng/200 µL do not increase the ALP serum levels ($p > 0.05$) significantly. The conclusion of the study is that the administration of the *cathepsin K* vaccine candidate can increase the IgG anti-*cathepsin K* titers in *Female Rattus norvegicus Strain Wistar Rats Post-ovariectomy*, but do not significantly affect the number of osteocytes and ALP serum levels. Therefore, the osteoporosis vaccine candidate with *cathepsin K* as a basic material still need to be researched and developed.

Keywords: Osteoporosis, *cathepsin K*, IgG anti-*cathepsin K*, osteocyte, ALP

PENDAHULUAN

Menopause adalah keadaan di mana ovarium telah kehilangan fungsi fisiologisnya dan dapat ditemui pada saat berakhirnya menstruasi selama 12 bulan berturut-turut tanpa alasan yang jelas. Menopause terjadi pada wanita yang berusia 47-53 tahun yang ditandai dengan menurunnya produksi estrogen dan progesteron, serta peningkatan *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) dan *Lutenizing Hormone* (LH). Menurunnya produksi estrogen pada wanita menopause menjadi salah satu faktor risiko terjadinya osteoporosis.¹

World Health Organization (WHO), menyebutkan bahwa osteoporosis adalah suatu keadaan di mana kondisi kepadatan tulang di bawah atau sama dengan standar deviasi 2,5 *Bone Mineral Density* (BMD). Osteoporosis merupakan “*silent disease*” yang dapat melemahkan tulang dan cenderung menyebabkan fraktur.² Di Indonesia, hasil analisa data risiko osteoporosis pada tahun 2005 dengan jumlah sampel 65.727 orang (22.799 laki-laki dan 42.928 perempuan) yang dilakukan oleh Puslitbang Gizi Depkes RI menunjukkan angka prevalensi osteopenia (osteoporosis dini) sebesar 41,7% dan prevalensi osteoporosis sebesar 10,3%. Ini menunjukkan 2 dari 5 penduduk Indonesia memiliki risiko untuk terkena osteoporosis, yakni 41,2% dari keseluruhan sampel yang berusia kurang dari 55 tahun terdeteksi menderita osteopenia. Fraktur tulang panggul merupakan konsekuensi tersering akibat osteoporosis. Dilaporkan pada tahun 1990, jumlah fraktur tulang panggul yang terjadi akibat osteoporosis mencapai angka 1,7 juta dan diestimasikan pada tahun 2025 angka tersebut meningkat tiga kali lipat.³

Terapi utama untuk penanganan osteoporosis karena menopause ini adalah dengan *Hormone Replacement Therapy* (HRT). Namun, terapi ini dapat meningkatkan risiko terjadinya berbagai macam penyakit seperti kanker payudara, penyakit jantung koroner, stroke dan

emboli paru.⁴ Dari beberapa kasus tersebut dapat disimpulkan bahwa solusi yang tepat untuk mengatasi osteoporosis belum memuaskan.

Osteoporosis ditandai dengan penurunan pembentukan tulang dengan peningkatan resorpsi tulang yang diperankan oleh osteoklas. *Cathepsin K* merupakan protein aktif terbanyak dan marker paling sensitif dalam proses resorpsi oleh osteoklas serta memiliki peran kunci dalam perusakan jaringan, *remodelling*, dan pemecahan kartilago tulang. Obat-obatan yang berfungsi sebagai inhibitor *cathepsin K* seperti *Odanacatib/MK0822* menunjukkan potensi yang sangat besar dalam menurunkan tingkat osteoporosis.⁵ Selain itu, menurut penelitian Drake dan kawan-kawan, enzim *cathepsin K* hanya diekspresikan oleh osteoklas.⁶ Paradigma vaksinasi saat ini hanya terbatas pada penyakit-penyakit infeksi saja, namun beberapa penelitian terkini menunjukkan bahwa pembentukan antibodi terhadap suatu target tertentu memiliki potensi yang besar sebagai strategi pencegahan penyakit-penyakit degeneratif. Dalam penelitian ini dibentuk desain pencegahan osteoporosis berbasis vaksinasi melalui induksi anti-*cathepsin K* pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) betina galur wistar pascaovarietomi.

METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu antigen *cathepsin K*, adjuvant (CFA-IFA), *deionized water*, ketamin, povidon iodine (*betadine solution*), alkohol 70%, basitrasin serbuk (Nebacetin), gentamisin injeksi, novalgine injeksi, PBS, BSA 1%, tween, Surblu TMB, antibodi *cathepsin K*, antibodi sekunder, *coating buffer*, HCL 1 N, eter, formalin 10%, asam format 8%, alkohol 30%, 50%, 70%, 80%, absolut 96%, aquades, larutan Harris Hemaktosilin, larutan Eosin (HE).

Subjek / Hewan Coba

Sampel penelitian adalah model tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar, berusia 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram. Tikus disimpan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *randomized post test only controlled group design*. Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan, maka jumlah hewan uji untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan menggunakan rumus $[(np-1) - (p-1)] \geq 16$, dengan n = jumlah pengulangan tiap perlakuan; p = jumlah perlakuan.⁷ Tikus dibagi menjadi 5 kelompok (5 tikus/kelompok). Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol negatif (tikus yang tidak diinduksi ovariektomi dan tanpa diberikan vaksinasi), kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif (tikus yang diinduksi ovariektomi dan tanpa diberikan vaksinasi), kelompok 3,4,5 merupakan kelompok tikus yang diinduksi ovariektomi dan diberikan vaksinasi dengan dosis yang berbeda-beda, yaitu vaksin antigen *cathepsin K* 50 ng, 100ng dan 200ng dengan penambahan adjuvant CFA-IFA 100 μ L/injeksi.

Perawatan Tikus

Tikus *Rattus norvegicus* dipelihara di kandang yang terbuat dari bak plastik dengan tutup kandang dibuat dari anyaman kawat. Sebelum dilakukan ovariektomi, tikus terlebih dahulu ditimbang dengan neraca Sartorius.

Induksi Ovariektomi

Tikus difiksasi dalam posisi supinasi, kemudian dilakukan anestesi menggunakan ketamin intramuskular (IM) dengan dosis 40 mg/kgBB. Bulu abdomen dicukur, lalu dilakukan desinfeksi dengan alkohol 70% dan larutan betadin. Setelah itu ditutup duk steril. Dilakukan insisi transabdominal kira-kira di atas uterus sepanjang 1,5-2 cm. Selanjutnya

oviduk bagian distal dan ovarium diligasi, kemudian oviduk dan ovarium diangkat. Luka potongan diberi basitrasin serbuk (Nebacetin). Prosedur yang sama dilakukan untuk ovarium kiri dan kanan. Luka insisi dijahit dengan catgut, kemudian diolesi povidon iodine dan Nebacetin, lalu ditutup kasa steril. Kemudian diberikan Gentamycin IM dengan dosis 60-80 mg/kgBB 1 kali per hari selama 3 hari dan Novalgine IM dengan dosis 0,3 ml selama 1 hari.⁷

Pembuatan Vaksin *Cathepsin K*

Konjugasi dan *coupling* protein karier dimulai dengan menambahkan 2 mg KLH yang terlyopilisasi ke dalam 200 μ l buffer konjugasi. Lalu larutkan 2 mg peptida atau haptan dalam 500 μ l dari *buffer* konjugasi tersebut. Kemudian tambahkan 500 μ l cairan peptida ke dalam 200 μ l cairan protein karier. Setelah itu larutkan 10 mg EDC dalam 1 ml deionized water dan segera tambahkan 50 μ l cairan ini ke dalam cairan peptida-karier.⁸

Injeksi Vaksin *Cathepsin K*

Vaksin diinjeksikan secara intraperitoneal (*cathepsin K* + CFA-IFA 100 μ L ip). CFA diberikan pada saat injeksi pertama, sedangkan IFA diinjeksikan sebagai *booster* setiap 2 minggu sekali sebanyak 2 kali *booster*.

Pengukuran Titer Antibodi Anti-*Cathepsin K*

Pengukuran titer antibodi anti-*cathepsin K* dengan ELISA. Antigen didilusi dalam *coating buffer* (50 μ L/well) (1:1), tutup *plate* dan inkubasi pada suhu 4°C semalam. Cuci *plate* 3x dengan PBS 50 μ L. Blok *protein-binding site* dalam *coated well* dengan menambahkan 50 μ L *blocking buffer*, 5% non fat dry milk atau 5% serum (BSA) dalam PBS untuk tiap *well*, tutup *plate* dengan plastik dan inkubasi 2 jam pada suhu ruang. Cuci *plate* dengan PBS-Tween 3x3 menit. Tambahkan 50 μ L serum (antibodi primer) untuk setiap *well*, tutup *plate* dengan

plastik dan inkubasi 2 jam pada suhu ruang. Cuci *plate* dengan PBS-Tween 3x3 menit. Tambahkan 50 μL antibodi sekunder terkonjugasi (*anti-mouse biotin conjugate*), tutup *plate* dengan plastik dan inkubasi 1-2 jam pada suhu ruang. Cuci *plate* dengan PBS-Tween 3x3 menit. Tambahkan enzim SA-HRP, inkubasi 1 jam pada suhu ruang. Tambahkan 50 μL *substrat solution* untuk tiap *well*. Setelah muncul warna, tambahkan 50 μL *stop solution* tiap *well*. Baca *optical density* dengan ELISA reader ($\lambda=450\text{nm}$).

Pengukuran Jumlah Osteosit

Tikus dieutanasia dengan menggunakan eter. Dilakukan pemotongan pada bagian *Proximal Tibial Metaphyses* (PTM), kemudian tulang PTM tikus dimasukkan ke dalam botol tertutup berisi formalin 10%.⁹Jaringan tulang dilakukan dekalsifikasi dengan cara direndam di dalam asam format 8%. Setelah lunak, tulang direndam dalam air mineral. Dilakukan dehidrasi dengan merendam pada alkohol bertingkat. Dilakukan *clearing* dengan xylol, kemudian dilakukan proses infiltrasi dengan parafin. Dilakukan *blocking* dengan parafin cair dingin, selanjutnya dilakukan pemotongan blok parafin dengan menggunakan mikrotom. Hasil sayatan blok parafin dipasang pada gelas obyek, dan kemudian dilakukan deparafinasi. Sampel yang telah dipotong diletakkan di atas gelas obyek. Kemudian dilakukan rehidrasi dengan alkohol bertingkat. Tetesi dengan Harris Hematoksilin, cuci dengan alkohol bertingkat. Tetesi dengan Eosin, cuci dengan alkohol bertingkat, bilas dengan akuades, keringkan. Kemudian bilas dengan air mengalir, keringkan. Tetesi dengan emelian dan tutup dengan *coverslip*.⁹Slide tulang hasil pemeriksaan HE diperiksa menggunakan program *Scan Dot Slide OlyVIA*. Kemudian jumlah osteosit dihitung dengan pembesaran 20x obyektif pada tiap slide dari masing-masing tikus sebanyak 20 lapang pandang kemudian dirata-rata.¹⁰

Pengukuran Kadar ALP

Pada saat dilakukan pembedahan, serum tikus diambil dengan menggunakan spuit 5 cc. Kemudian serum ditempatkan pada tabung eilenmayer yang telah diberi label sesuai perlakuan masing-masing. Kemudian serum dibawa ke Instalasi Laboratorium Sentral Patologi Klinik RSSA Malang. Kemudian kadar ALP diukur dengan menggunakan *autoanalyzer* spektrofotometri.

Analisis Statistik

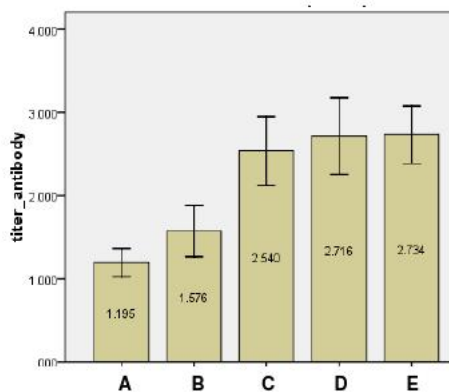
Hasil pengukuran tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 16,0 for Windows XP* dengan tingkat kebermaknaan 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Langkah-langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah uji normalitas data, uji homogenitas varian, uji *One-way ANOVA* dan *Post hoc test*.¹¹

HASIL

Hasil Pengukuran Titer anti-Cathepsin K (IgG) Serum dengan ELISA

Tabel 1. Titer anti-cathepsin K serum tikus

Kelompok	Rerata (SD) Titer Ab Cathepsin K
A. Kontrol (-)	1,195 (0,170)
B. Kontrol (+)	1,576 (0,309)
C. <i>Cathepsin K</i> 50 ng/200 μL + CFA-IFA 100 μL	2,540 (0,414)
D. <i>Cathepsin K</i> 100 ng/200 μL + CFA-IFA 100 μL	2,716 (0,460)
E. <i>Cathepsin K</i> 200 ng/200 μL + CFA-IFA 100 μL	2,734 (0,344)

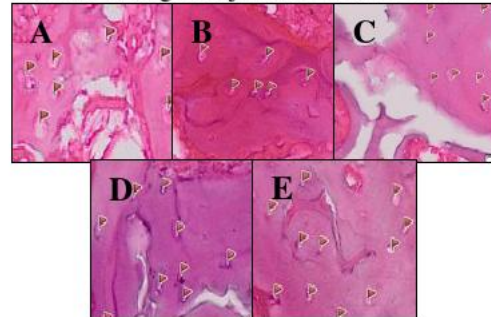


Gambar 1. Titer anti-*cathepsin K* serum tikus Tabel 1 dan Gambar 1 menunjukkan rerata titer antibodi anti-*cathepsin K* pada serum tikus yang diperiksa dengan ELISA. Dapat dilihat bahwa pada kelompok A (kontrol -) didapatkan rerata titer anti-*cathepsin K* adalah 1,195 dan SD 0,170. Pada kelompok B (kontrol +) yaitu kelompok tikus yang sudah diinduksi ovariektomi didapatkan rerata titer anti-*cathepsin K* adalah 1,576 dan SD 0,309. Dengan pemberian *cathepsin K* 50 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan C didapatkan peningkatan rerata titer anti-*cathepsin K* menjadi 2,540 dan SD 0,414. Kemudian dengan pemberian *cathepsin K* 100 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan D didapatkan peningkatan rerata titer anti-*cathepsin K* menjadi 2,716 dan SD 0,460. Sedangkan dengan pemberian *cathepsin K* 200 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan E didapatkan peningkatan rerata titer anti-*cathepsin K* menjadi 2,734 dan SD 0,344.

Uji ANOVA didapatkan nilai $p=0,00$ ($p<0,05$) antar kelompok. Uji *post hoc Tukey* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol (kelompok 1 dan 2) dengan kelompok perlakuan yang diberikan vaksin *cathepsin K* berbagai dosis (kelompok 3, 4 dan 5) ($p=0,00$). Perbedaan dosis pada kelompok 3, 4 dan 5 tidak menunjukkan perbedaan pengaruh yang bermakna ($p>0,05$).

Hasil Penghitungan Jumlah Osteosit dalam Matriks Tulang

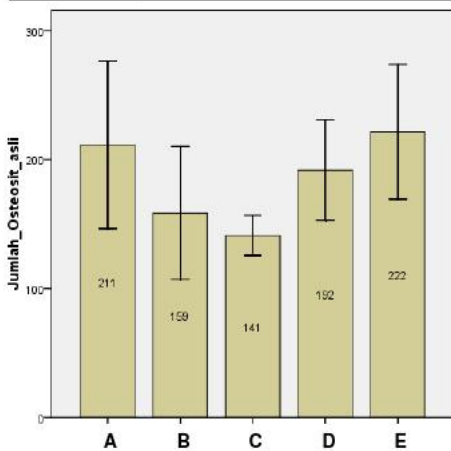
Pada pengecatan HE dan menggunakan program *Scan Dot Slide OlyVIA* dengan perbesaran 20x obyektif dapat dihitung jumlah osteosit dalam matriks tulang. Dapat dilihat bahwa pada kelompok A (kontrol -) didapatkan rerata jumlah osteosit dalam matriks tulang adalah 211 dan SD 64. Pada kelompok B (kontrol +) yaitu kelompok tikus yang sudah diinduksi ovariektomi didapatkan rerata jumlah osteosit dalam matriks tulang adalah 159 dan SD 51. Dengan pemberian *cathepsin K* 50 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan C didapatkan peningkatan rerata jumlah osteosit dalam matriks tulang menjadi 141 dan SD 15. Kemudian dengan pemberian *cathepsin K* 100 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan D didapatkan peningkatan rerata jumlah osteosit dalam matriks tulang menjadi 192 dan SD 39. Sedangkan dengan pemberian *cathepsin K* 200 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan E didapatkan peningkatan rerata jumlah osteosit dalam matriks tulang menjadi 222 dan SD 52.



Gambar 2. Osteosit dalam matriks tulang PTM yang dicat dengan pewarnaan HE menggunakan program *Scan Dot Slide OlyVIA* dengan perbesaran 20x obyektif. (A. Kontrol (-); B. Kontrol (+); C. *Cathepsin K* 50 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L; D. *Cathepsin K* 100 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L; E. *Cathepsin K* 200 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L)

Tabel 2. Jumlah osteosit dalam matriks tulang

Kelompok	Rerata (SD) Jumlah Osteosit
A. Kontrol (-)	211 (64)
B. Kontrol (+)	159 (51)
C. <i>Cathepsin K</i> 50 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L	141 (15)
D. <i>Cathepsin K</i> 100 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L	192 (39)
E. <i>Cathepsin K</i> 200 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L	222 (52)



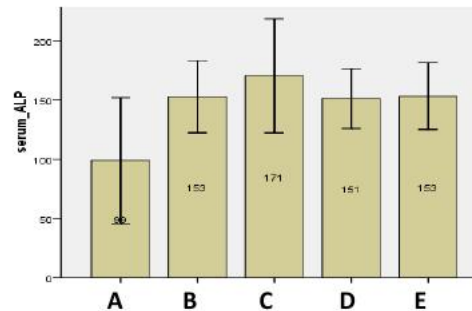
Gambar 3. Jumlah osteosit dalam matriks tulang

Uji ANOVA didapatkan nilai $p=0,230$ ($p>0,05$) pada data jumlah osteosit. Uji *post hoc Tukey* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok 1, 2, 3, 4, dan 5 ($p>0,05$). **Hasil pengukuran kadar ALP dalam serum tikus**

Tabel 3. Kadar ALP serum tikus

Kelompok	Rerata (SD) Kadar ALP Serum
A. Kontrol (-)	99,00 (53,25)
B. Kontrol (+)	153,00 (30,46)
C. <i>Cathepsin K</i> 50 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L	170,60 (48,12)
D. <i>Cathepsin K</i> 100 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L	151,40 (25,38)

E. <i>Cathepsin K</i> 200 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L	153,40 (28,15)
--	----------------



Gambar 4. Kadar ALP serum

Dari tabel 3 dan gambar 4 dapat dilihat bahwa pada kelompok A (kontrol -) didapatkan rerata kadar ALP dalam serum tikus 99,00 dan SD 53,25. Pada kelompok B (kontrol +), tikus yang sudah dilakukan ovariektomi, didapatkan rerata kadar ALP serum 153,00 dan SD 30,46. Dengan pemberian *cathepsin K* 50 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan C didapatkan peningkatan rerata kadar ALP serum 170,60 dan SD 48,12. Kemudian dengan pemberian *cathepsin K* 100 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan D didapatkan penurunan rerata kadar ALP serum menjadi 151,40 dan SD 25,38. Sedangkan dengan pemberian *cathepsin K* 200 ng/200 μ L + CFA-IFA 100 μ L pada kelompok perlakuan E didapatkan rerata kadar ALP serum menjadi 153,40 dan SD 28,15.

Uji ANOVA didapatkan nilai $p=0,080$ ($p>0,05$) pada data kadar ALP. Uji *post hoc Tukey* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok 1, 2, 3, 4, dan 5 ($p>0,05$).

PEMBAHASAN

Efektifitas Pemberian Kandidat Vaksin *Cathepsin-K* dalam Menginduksi Terbentuknya IgG Anti-*Cathepsin K*

Pada penelitian ini, pemberian *cathepsin K* yang ditambahkan dengan CFA-IFA dapat meningkatkan ekspresi anti-*cathepsin K* secara bermakna ($p=0,000$). Hasil penelitian ini

membuktikan bahwa *cathepsin K* yang ditambahkan dengan CFA-IFA direspons oleh sel T CD4⁺ yang kemudian menginduksi terbentuknya antibodi spesifik terhadap *cathepsin K*. Pemberian dosis *cathepsin K* 50 ng/200 µL, 100 ng/200 µL maupun 200 ng/200 µL tidak menimbulkan perbedaan yang bermakna, hal ini mungkin dikarenakan respons imun berupa sekresi antibodi tidak bergantung pada dosis. Dosis dalam batas tertentu mampu menginduksi terbentuknya antibodi, namun jika dosis terlalu besar ataupun terlalu kecil justru akan menimbulkan kondisi *immunotolerance*. Adjuvan adalah suatu bahan vaksin yang digunakan untuk menjaga integritas antigen, meningkatkan respons imun terhadap antigen, dan mencegah terjadinya toleransi terhadap suatu antigen vaksin.¹²

Efektifitas Pemberian Vaksin terhadap Penurunan Degradasi Tulang

Penelitian Troendkk.membuktikan bahwa isolasi *cathepsin K* pada osteoklas dapat menghambat gangguan resorpsi tulang secara *in vitro*. Inhibitor spesifik *cathepsin K* dapat menurunkan resorpsi tulang dan juga secara bermakna menurunkan resorpsi tulang *in vivo*.¹³

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, *cathepsin K* merupakan faktor penting dalam proses degradasi tulang pada osteoporosis. *Cathepsin K* adalah suatu enzim yang disekresikan oleh osteoklas, yang kaya akan asam amino sistein protease. Enzim ini memegang peranan penting dalam destruksi jaringan, *remodelling*, dan perusakan kartilago pada tulang.¹⁴ *Cathepsin K* diidentifikasi sebagai protease penting pada osteoklas yang mementarai proses resorpsi tulang dan degradasi kartilago serta membutuhkan lingkungan yang asam agar dapat mendegradasi kolagen ekstraseluler.¹⁵ Enzim ini juga memiliki peran penting pada homeostasis paru dan proteolysis thyroglobulin.^{16,17} dan dikenal sebagai *new kinin degrading peptidase*.^{8,18} *Cathepsin K*, yang terekspresi

dalam osteoklas, merupakan enzim *elastolytic* yang poten dengan aktifitas *collagenolytic* yang unik.¹⁹ *Cathepsin K* mendegradasi collagen tipe I dan II dalam *cross-linked triple helices* secara kovalen.²⁰⁻²³ Aktifitas resorpsi tulang oleh osteoklas merupakan sebuah bagian esensial dari proses *remodelling* dan terjadi sebagai respon terhadap *micro-environment* tulang.²⁴

Efektivitas Pemberian Vaksin terhadap Peningkatan Kadar ALP Serum

Penggunaan *cathepsin K* sebagai bahan vaksin untuk mencegah osteoporosis tidak mempengaruhi proses pembentukan tulang yang ditandai dengan hasil pemeriksaan kadar ALP dalam serum tikus dan penghitungan jumlah osteosit yang tidak signifikan antar kelompok ($p > 0,05$). Harapannya penelitian ini dapat dilanjutkan untuk dapat dikembangkan menjadi kandidat vaksin osteoporosis mutakhir.

Potensi Penggunaan Vaksin *Cathepsin K* pada Manusia

Penelitian ini membuktikan pemberian *cathepsin K* sebagai bahan dasar vaksin dapat menurunkan degradasi tulang dalam proses terjadinya osteoporosis. Oleh karena itu, kandidat vaksin ini berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Rencana jangka panjang dari peneliti ini adalah pengujian preklinis lainnya dan nantinya dilanjutkan penelitian pada manusia dan diproduksi luas. Untuk mencapai tingkat pengujian pada manusia, perlu dilakukan penelitian mengenai keefektifan vaksin dan efek samping yang ditimbulkan.

Metode pemberian vaksin pada manusia asam dengan metode pada hewan coba. Setelah program vaksinasi selesai, diharapkan tubu telah memproduksi sel memori yang selanjutnya memproduksi antibodi protektif terhadap osteoporosis. Target pemberian vaksin osteoporosis ini adalah wanita dengan kriteria kondisi *post-*

menopause. Pemilihan potensial target inibersadarkan mula terjadinya penurunan aktifitas dan produksi osteoblas dan peningkatan produksi serta aktifitas osteoklas yang terjadi karena penurunan produksi estrogen.

Efek Samping Pemberian Vaksin

Efek samping yang mungkin terjadi karena pemberian vaksin antara lain adalah terjadinya demam setelah pemberian vaksin. Selain itu juga sering terjadi pembengkakan pada tempat injeksi. Selain efek samping jangka pendek tersebut, berdasarkan studi epidemiologi oleh King terdapat hubungan efek samping jangka panjang antara pemberian vaksin secara umum dengan penyakit-penyakit kronis. Penyakit-penyakit seperti asma, *chronic obstructive pulmonary disease* (COPD), diabetes, gangguan perkembangan otak dan perilaku termasuk autisme. Meskipun demikian masih dibutuhkan penelitian untuk membuktikan bahwa penyakit-penyakit tersebut benar-benar merupakan efek samping yang ditimbulkan dari vaksin tanpa terpengaruh faktor lain seperti lingkungan dan genetik.²⁴

KESIMPULAN

Pemberian kandidat vaksin *cathepsin K* dengan CFA-IFA intraperitoneal dapat meningkatkan titer IgG anti-*cathepsin K* pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diovariectomi, tetapi tidak berpengaruh secara bermakna terhadap jumlah osteosit dan kadar ALP serum.

SARAN

Perlunya dilakukan eksplorasi dosis dan penelitian lebih lanjut terkait formulasi vaksin yang diperlukan untuk menginduksi efek osteoprotektif yang adekuat. Selain itu diperlukan juga penelitian lain untuk mengetahui efek vaksin dalam menurunkan degradasi tulang dengan mengukur parameter yang lebih akurat serta efek samping yang ditimbulkan pada berbagai organ lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada Universitas Brawijaya dan pihak-pihak terkait yang telah memfasilitasi dan membantu berjalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mayo JL. A Natural Approach to Menopause. *Applied Nutritional Science Reports* 1999;5(7):1-8.
2. American College of Rheumatology. Osteoporosis. *Atlanta: Arthritis Care and Research* 2010;124-133.
3. World Health Organization (WHO). *Prevention and Management of Osteoporosis*. Geneva : World Health Organization; 2003.
4. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288(3):321-33.
5. Le Gall C, Bonnelye E, Clézardin P. Cathepsin K inhibitors as treatment of bone metastasis. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care* 2008;2(3):218-222.
6. Drake FH, Dodds RA, James IE, Connor JR, Debouck C, Richardson S, Lee-Rykaczewski E, Coleman L, Rieman D, Barthlow R, Hastings G, Gowen M. Cathepsin K, but Not Cathepsins B, L, or S, is Abundantly Expressed in Human Osteoclasts. *The Journal of Biological Chemistry* 1999;May 24:271(21):12511-12516.
7. Christina S. *Efek Ekstrak Kacang Tunggak (Vigna unguiculata) terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Serum Tikus Putih (Rattus norvegicus) Strain Wistar yang telah Diovariectomi*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2010.

8. Lecaille F, Kaleta J, and Broemme D. Human and Parasitic Papain-Like Cysteine Proteases: Their Role in Physiology and Pathology and Recent Developments in Inhibitor Design. *Chem. Rev.* 2002;102:4459–4488.
9. Arieska AW. *Efek Ekstrak Etanol Daun Ceplukan (Physalis minima L.) terhadap Jumlah Sel Osteoklas Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Pasca Ovariectomy.* Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2010.
10. Fachrul DOH. *Efek Ekstrak Etanol Daun Ceplukan (Physalis minima L.) terhadap Jumlah Sel Osteoblas Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Pasca Ovariectomy.* Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2010.
11. Dahlan SM. *Seri Statistik: Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan; Uji Hipotesis dengan Menggunakan SPSS Program 12 Jam.* Jakarta: Arkans. Hal. 4-26; 2004.p.90-101.
12. Abbas AK and Andrew HL. *Basic Immunology: Function and Disorder of The Immune System* 2nd Edition. Philadelphia: Elsevier Inc.;2004.p.87-89.
13. Troen, Bruce R. Molecular Mechanisms Underlying Osteoclast Formation and Activation. *Experimental Gerontology* 2003;38:605–614.
14. Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG. *Cathepsin K, Enzyme Immunoassay for The Quantitative Determination of Cathepsin K in Serum or Cell Culture Supernatants.* Divischgasse: Biomedica Gruppe.;2001.
15. Hou, WS, *et al.* Comparison of Cathepsins K and S Expression Within the Rheumatoid and Osteoarthritic Synovium. *American College of Rheumatology*2002;46(3): 663-674.
16. Tepel C, Broemme D, Herzog V, and Brix K. Cathepsin K in thyroid epithelial cells: Sequence, localization and possible function in extracellular proteolysis of thyroglobulin. *J. Cell Sci.*2000;113:4487–4498.
17. Buehling F, Rocken C, BraschF, Hartig R, Yasuda Y, Saftig P, Broemme D, and Welte T. Pivotal role of cathepsin K in lung fibrosis. *Am. J. Pathol.*2004;164:2203–2216.
18. Godat E, Lecaille F, Desmazes C, Duchene S, Weidauer E, Saftig P, Broemme D, Vandier C, and Lalmanach G. Cathepsin K: A cysteine protease with unique kinin-degrading properties. *Biochem. J.*2004;383:501–506.
19. Chapman Jr HA and Shi GP. Protease injury in the development of COPD: Thomas A. Neff Lecture. *Chest*2000;117: 295S–299S.
20. Chapman HA, Riese RJ, and Shi GP. Emerging roles for cysteine proteases in human biology. *Annu. Rev. Physiol.*1997;59:63–88.
21. Garnero P, Borel O, Byrjalsen I, Ferreras M., Drake FH, McQueney MS, Foged NT, Delmas PD, and Delaisse JM. The collagenolytic activity of cathepsin K is unique among mammalian proteinases. *J. Biol. Chem.*1998;273:32347–32352.
22. Kafienah W, Broemme D, Buttle DJ, Croucher LJ, and Hollander AP. Human cathepsin K cleaves native type I and II collagens at the N-terminal end of the triple helix. *Biochem. J.*1998;331: 727–732.
23. Yasuda Y, Li Z, Greenbaum D, Bogoy M., Weber E, and Broemme D. Cathepsin V, a novel and potent elastolytic activity expressed in activated macrophages. *J. Biol. Chem.*2004;279: 36761–36770.
24. Kamolmatyakul S. IL-1 α Stimulates Cathepsin K Expression in Osteoclasts via the Tyrosine Kinase-NF- κ B Pathway. *Cytokine Biology Forsyth Institute*2004;83(10):791-796.

Chelating Effect of Water Extract of *Mangifera foetida* L. Leaf in Serum of Thalassemia Patient by Ex Vivo Test

Dessy Framita Sari*, Erni Hernawati Purwaningsih**, Desak Gede Budi Krisnamurti**

*Faculty of Medicine Universitas Indonesia

**Departement of Medical Pharmacy Faculty of Medicine Universitas Indonesia
(Supervisor)

ABSTRACT

Thalassemia is a genetic disorder, which is caused by the diminished synthesis of globin polypeptide chains. In Indonesia, 3-5% of cases are β -thalassemia and 2.6 to 11% are α -thalassemia. Regular blood transfusion is needed but iron overload is the consequence. That's why *Deferoxamine* is used as a chelating agent which function is bind iron and excrete them. Unfortunately, *Deferoxamine* needs high cost with high side effects. Therefore, an alternative natural medicine is required, that is mangiferin derived from aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf. The aim of this research is to utilize the natural substance as a chelating agent of ferritin in thalassemia patient's serum. This was an experimental study, which used serum of patient with thalassemia. One Way Anova statistical test proved that the aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf dose of 0.375 mg and 0.75 mg has a chelating effect compared with negative control ($p=0.005$). However, when subsequently tested with Post Hoc, 0.375 mg extract doesn't show a chelating effect compared with mangiferin ($p=0.018$). In the other hand, 0.75 mg extract has shown a chelating effect but not as good as mangiferin ($p=0.259$). It is considered that the low doses of extract and a possibility that the extract doesn't bind the iron directly are the factors which influence the result. That's why mangiferin still has better effectiveness in binding iron compared with aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf dose of 0.375 mg and 0.75 mg.

Keywords: aqueous extract of *Mangifera foetida* L. Leaf, chelating, serum, thalassemia.

ABSTRAK

Talasemia penyakit hereditas yang terjadi karena gangguan sintesis salah satu rantai polipeptida globin. Di Indonesia, 3-5% kasus merupakan talasemia β dan 2,6-11% merupakan talasemia α . Transfusi darah secara teratur merupakan terapi yang dibutuhkan. Namun, tindakan ini memiliki konsekuensi berupa penumpukan besi di dalam tubuh. Untuk mengatasi hal tersebut, *Deferoxamine* digunakan sebagai agen kelator yang berfungsi mengikat besi dan kemudian mengeluarkannya dari tubuh. Penggunaan *Deferoxamine* membutuhkan biaya yang besar dan efek samping yang tinggi. Oleh karena itu, dibutuhkan pengobatan alternatif, yaitu mangiferin yang berasal dari ekstrak air daun *Mangifera foetida* L. Tujuan penelitian ini adalah untuk memanfaatkan bahan alami sebagai terapi kelasi besi pada penderita talasemia. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan serum pasien talasemia sebagai subjek penelitian. Uji statistik *One Way Anova* menunjukkan ekstrak air daun *Mangifera foetida* L. dosis 0,375 mg dan 0,75 mg memiliki efek kelasi bila dibandingkan dengan kontrol negatif ($p=0,005$). Namun, ketika selanjutnya diuji dengan *Post Hoc* didapatkan hasil ekstrak 0,375 mg tidak memiliki efek kelasi bila dibandingkan dengan mangiferin ($p=0,018$). Sementara itu, ekstrak 0,75 mg memiliki efek kelasi tetapi tidak sebaik mangiferin ($p=0,259$). Hal ini diduga berkaitan dengan beberapa faktor, yaitu: dosis ekstrak yang terlalu kecil dan adanya dugaan ekstrak tidak mengikat besi (Fe) secara langsung, melainkan mengikat apoprotein dalam serum. Oleh karena itu, dapat dikatakan mangiferin masih memiliki efektivitas yang lebih baik dalam mengikat besi bila dibandingkan dengan ekstrak air daun *Mangifera foetida* L. dosis 0,375 mg dan 0,75 mg.

Kata Kunci: ekstrak air daun *Mangifera foetida* L., kelasi, serum, talasemia.

INTRODUCTION

Thalassemia is a worldwide problem. There are 15 million people suffer from thalassemia which is separated in Syprus (16%), Thailand (1%), Bangladesh (3-8%), India, China, Malaysia, and Pakistan. In addition, there are 5-10% α -thalassemia in Mediterania, 20-30% in West Africa, 68% in South Pasific, and less than 1% found in Europe and Japan.^{1,2,3} In Indonesia, the prevalence of thalassemia is quite high, 3-5% cases are β -thalassemia and 2.6-11% are α -thalassemia. Until 2008, there are 5000 person are detected as thalassemia patient.⁴

Thalassemia is a group of hereditary anemia that result from diminished synthesis of one of two globin polypeptide chains, which is caused by genetic disorder.^{5,6} Clinically, there are 3 types of thalassemia: (1) major thalassemia, (2) intermediate thalassemia, and (3) minor thalassemia. Major thalassemia is the most severe type and needs blood transfusion every month.⁶ But unfortunately, the consequence of blood transfusion is iron overload which can stimulate the formation of reactive oxygen species (ROS) by Fenton reaction. These ROS can stimulate lipid peroxidation, protein disulfide bridges, and DNA cross-linking.^{5,6} To prevent this iron overload, Deferoxamine is used as a chelating agent, which will bind the iron and inhibit the formation of reactive oxygen species (ROS) by Fenton reaction.⁶ Beside that, Deferoxamine also excrete the overloading iron which is accumulated in cell (hemosiderin). Deferoxamine is given 5-7 times a week.^{7,8}

Besides its incredible ability in preventing iron overload, Deferoxamine also has some harmful effects for thalassemia patient. Oral administration of Deferoxamine is uncomfortable and decrease its effectiveness. Therefore, syringe driver is needed for subcutaneous injection of Deferoxamine (Portocath®). This therapy usually spend 3-5 million

rupiahs each month with several adverse effects, such as: neurotoxicity, osteoporosis, defect on visual and auditorious function.^{6,8}

Based on the fact above, we thought that Deferoxamine needs an alternative medicine which comes from nature. Natural alternative medicine is selected because it is expected to increase patient compliance with their cheaper cost and lower adverse effect. Based on *in vitro* study, it is known that mangiferin which comes from *Mangifera indica* L. stem bark has a chelating agent which is needed to inhibit formation of ROS. But, exploitation of *Mangifera indica* L. stem bark is environmentally harmful. That's why instead of using *Mangifera indica* L., we used aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf which has higher level of mangiferin and doesn't environmentally harmful.^{7,9}

MATERIALS AND METHODS

This was an experimental, placebo-controlled, parallel-unpaired-group study. This study used:

1. Serum of Thalassemia Patient
Initially, We used 24 serum of thalassemia patient which regularly receive blood transfusion in Pediatric Health Department of Cipto Mangunkusumo Hospital in 2009-2010. But finally we used 7 serum as sample. Each 100 μ l serum contain 100 μ M iron. In this study we used 200 μ l serum contain 200 μ M iron
2. Aqueous Extract of *Mangifera foetida* L. Leaf
Extraction process of *Mangifera foetida* L. leaf began with selection of leaf from Depok which were identified by Biology Research Center, LIPI Bogor. Then we washed, cut, and measured the amount of leaves until we got 400 gram of them and then made an infusion which then evaporated with Rotavapor Büche. Based on a research before, we have known that 400 gram of leaves

equivalent to 0,275 gram mangiferin. In addition, it is also known that 100 µg of stem bark) has an effect as a chelating agent.⁷ To get the same chelating effect, we diluted *Mangifera foetida* L. leaf extract until we get 50 mg/ml concentration of aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf. Therefore initially, we used 7,5 mg and 15 mg doses of extract of *Mangifera foetida* L. Leaf as the experimental substances. But, finally we decreased the doses into 0,375 mg and 0,75 mg.

3. Mangiferin Solution

Mangiferin solution was made as a solution depot. It was made by adding 1 mg of mangiferin powder (product of Changyba Huir Biological-tech China) into 0,5 ml of aquades and 0,5 ml of ethanol. Then 100 µl of solution would contain 100 µg of mangiferin.

4. Desferal[®] Solution

Desferal[®] solution was made by adding 2 mg of Desferal[®] into 1 ml of aquades. So, 50 µl of solution would contain 100 µg Desferal[®].

5. Standard Medium

Standard medium consist of sucrose 125 Mm, KCl 65 mM, potassium succinate 5 mM, phosphoric acid 2 mM, magnesium chloride 1 mM, and HEPES buffer (pH 7,2) 10 mM. In addition we also used 2 mM of citrate medium.

After preparing all of the experimental substances, we prepared the

mangiferin (equivalent to 15 mg extract of *Mangifera indica* L. experimental subjects. The experimental subject was divided into 2 groups, they were: intervention groups and control groups. There were 2 intervention groups and 3 control groups, each group contain 1000 µl standard medium, 100 µl citrate medium, and 1000 µl aquades. Beside that, each group also contain different experimental substance, they were:

- a. Group I : 200 µl serum only (as negative control).
- b. Group II : 200 µl serum + 100 µg mangiferin (as positive control).
- c. Group III : 200 µl serum + 100 µg Deferoxamine (initially as positive control)
- d. Group IV : 200 µl serum + 0.375 mg Aqueous Extract of *Mangifera foetida* L. Leaf.
- e. Group V : 200 µl serum + 0.75 mg Aqueous Extract of *Mangifera foetida* L. Leaf.

After preparing all of the experimental subjects, we then measured the absorbance of each groups by a spectrophotometer UV-VIS Optima 3000 at 28° C and $\lambda = 190 \text{ nm}-400 \text{ nm}$ wavelength. According to a research before, we have known that the absorbance peak of mangiferin will appear in 275 nm and 380 nm.⁷ The data then would be processed using a formula that we have prepared before:

*abs=absorbance

After processing the data with this formula, the data was analyzed by One Way Anova statistical test using SPSS 13.0 for Windows[®].

RESULTS

In the initial experiment, we used 24 serum of thealasemia patient. But, after we analysed the experimental groups with spectrophotometer, we found that these 24

serum didn't show a similar pattern of absorbance, therefore we decided to reduce the number of sample into 9 serum. After doing the experiment with 9 serum, we

found that two serum didn't show a similar pattern, so finally we decided to use 7 serum as sample. The minimal sample we need is 5 sample (based on Federer formula). Initial volume of serum we used was 100 μL which contain 100 μM iron. Then we increased the volume of serum into 200 μL , but it still contains 100 μM iron. We increased the volume of serum because the absorbance peak was not clearly visible on the graph. However, after the change of volume, the absorbance peak serum remained invincible.

Therefore, we decided to increase the concentration of iron into 200 μM .

Initial experiment also used 7,5 mg and 15 mg doses of extract of *Mangifera foetida* L. Leaf as the experimental substances. But, after an initial analysis with spectrophotometer, we could not read the graphic clearly because the absorbance peak was out of the graphic (see Figure 1). That's why we decreased the extract doses into 0,375 mg and 0,75 mg. Beside that the concentration of aqueous extract of *Mangifera foetida* L. Leaf is also reduced into 15 mg/ml (see Figure 2).

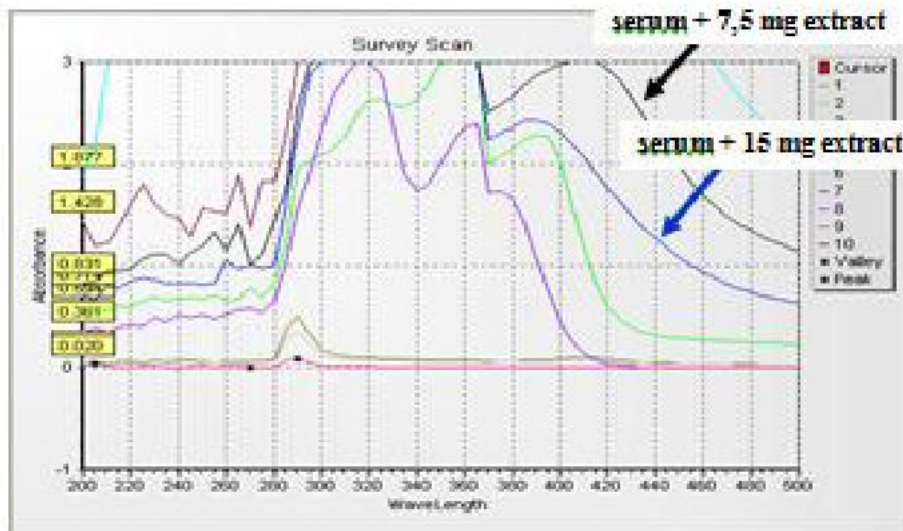


Figure 1. Spectrophotometer Output Graph of Aqueous Extract of *Mangifera foetida* L. Leaf Doses of 7,5 mg and 15 mg

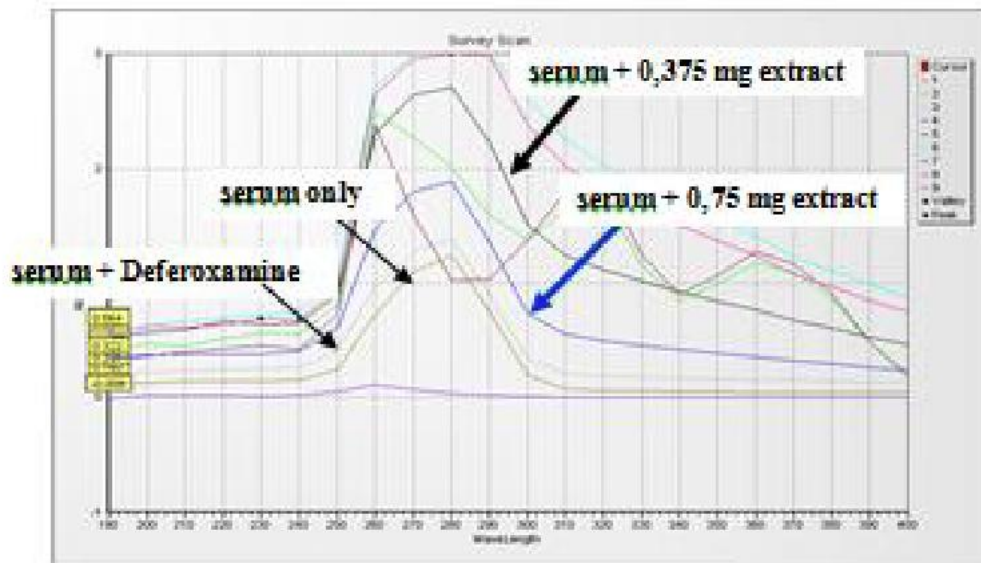


Figure 2. Spectrophotometer Output Graph after Lowering the Doses into 0,375 mg and 0,75 mg

As explained before, in the initial study, we used 3 groups of control, but lately we removed Deferoxamine as a positive control because its absorbance didn't show any significant differences with absorbance of serum (see Figure 2). It is thought that Deferoxamine (Desferal®) didn't bind iron directly, but apoprotein. That's why there was no formation of iron-Deferoxamine complex. The other possibility that caused insignificant differences between serum+Deferoxamine and serum only is inappropriate media used in this experiment. Based on the literature, we know that the appropriate media for Deferoxamine are ascorbic acid (28 mM) and ferric citrate (20 mM), but

we didn't use those media in this experiment.¹⁰

After removing Deferoxamine as the positive control, we only used Mangiferin as the positive control. We compared the absorbance value of each group after it was processed by a formula that we have prepared before. By processing the data with the formula, we got the absorbance value of unbound mangiferin in each group. The comparison of unbound mangiferin absorbance value between intervention groups and control groups is showed below:

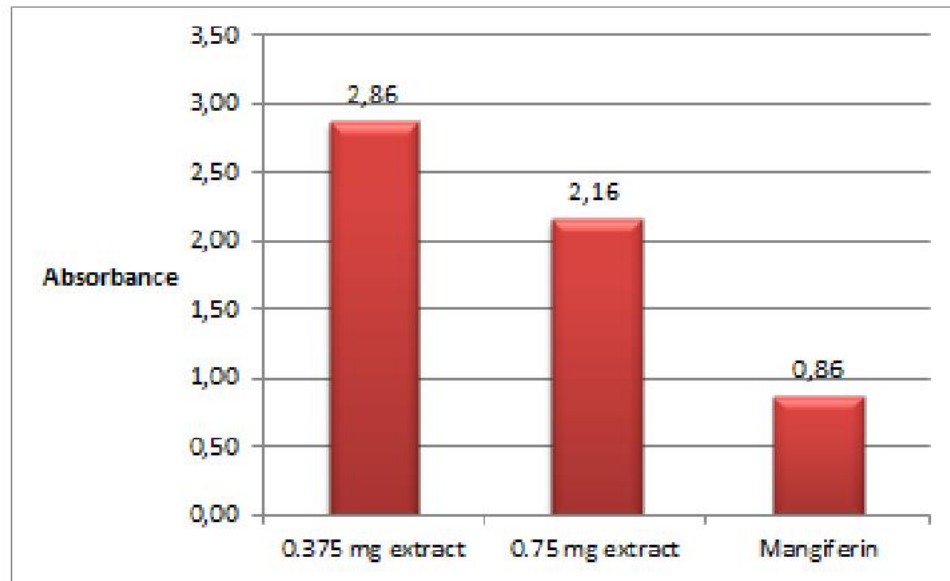


Figure 3. Mean Absorbent Value of 100 µg Mangiferin (Positive Control); and Water Extract of *Mangifera foetida* L. Leaf Dose of 0.375 mg and 0.75 mg ($\lambda=280$ nm)

DISCUSSION

This study used aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf as the experimental substance. *Mangifera foetida* L. is one of *Mangifera indica* cultivar. Based on a study before, it was known that the concentration of mangiferin in this cultivar is highest than the other cultivar (2,56%).⁹ Mangiferin will act as a chelating agent which will bind iron in the body, so it will prevent:

1. Lipid peroxidation which is induced by iron. Excessive iron in the body will stimulate oxygen consumption, and then the oxygen will be converted into superoxide and hydrogen peroxide by superoxide dismutase. Then hydrogen peroxide will be converted into reactive oxygen species (ROS) by Fenton reaction. This ROS is harmful because it can cause lipid peroxidation.^{5,11}
2. Membrane mitochondria damage can cause the formation of non-selective pores, which will allow the moveable proton to through the membrane and finally mitochondria loss their ability to produce ATP.^{5,11}

Beside contain the highest concentration of mangiferin, *Mangifera foetida* L. also contain high concentration of vitamin C (56 mg) which is needed to prevent the formation of human granulocyte macrophage-colony-stimulating factor (GMCSF). GMCSF will induce the formation of ROS. Based on a study before we have known that vitamin C can decrease 30% level of ROS in the body.¹²

Based on the One Way Anova statistical test, it was known that aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf doses of 0,375 mg and 0,75 mg have a chelating effect in serum of patient with thalassemia. Aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf doses of 0,375 mg and 0,75 mg had shown a significant differences with negative control ($p=0,005$), that's why the statistical test was followed by post Hoc. Post Hoc test proved that aqueous extract of *Mangifera foetida* L. Leaf dose of 0,375 mg had a significant differences ($p=0,018$) with positive control (mangiferin solution plus serum). This differences means extract 0,375 mg actually doesn't have a

chelating agent compare with positive control. In the other hand, aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf dose of 0,75 mg didn't show a significant differences ($p=0,259$) with positive control, it means extract 0,75 mg has a chelating effect. But, we found that its chelating effect was not as good as chelating effect of positive control (mangiferin plus serum). Let's see Figure 3, in this figure the absorbance mean of extract 0,75 mg is higher than positive control. It means that the concentration of unbound mangiferin in extract 0,75 mg is higher than unbound mangiferin in positive control. The amount of unbound mangiferin could be a representation of the chelating effect of experimental substances. From the fact above, we knew that the increasing amount of unbound mangiferin means the decreasing effect of chelating. Another point that we can get in the Figure 3 is the higher absorbance mean of extract 0,375 mg than extract 0,75 mg, it means aqueous extract of *Mangifera foetida* L. leaf dose of 0,75 mg has better chelating effect than dose of 0,375 mg. This fact was also been proved by statistical test. In the Post Hoc test, we found that there was a significant differences of chelating effect in extract 0,375 mg and 0,75 mg ($p=1,000$).

There were several points that we've thought to be the reason why extract didn't have better chelating effect when was compared with positive control. Some factors that was considered have a correlation with the result are low doses of extract and a possibility that the extract doesn't bind iron directly, but apoprotein.

After doing a conversion, we found that 40 grams of extract was equivalent to 0,275 grams of mangiferin, that's why 0,375 mg (375 μg) of extract was equivalent to 2,6 μg mangiferin and 0,75 mg (750 μg) of extract was equivalent to 5 μg of mangiferin. In the other hand, the control (mangiferin) dose we used is 100 μg , and it was based on a research before. Therefore the chelating effect of extract

was not as good as the chelating effect of control (mangiferin).

The other factor that we have thought to be correlated with the result is the possibility that the extract didn't bind iron directly but apoprotein. That's why the chelating effect of extract didn't as good as mangiferin (positive control). Ferritin consists of iron in the inner and outer apoprotein (see Figure 4).¹³ A chelating effect would be shown if there was a binding between iron and extract, but in this case we have thought that the extract didn't bind iron directly, it was proved by a fact that the absorbance peak didn't appear at 275 nm and 380 nm wavelength. Therefore, the chelating effect was not seen clearly in this experiment. To prove whether the extract bind iron directly or not, we need a nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. NMR would figure the actual bond formed, so we could know whether the extract bind iron directly or not.

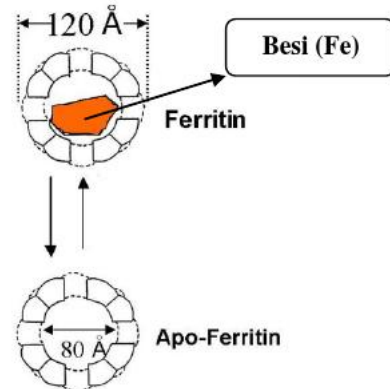


Figure 4.¹³ Structure of Ferritin. Ferritin consist of apoprotein (apo-ferritin) in the outer and inner iron.

CONCLUSION

Water extract of *Mangifera foetida* L. leaf dose of 0.375 mg and 0.75 mg has a chelating effect in serum of patient with thalassemia ($p=0,005$).

RECOMMENDATION

1. Further experiment is needed to find an appropriate dose of Water extract of *Mangifera foetida* L. leaf so that the ability of this extract in binding iron will significantly observe.
2. It is recommended to use another dilution liquor to dilute the extract (such as: alcohol).
3. It is recommended to use Nuclear Magnetic Resonance (NMR) in further experiment to observe the bond between extract, mangiferin, and Deferoxamine with serum.
4. It will be better if further experiment try to use another part of *Mangifera foetida* L as the source of extract.

REFERENCES

1. Yaish H M. Thalassemia. WebMD Professional [materials on the internet] 2010 April [cited 2010 July 19]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/958850-overview>
2. Anonymous. Thalassemia prevalence. Tha medical news [article on the internet] 2009 [cited 2010 November 25]. Available from: <http://www.news-medical.net/health/Thalassemia-Prevalence.aspx>
3. Anonymous. Prevalence and incidence of thalassemia. [article on the internet] 2010 [cited 2010 November 25]. Available from: <http://www.wrongdiagnosis.com/t/thalassemia/prevalence.htm>
4. Permanasari I. Talasemia: Transfusi Penyambung Hidup. [article on the internet] 2010 july [cited 2010 July 19]. Available from: <http://www.kesekolah.com/article-and-news/detail/9070-talasemia-transfusi-penyambung-hidup.html>
5. Kumar V, Cotran R S, Robbins S L. Buku Ajar Patologi. 7th Ed. Jakarta: EGC; 2007. p. 452-5.
6. Bridges K R, Pearson H A. Anemias and Other Red Cell Disorders. 1st Ed. United State America: The McGraw-Hill; 2008. p. 277–300.
7. Andreu G P, Gelgado R, Velho J A, Curti C, Vercesi A E. Iron Complexing Activity of Mangiferin, a Naturally Occuring Glucosylxanthone, Inhibits Mitochondrial Lipid Peroxidation Induced by Fe²⁺-Citrate. *European Journal of Pharmacology*. 2005;513:47-55.
8. Ganie R A. Thalassemia: Permasalahan dan Penanganannya. Universitas Sumatera Utara [materials on the internet] 2005 November [cited July 19]. Available from: http://www.usu.ac.id/id/files/pidato/ppgb/2005/ppgb_2005_ratna_akbari_ganie.pdf
9. Soetarno S, Soediro I, Padmawinata K. Isolasi dan Karakterisasi Mangiferin dari Daun Mangga Arumanis dan Perbandingan Kadarnya pada Daun Tujuh Kultivar *Mangifera Indica* L. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 2004;16:126-35.
10. Asbeck BS, Marcelis JH, Marx JM, Struyvenberg A. Inhibition of Bacterial Multiplication by The Iron Chelator Deferoxamine: Potentiating Effect of Ascorbic Acid. *Eur. J. Clin Microbiol*. 1983;2:426-31.
11. Chattopadhyay U, Chaudhuri L, Ghosal S. Immunostimulatory Activity of Mangiferin, A Naturally Occuring Xanthone-C_Glucoside. *Pharmaceutical Research*. 1986;3:307-8.
12. Carcamo JM, Oriana BO, Golde DW. Vitamin C Inhibit Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor-Induced Signaling Pathways. *Blood Journal*. 2003;99:3205-6.
13. Strongin D R. Structur of Ferritin. 2009 [cited 2010 November]. Available from: <http://astro.ocis.temple.edu/~dstrongin/ferritin.jpg>

Potensi X-Box Binding Protein (XBP1) dalam Meregulasi Stres Retikulum Endoplasma sebagai Pencegahan Diabetik Retinopati pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2

Ayu Widyanti,* Mien Dwi Cahyani,* Dian Pratita Lestari*
Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
Korespondensi: nym_ayuwidyanti@yahoo.com

ABSTRAK

Diabetik retinopati (DR) merupakan komplikasi yang paling sering terjadi pada penderita diabetes dan penyebab utama kebutaan pasien usia 20-64 tahun populasi di Amerika Serikat. Insiden diabetik retinopati meningkat menjadi 50% setelah 10 tahun menderita DM2 dan menjadi 90% setelah 25 tahun. Kasus kebutaan total akibat diabetik retinopati ditemukan setelah 20 tahun menderita DM dengan angka kebutaan DM2 mencapai 60%. Modalitas pengobatan DR selama ini memerlukan biaya yang relatif tinggi dan menyebabkan komplikasi. Stres Retikulum Endoplasma (RE) dan inflamasi adalah dua faktor penting dalam patogenesis DR karena berpotensi merusak BRB, tanda patologis DR stadium awal. X-Box Binding Protein 1 (XBP1) yaitu gen pengkode faktor transkripsi yang meregulasi stres RE mampu memberikan perlindungan terhadap sistem vaskuler retina dengan mengatasi stres RE serta sebagai agen anti inflamasi yang nantinya mampu mencegah kerusakan BRB. XBP1 dapat mengatasi Stres RE dengan meningkatkan ekspresi kaperon RE dan aktivasi gen-gen yang terlibat dalam ERAD dan meningkatkan protein yang terlibat dalam ERAD dengan berikatan pada protein yang misfold. XBP1 dapat menurunkan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 dan NF- κ B yang diinduksi oleh TNF- α dan IKK. Dalam pengadministrasiannya, XBP1 dimasukkan ke dalam adenovirus vektor kemudian diinjeksikan secara intravitreal pada penderita DM2.

Kata kunci: Mata, Diabetes, Komplikasi, Terapi Gen

ABSTRACT

Diabetic retinopathy (DR) is the major complication of diabetes and the leading cause of blindness in aged 20 to 64 years of United States population. The incidence of DR increased to 50% after 10 years of suffering from T2DM and to 90% after 25 years. Total cases of blindness due to DR were found 60% after 20 years. Treatment of DR requires high costs and cause complications. Endoplasmic reticulum (ER) stress and inflammation are two important factors in the pathogenesis of DR that can potentially damage BRB, a pathological signs in early stage of DR. X-Box Binding Protein 1 (XBP1) gene encoding the transcription factors that regulate ER stress is able to provide protection against retinal vascular system to cope with stress and as an inflammatory agent to prevent BRB damage. XBP1 can cope with stress by increasing the expression chaperon ER and activation of genes involved in ERAD also increases proteins involved in ERAD by binding to proteins that misfold. XBP1 can decrease the expression of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 and NF- κ B induced by TNF- α and IKK. In its administration, XBP1 inserted into an adenovirus vector and then injected intravitreal in patients with T2DM

Keywords: Eye, Diabetic, Complication, Gene Therapy

PENDAHULUAN

Diabetik retinopati (DR) merupakan penyebab utama kebutaan pasien usia 20-64 tahun populasi di Amerika Serikat. DR ditandai dengan kerusakan endotel vaskuler retina, gangguan suplai darah, dan degenerasi neuron retina. Insiden diabetik retinopati jarang ditemukan pada satu

tahun pertama DM2, tetapi insidennya meningkat menjadi 50% setelah 10 tahun menderita DM2 dan menjadi 90% setelah 25 tahun.²

Modalitas pengobatan DR selama ini seperti fotokoagulasi laser dan vitrektomi menunjukkan hasil yang kurang memuaskan. Selain karena biaya yang relatif tinggi, beberapa teknik tersebut juga

memiliki peluang terjadinya komplikasi sedang hingga parah.¹ Merujuk pada permasalahan di atas, dapat disimpulkan bahwa DR merupakan masalah kesehatan yang mendesak (*global emergency*) akibat progresivitasnya yang menyebabkan morbiditas yang tinggi dan mengarah pada kebutaan total, kondisi ini bersifat *irreversible* terhadap pengobatan.

Patogenesis DR melibatkan inflamasi, kerusakan *blood-retinal barrier* (BRB), dan perubahan pembuluh darah retina.³ Kondisi yang dikenal sebagai stres retikulum endoplasma berperan dalam inflamasi retina serta kebocoran vaskuler yang memicu kerusakan BRB di DR.⁴ Selama stres retikulum endoplasma berlangsung, produksi *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) oleh astrosit dan sel Muller meningkat. TNF- α kemudian mengaktifkan *Nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yaitu suatu faktor transkripsi yang berperan penting dalam jalur pensinyalan inflamasi. Kehadiran dari faktor transkripsi ini meningkatkan ekspresi molekul adesi yaitu *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1).⁵ Molekul adesi yang diproduksi memediasi adesi leukosit ke sel endotelial retina sehingga menginduksi kerusakan BRB yang mengarah pada terjadinya diabetik retinopati. Selain meningkatkan faktor inflamasi NF- κ B, TNF- α juga meningkatkan induksi pengekspresian *nitric oxide synthase* (NOS) yaitu faktor proinflamasi. Berdasarkan fakta-fakta tersebut, stres RE dan inflamasi adalah dua faktor penting dalam patogenesis DR karena berpotensi merusak BRB, tanda patologi DR stadium awal.

Terapi biomolekuler dengan *X-Box Binding Protein 1* (XBP1), yaitu gen pengkode faktor transkripsi yang meregulasi stres RE merupakan suatu bentuk pencegahan terhadap diabetik retinopati pada penderita DMT2. Administrasinya ke dalam tubuh mampu memberikan perlindungan terhadap sistem vaskuler retina dengan mengatasi stres

retikulum endoplasma (RE) serta sebagai agen anti inflamasi yang nantinya mampu mencegah kerusakan BRB. Oleh karena itu, aktivasi XBP1 memiliki potensi sebagai strategi terapeutik yang efektif mencegah kerusakan pembuluh darah retina yang menjadi patologi awal komplikasi diabetik retinopati pada pasien DMT2.^{6,7}

PEMBAHASAN

Mekanisme Kerja *X-Box Binding Protein 1* (XBP1) sebagai Strategi Pencegahan Diabetik Retinopati pada Penderita DMT2

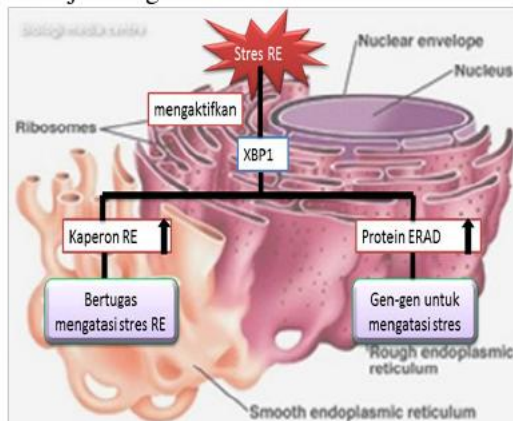
Aplikasi esensial pencegahan diabetik retinopati melibatkan prinsip dasar yang berhubungan dengan patogenesisnya yakni pencegahan terhadap inflamasi untuk menghindari kerusakan pembuluh di retina. Prinsip ini berkaitan erat dengan mekanisme XBP1 dalam mengatasi stres RE. Strategi tersebut melibatkan XBP1 dalam mengatasi stres RE serta sebagai agen anti inflamasi. Mekanisme tersebut akan dijelaskan lebih lanjut sebagai berikut:

1 Mekanisme Kerja XBP1 dalam mengatasi stres RE

Rasio proinsulin:insulin meningkat pada pasien DMT2. Selain itu, terjadi penumpukan *reactive oxygen species* (ROS).^{8,9} Kedua hal ini mendasari stres retikulum endoplasma (RE). Stres RE di retina menimbulkan inflamasi serta disfungsi vaskuler, keduanya menginduksi kerusakan *blood retinal barrier* (BRB). Respon adaptif terhadap stres RE dikenal dengan istilah *unfolded protein response* (UPR).^{8,9}

XBP1 adalah koordinator master dari UPR.⁶ Mekanisme kerja XBP1 dalam mengatasi stres RE yaitu dengan meningkatkan ekspresi kaperon RE dan aktivasi gen-gen yang terlibat dalam ERAD. Kaperon RE mengatasi stres RE

dengan berikatan pada protein yang *misfold* atau *unfold* atau dengan cara menghentikan translasi sehingga stres RE akan berkurang.^{8,10} Aktivasi XBP1 juga meningkatkan protein yang terlibat dalam ERAD.¹¹ Gen-gen ini memainkan peran penting dalam memelihara kelangsungan hidup sel selama berbagai kondisi stres, seperti defisiensi nutrisi, hipoksia, stres oksidatif, dan inflamasi.^{8,10} Melalui pengaktifan gen-gen ini XBP1 bekerja mengatasi stres RE.



Gambar 1. Peran XBP1 dalam Mengatasi stres Retikulum Endoplasma

2 Mekanisme Kerja XBP1 sebagai Agen Anti Inflamasi

Mekanisme XBP1 sebagai agen anti inflamasi tidak terlepas dari pembahasan mengenai stres RE. Inflamasi pada retina diabetik disebabkan oleh proses adesi leukosit ke *human retinal microvascular endothelial cells / HREC* (leukostasis), yang menstimulasi kerusakan BRB.^{12,13} Pengikatan leukosit ke molekul adesi pada permukaan sel endotel diperlukan untuk leukostasis. Selama diabetes, sel endotel aktif mengekspresikan molekul adesi dengan jumlah yang tinggi.^{13,14} Level molekul adesi *soluble intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1) dalam vitreous pasien DR meningkat drastis, diikuti oleh peningkatan sel inflamasi termasuk neutrofil, makrofag, CD4⁺, CD8⁺ dalam pembuluh darah

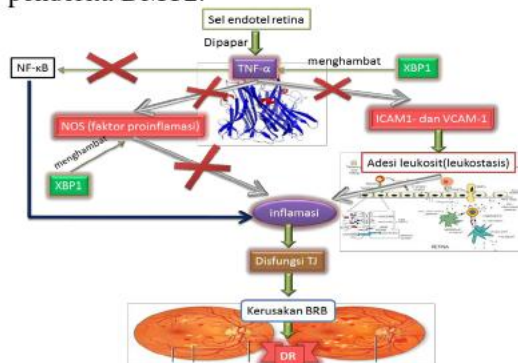
retina.¹⁵ Di antara stimulator molekul adesi, *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) adalah sitokin proinflamasi yang diinduksi di sistem pembuluh retina oleh kondisi diabetes. Paparan sel endotel retina terhadap TNF- α menginduksi aktivasi *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B), peningkatan ekspresi ICAM-1, dan disfungsi pada *tight junction* penyusun BRB internal. Penghambatan fungsi TNF- α menurunkan leukostasis yang diasosiasikan dengan kebocoran vaskuler dan menghapus nonperfusi kapiler retina diabetik yang berarti bahwa sitokin ini berperan dalam inflamasi retina dan cedera sel endotelial pasien DR.⁹

Mekanisme XBP1 sebagai agen anti inflamasi melibatkan efeknya dalam menurunkan molekul adesi, NF- κ B, dan NOS yang diinduksi oleh TNF- α , tiga faktor penting inflamasi pada retina diabetik. Langkah sentral yang mengarah pada kerusakan BRB oleh sitokin inflamasi di sel endotel yaitu induksi ekspresi molekul adesi, dalam pembahasan kali ini yaitu ICAM-1 dan VCAM-1. Penelitian yang dilakukan Joshua Wang dkk. menunjukkan bahwa peningkatan kadar TNF- α sebanding dengan peningkatan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1. TNF- α meningkatkan ekspresi ICAM-1 dan VCAM-1 dengan meningkatkan glikosilasi kedua molekul adesi tersebut. Studi ini mengekspresi secara berlebih XBP1 pada HREC dengan menginfeksi sel oleh adenovirus yang mengkode XBP1 (Ad-XBP1s), diikuti oleh pemberian TNF- α . Hasil studi ini menunjukkan TNF- α tidak mampu menginduksi ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel tersebut. Depleksi ICAM-1 terbukti mampu menurunkan leukostasis dan disfungsi vaskuler.¹³ Sedangkan depleksi VCAM-1 menurunkan adesi leukosit dan rolling pada sirkulasi mikro dan makro.¹⁶ Hal ini mengindikasikan bahwa XBP1 mampu menghambat ekspresi molekul adesi dan adesi leukosit ke sel endotel.⁶

TNF- α meningkatkan fosforilasi I κ B Kinase (IKK), berperan pada patogenesis

DR. Aktivasi IKK adalah langkah sentral yang mengarah pada pengaktifan NF- κ B dengan memfosforilasi subunit p65 NF- κ B dan meningkatkan aktivitas transkripsi NF- κ B. TNF- α berperan dalam translokasi subunit p65 tersebut dari sitoplasma ke nukleus. XBPI bekerja dengan menghambat peningkatan ekspresi IKK dan NF- κ B yang diinduksi oleh TNF- α . Penghambatan NF- κ B terbukti dapat menurunkan adesi leukosit serta mengurangi kebocoran pada retina diabetik.^{8,18} Studi yang dilakukan Wang dkk. juga menunjukkan bahwa paparan TNF- α terhadap HREC meningkatkan ekspresi NOS. *Nitric Oxide Synthase* (NOS) adalah faktor proinflamasi yang mampu menginduksi ekspresi ICAM-1 di HREC. Penghambatan inflamasi dilakukan oleh XBPI dengan menghambat ekspresi NOS.⁶

Melalui mekanisme di atas, dapat disimpulkan bahwa aktivasi XBPI mampu menghambat jalur inflamasi yang diinduksi TNF- α , yaitu NF- κ B dan NOS, serta menghambat leukostasis dengan menurunkan ekspresi molekul adesi. Hasil ini dikaji lebih jauh dengan menghambat ekspresi XBPI menggunakan *quinoxaline*, inhibitor XBPI, peristiwa sebaliknya terjadi dimana TNF- α serta NF- κ B serta adesi leukosit meningkat.^{6,15} Oleh karena itu, XBPI memiliki fungsi yang sangat signifikan dalam mencegah reaksi inflamasi. XBPI akan sangat bermanfaat untuk digunakan sebagai strategi pencegahan DR pada penderita DMT2.



Gambar 2. XBPI sebagai Agen Anti Inflamasi

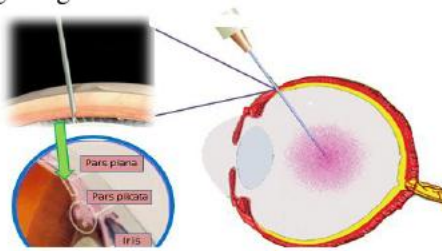
Mekanisme Konstruksi dan Administrasi X-Box Binding Protein 1 (XBPI)

Gen XBPI dapat diisolasi dari berbagai sel yang sudah dikondisikan stres retikulum endoplasma. Dari isolasi ini didapatkan gen XBPI dalam bentuk XBPI(u) yang selanjutnya diubah menjadi XBPI(s) agar dapat ditranskripsi di nukleus. Pemberian IRE1- α rekombinan ditambahkan bertujuan untuk memotong bagian intron XBPI(u) sehingga menjadi XBPI(s). Purifikasi dan suspensi dalam air kemudian dilakukan untuk mendapat XBPI(s) murni.^{17,18}

Proses pembentukan rekombinan adenovirus XBPI(s) diproduksi dengan mengadopsi teknik pembuatan insulin dengan teknik rekayasa genetika pada bakteri. cDNA dari XBPI(s) diinsersi ke dalam adenovirus vektor. Sebelum dijadikan vektor, genom adenovirus diubah dengan menghilangkan DNA virus tersebut. Selanjutnya cDNA XBPI yang terbentuk diinsersi ke dalam area genom virus tersebut sehingga terbentuk rekombinan adenovirus yang mengekspresi XBPI. Rekombinan yang terbentuk akan mampu mereplikasi diri menghasilkan jutaan kopi yang membawa XBPI di dalamnya.¹⁸

Jalur administrasi adenovirus yang mampu mengekspresi *ocular drug* menuju pembuluh darah retina yang telah terbukti secara laboratorik dapat digunakan sebagai penghantar obat adalah administrasi intravitreal dan periokular. Pada teknik injeksi periokular, koroid dan *blood retinal barrier* (BRB) menjadi halangan yang harus dilalui obat untuk menuju daerah posterior mata. Halangan ini menyebabkan durasi keberadaan obat pendek. Oleh karena itu sebagian besar pengiriman obat yang menuju ke area posterior mata dilakukan dengan teknik injeksi intravitreal.²⁰

Hingga saat ini, penelitian tentang jalur pentransferan yang paling efektif bagi XBPI ke dalam pembuluh darah retina dengan vektor adenovirus sebagai pencegahan diabetik retinopati masih terbatas. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zhang, dkk jalur administrasi XBPI ke pembuluh darah retina dilakukan melalui injeksi intravitreal.⁶ Kemungkinan munculnya komplikasi setelah pelaksanaan injeksi intravitreal biasanya terjadi kurang dari 1% sehingga jalur injeksi intravitreal tergolong aman.²¹

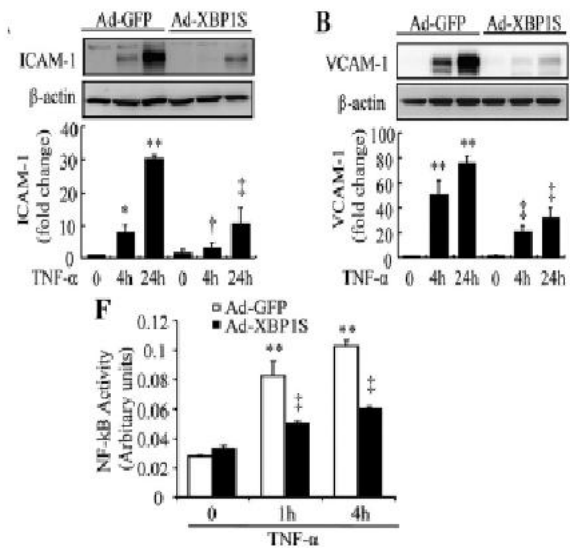


Gambar 3. Teknik Injeksi Intravitreal

Penelitian yang dilakukan Wang dkk, didukung dengan penelitian Zhang dkk. Dalam penelitiannya, administrasi melalui injeksi intravitreal merupakan cara paling efektif mengirim XBPI(s) ke pembuluh darah retina dalam menghambat neovaskuler pembuluh retina.²² Dengan diberikannya XBPI dapat menjadi strategi profilaksis terhadap diabetik retinopati pada penderita DM.

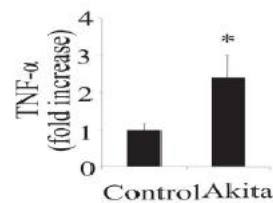
Analisis Manfaat Penggunaan X-Box Binding Protein 1 (XBPI)

Pemberian XBPI pada penderita diabetes melitus telah terbukti mampu mengurangi inflamasi di retina.²³ Penelitian Jingming dkk tahun 2010 menunjukkan terjadi penurunan ekspresi molekul adhesi ICAM-1 dan VCAM-1 pada tikus yang telah dikondisikan mengalami stres retikulum endolasma dengan tunicamycin selama satu hari pemberian XBPI. Selain itu pemberian XBPI juga dapat menurunkan aktivasi NF- κ B, salah satu proinflamasi pada diabetes retinopati, yang diinduksi oleh TNF- α .⁶



Gambar 4. Analisis dengan Western Bolt Menunjukkan Penurunan Ekspresi ICAM-1, VCAM-1, serta aktivasi NF- κ B ($0 < 0,001$)⁶

Penelitian yang dilakukan oleh Jingming dkk pada tahun 2009 menunjukkan terjadi peningkatan level TNF- α sebesar 2,4 kali lipat pada retina tikus Akita setelah 12 minggu berada pada kondisi hiperglikemi ($p < 0,005$). Hal ini menunjukkan peningkatan sitokin inflamasi TNF- α berperan penting dalam inflamasi retina yang mengarah pada diabetes retinopati. Dimana peningkatan TNF- α ini dapat menyebabkan kerusakan BRB dan kebocoran vaskular retina yang merupakan fase awal diabetes retinopati.⁹



Gambar 5 Analisis dengan Western Bolt Menunjukkan Peningkatan TNF- α pada Tikus Akita⁹

Studi biomolekuler yang dilakukan oleh Ozcan menyatakan aktivasi XBPI oleh IRE1 menginduksi ekspresi kaperon retikulum endolasma yang dapat mengurangi Stres retikulum endolasma dan mempertahankan kelangsungan hidup sel.²⁶ Penurunan regulasi XBPI

menginduksi peningkatan ekspresi molekul adhesi pada endotel retina. Hal ini menandakan XBP1 berperan penting dalam mempertahankan keadaan inflamasi rendah.^{6,26}

SIMPULAN

Mekanisme kerja XBP1 adalah mengatasi stres RE dengan meningkatkan ekspresi kaperon RE dan aktivasi gen-gen yang terlibat dalam ERAD serta agen antiinflamasi. Mekanisme konstruksi XBP1 dengan isolasi XBP1(u) dan dilanjutkan dengan mengubah menjadi XBP1(s). cDNA XBP1(s) ditranslokasi ke vektor adenovirus. Administrasi dilakukan dengan teknik injeksi intravitreal. Pemberian XBP1 mampu mengurangi ekspresi molekul adhesi ICAM-1, VCAM-1, dan NF- κ B, setelah satu hari diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- De La Cruz, J. P., Gonza 1ez-Correa, J. A., Guerrero, A., de la Cuesta, F. S. *Pharmacological Approach to Diabetic Retinopathy*. *Diabetes-Metab Res Rev*. 2004;20(2):91-113.
- Kowluru, Renu A., Chan, Pooi-See. 2007. *Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy*. *Experimental Diabetes Research*. 2007: 43603.
- T. Oshitari, N. Hata, S. Yamamoto. *Endoplasmic Reticulum Stress and Diabetic Retinopathy*. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4(1):115-22.
- Joussen, AM., Poulaki, V., Le, ML., Koizumi, K., Esser, C., Janicki, H., et al. *A Central Role for Inflammation in The Pathogenesis of Diabetic Retinopathy*. *FASEB J*. 2004;18:1450-2.
- Poulaki, V. Joussen, AM., Mitsiades, N., Mitsiades, C S. Iliaki, E F., Adamis, AP. *Insulin-Like Growth Factor-I Plays a Pathogenetic Role in Diabetic Retinopathy*. *Am J Pathol*. 2002;165(2):457-69.
- Zhang, S. X. Li, J., Wang, J.J. *Preconditioning with Endoplasmic Reticulum Stress Mitigates Retinal Endothelial Inflammation via Activation of X-box Binding Protein 1*. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2011;286(6):4912-21
- Zhang, S. X. Li, J., Wang, J.J., Yu, Q., Wang, M. *Endoplasmic Reticulum Stress is implicated in Retinal Inflammation and Diabetic Retinopathy*. *The Journal Of Biological Chemistry*. 2009;284(9): 1521-7.
- Leea, Ann-Hwee, Heidtmana, Keely, Hotamisligilc, Gökhan S., Glimcher, Laurie H. *Dual and Opposing Roles of The Unfolded Protein Response Regulated by IRE1a And XBP1 in Proinsulin Processing and Insulin Secretion*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(21):8885-90
- Madsen-Bouterse, S.A., Kowluru, R.A., *Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy: Pathophysiological Mechanisms and Treatment Perspectives*. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008;9(4):315-27.
- Kolattukudy, PE., Niu, J. *Inflammation, Endoplasmic Reticulum Stress, Autophagy, and the Monocyte Chemoattractant Protein-1/CCR2 Pathway*. 2012;110:174-89
- Marciniak, Stefan J., Ron, David. *Endoplasmic Reticulum Stress Signaling in Disease*. *Physiol Rev*. 2006;86: 1133-49
- Hu, Ping, Han, Zhang, et al. *Autocrine Tumor Necrosis Factor Alpha Links Endoplasmic Reticulum Stress to the Membrane Death Receptor Pathway through IRE1- α Mediated NF- κ B Activation and Down-Regulation of TRAF2 Expression*. *Molecular and Cellular Biology*. 2006;26(8): 3071-84
- Hu, Wei-Kun, Liu, Rong, Pei Han, Li, Bin. 2012. *Endoplasmic Reticulum Stress-Related Factors Protect against Diabetic Retinopathy*. *Experimental Diabetes Research*.
- Patel, Nishal. *Targeting Leukostasis for the Treatment of Early Diabetic Retinopathy*. *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets*. 2009;9:222-9
- Kazuhiro Kimura et al. *Delayed Disruption of Barrier Function in Cultured Human Corneal Epithelial Cells Induced by Tumor Necrosis Factor- α in a Manner Dependent*

- on *NF- κ B*. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008;49(2):565-72
16. Bayat, H., Xu, S., Pimentel, D., Cohen, R. A., and Jiang, B. *Activation of Thromboxane Receptor Upregulates Interleukin (IL)-1 β -Induced VCAM-1 Expression Through JNK Signaling*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:127-34
 17. Shinya, S., Kadokura, H., Imagawa, Y., Inoue, M., Yanagitani, K., Kohno, K. *Reconstitution and Characterization of The Unconventional Splicing of XBP1 α mRNA in Vitro*. *Nucleic Acids Research*. 2012;1-10
 18. Lee, A.H., Iwakoshi, N.N., Glimcher, L.H. *XBP-1 Regulates a Subset of Endoplasmic the Unfolded Protein Response Reticulum Resident Chaperone Genes*. *Mol. Cell Biol*. 2003;23(21):7448
 19. Gehlbach, P., Demetriades, AM., Yamamoto, S., Deering, T., Duh, EJ., Yang, HS., et al *Periocular Injection of an Adenoviral Vector Encoding Pigment Epithelium-Derived Factor Inhibits Choroidal Neovascularization*. *Gene Ther*. 2003;10(8):637-46.
 20. Busquets, Miguel. *Intravitreal Injections: Technique and Infection Prophylaxis*. *Medical Retina*. 2007;19-20.
 21. Li, J., Wang, J.J., Yu, Q., Zhang, S.X. *XBP1 Suppresses Pathological Retinal Neovascularization via Inhibition of Integrin β 3 and VEGF Pathways*. University of Oklahoma HSC, Oklahoma, OK.
 22. Zenga, L., Zampetaki, A., Margaritis, A., Pepe, AE., Alama, S., Martina, D., Xiaoa, Wang, W. *Sustained Activation of XBP1 Splicing Leads to Endothelial Apoptosis and Atherosclerosis Development in Response to Disturbed Flow*. *PNAS*. 2009;106(20):8326-8331
 23. Kern, Timothy S. 2007. *Contributions of Inflammatory Processes to the Development of the Early Stages of Diabetic Retinopathy*. *Experimental Diabetes Research*
 24. Ozcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, AH., Iwakoshi, NN., Ozdelen, E., Tuncman, G., Görgün, C., Glimcher, LH., Hotamisligil, GS. *Endoplasmic Reticulum Stress Links Obesity, Insulin action, and type 2 diabetes*. *Science*. 306(5695):457-61.

Potensi Teknologi *Microentrapment*-Hidrogel- 2Metoksiestradiol (MEH-2ME) sebagai Supresor *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) dalam Upaya Preventif dan Kuratif Penanganan Preeklamsia

*Felita Surya Rini, Putu Dian Pratita Lestari, I Gst Agung Dwi Mahasurya**
Faculty of Medicine Udayana University
Korespondensi: felitasr@gmail.com

ABSTRAK

Saat ini preeklamsia (PE) masih menjadi penyebab utama komplikasi kehamilan serta kematian pada ibu dan anak. Data WHO menunjukkan bahwa angka kejadian PE berkisar antara 5-15% dari seluruh kehamilan di dunia. Modalitas terapi PE saat ini hanya bersifat simptomatis dan belum mampu mencegah komplikasi yang ditimbulkan. Profilaksis yang tersedia pun masih dipertanyakan efektivitasnya. Patogenesis PE ditandai dengan invasi trofoblas yang dangkal sehingga menimbulkan kondisi hipoksia persisten yang menyebabkan peningkatan HIF-1 α . 2-ME merupakan metabolit estradiol yang mampu menghambat translasi HIF-1 α . Supresi terhadap HIF-1 α akan mencegah transkripsi gen yang diregulasi oleh HIF-1 α seperti ET-1, TGF- β 3, AT1-AA, SLFT-1 dan sENG yang berperan penting dalam PE. Sayangnya, 2ME memiliki waktu paruh yang singkat. Enkapsulasi pada hidrogel termodifikasi terhadap 2-ME mampu mempertahankan efek terapeutik 2-ME hingga 160 hari. Pasca administrasi, 2-ME mampu menurunkan level HIF-1 α , meningkatkan sifat invasif dan migrasi trofoblas yang dibutuhkan dalam perkembangan arteri uteroplasenta yang adekuat, serta menurunkan tekanan darah dan level albumin urin maternal. Melihat efek klinis yang sangat menjanjikan, kombinasi MEC-2ME dapat menjadi modalitas mutakhir dalam upaya preventif dan kuratif penanganan PE.

Kata Kunci : Preeklamsia, invasi trofoblas, tekanan darah, proteinuria

ABSTRACT

Today, preeclampsia is one of the most frequent cause of complication and death for mother and child. WHO showed that the prevalence of PE ranged between 5-15% among all pregnancy in the world. Nowadays, therapy modality of PE merely symptomatic and have not been able to prevent complications. The available prophylaxis is also still questionable. PE pathogenesis is marked by shallow trophoblast invasion causing persistent hypoxia condition that increase level of HIF-1 α . 2ME is estradiol metabolite working as an inhibitor of HIF-1 α translation. Suppression to HIF-1 α will inhibit gene transcription regulated by HIF-1 α like ET-1, TGF- β 3, AT1-AA, SLFT-1 dan sENG that play a mayor role in PE. Unfortunately, 2ME has a short half time. Hydrogel modified encapsulation to 2ME able to maintain therapeutic effect of 2ME as long as 160 days. After admnsitration, 2-ME able to suppress the level of HIF-1 α , promote invasive character and migration of trophoblast that is necessary for adequate uteroplacenta artery development, and suppress maternal blood pressure and urin albumin. By this promising clinical effect, combination MEC-2ME can be the latest modality in preventive and curative management of PE.

Keywords: Pre-eclampsia, trophoblast invasion, blood pressure, proteiunuria.

PENDAHULUAN

Angka Kematian Ibu (AKI) merupakan salah satu indikator yang menentukan derajat kesehatan masyarakat pada umumnya.¹ Oleh karena itu tidak heran apabila AKI menjadi salah satu target tujuan pembangunan millenium. Data statistik WHO menunjukkan AKI masih tergolong sangat tinggi. Pada tahun 2010, sebanyak 287 ribu wanita di dunia meninggal selama proses kehamilan dan persalinan.² Penyebab kematian ibu yang paling umum di Indonesia yaitu perdarahan (28%), preeklamsia (PE) dan eklamsia (24%), infeksi (11%), trauma obstetri (5%) dan lain-lain (11%).¹ Namun, berkat kemajuan bidang anestesi, teknik operasi, pemberian cairan infus dan transfusi, serta peranan antibiotik penyebab kematian ibu karena pendarahan dan infeksi dapat diturunkan. Sebaliknya pada PE, minimnya pengetahuan dan seringnya keterlambatan mencari pertolongan menimbulkan AKI akibat PE belum dapat diturunkan.³

Modalitas terapi PE saat ini hanya bersifat simptomatis dan lebih difokuskan dengan segera melahirkan bayi dan mengeluarkan plasenta bayi.⁴ Meskipun terapi yang telah ada saat ini mampu mengontrol kejadian kejang atau eklamsia, tetapi tingkat terjadinya komplikasi lanjut serta kelahiran awal atau komplikasi neonatus berupa prematuria masih belum bisa dihindari.⁵

Penelitian Soleymanlou dan kawan-kawan (2005) dan Rajakumar (2004) menunjukkan bahwa terdapat peningkatan level *hypoxia-inducible factor-1a* (HIF-1 α) pada plasma maternal yang mengalami PE.^{6,7} 2-Metoksiestradiol (2ME) merupakan komponen endogen dan metabolit nonpolar dari estradiol (E2) yang digenerasi dari 17-hidroksiestradiol via *catechol-Omethyl transferase* (COMT).⁸ Pada wanita normal konsentrasi 2ME akan meningkat selama kehamilan. Namun, berbagai penelitian menunjukkan bahwa

level 2ME mengalami penurunan pada PE.⁹

Berbagai penelitian terbaru menunjukkan administrasi 2ME pada penderita PE mampu meningkatkan sifat invasif dan migrasi trofoblas dalam membangun vaskularisasi arteri uteroplacenta yang adekuat yang pada tahap akhir menyebabkan resolusi PE ditandai dengan penurunan tekanan darah dan albumin urin maternal melalui supresi terhadap HIF-1 α .^{9,10} Melihat fungsi 2ME sebagai agen supresor HIF-1 α dan vasodilator serta sifat proangiogeniknya, maka administrasi 2ME pada ibu hamil yang beresiko serta ibu hamil dengan PE menjadi modalitas terapi yang menjanjikan.

Namun kelemahan utama 2ME adalah waktu paruhnya ($t_{1/2}$) yang pendek yakni berkisar 1-2 hari saja sehingga belum adekuat untuk dijadikan agen prevensi PE.⁹ Untuk mengatasi hal tersebut maka aplikasi teknologi biomateri hidrogel yang termodifikasi menjadi pilihan yang sangat potensial. Hidrogel termodifikasi merupakan teknologi terbaru yang mampu untuk mengatur pelepasan gradual berkelanjutan regimen yang dienkapsulasinya sampai dengan 160 hari.¹¹ Dengan dukungan tersebut, upaya meningkatkan kenyamanan dan kepatuhan pengguna microentrapment hidrogel (MEC)-2ME sebagai upaya preventif dan kuratif dalam menekan penyakit PE dapat ditingkatkan secara signifikan.

PEMBAHASAN

Preeklamsia (PE)

Preeklamsia (PE) adalah suatu kondisi medis yang menimbulkan hipertensi saat kehamilan (tekanan darah diastolik persisten ≥ 90 mmHg) serta proteinuria (≥ 300 miligram / 24 jam). PE terjadi pada umur gestasi di atas 20 minggu pada wanita yang sebelumnya normotensi.¹²

HIF-1 α menjadi kunci utama yang menghubungkan patogenesis PE. HIF-1

merupakan regulator utama respon selular terhadap kadar oksigen rendah dan berperan penting terhadap homeostasis oksigen.¹³ Pada keadaan normoksia, level HIF-1 α yang berlebihan akan didegradasi oleh PDH2 dan FIH-1. Namun, aktivitas PDH2 dan FIH-1 akan terhambat dalam keadaan oksigen rendah yang menyebabkan peningkatan level HIF-1 α pada hipoksia. Pada hipoksia, HIF-1 α akan memulai transkripsi berbagai gen yang berperan penting dalam patogenesis PE seperti transkripsi *endothelin-1* (ET-1), TGF- β 3, AT1-AA, SLFT-1 dan sENG.¹⁴

ET-1 merupakan vasokonstriktor endogen poten yang berpartisipasi dalam regulasi vascular tone pada PE.¹⁵ sFLT bertindak sebagai antagonis VEGF dan PIGF. Antagonis terhadap VEGF akan menghambat agen vasodilator seperti NO dan prostasiklin. Antagonis terhadap VEGF dan PIGF juga mengganggu angiogenesis plasenta serta menyebabkan hipertropi sel endokapiler.¹⁶ sENG merupakan antagonis agen vasodilator TGF- β 1 juga memperkuat potensial aksi sFLT. TGF- β 3 menghambat diferensiasi dan migrasi trofoblas,¹⁴ sedangkan AT1-AA menyebabkan peningkatan sFLT-1, sEng, ET-1, serta molekul stres oksidatif.¹⁷

Keseluruhan perjalanan penyakit diatas, jika ditelusuri lebih lanjut awalnya dimulai dari defisiensi *catechol-O-methyl transferase* (COMT), enzim yang mengubah 17-hidroksiestradiol menjadi 2ME, menyebabkan penurunan level 2ME. Secara fisiologis, 2 ME mampu menurunkan level HIF-1 α melalui inhibisi terhadap translasi HIF-1 α .¹⁴

2-Metoksiestradiol (2ME)

2-Metoksiestradiol (2ME)

merupakan komponen endogen dan metabolit nonpolar estradiol. 2ME dihasilkan *in vivo* oleh *catechol-O-methyl transferase* (COMT), enzim yang diekspresikan di jaringan plethora mamalia seperti liver, ginjal, otak, dan sel darah merah. Estradiol merupakan kelompok estrogen endogenus yang paling poten. Estrogen memberikan pengaruh pada

pertumbuhan, diferensiasi, serta fungsi dari target organ.⁸

Microentangment Hidrogel

Hidrogel merupakan makromolekul polimer hidrofilik dan memiliki daya difusi air yang tinggi. Bahan utama hidrogel merupakan molekul air dan sisanya terdiri dari polimer selulosa. Tingginya kadar air pada hidrogel menjadikan bahan ini baik dan cocok digunakan sebagai pelindung dan penetralisir pada jaringan lunak untuk meminimalisasi kerusakan dan trauma daripada jaringan lunak.¹⁸ Perakitan hidrogel dilakukan dalam temperatur ruangan sehingga menjadi kunci ketika berhadapan dengan protein yang terdenaturasi dalam temperatur tinggi. Selain itu, metode konstruksi dan preparasi hidrogel relatif sederhana dan mudah dilakukan. Hidrogel mampu untuk mengatur pelepasan gradual berkelanjutan regimen yang dienkapsulasinya sampai dengan 160 hari bulan.¹¹ Hidrogel dapat melindungi protein sehingga tetap dalam keadaan bioaktif dalam jangka waktu yang lama dan memungkinkan protein untuk tetap dalam bentuk asli.¹⁸

Mekanisme Kontruksi dan Administrasi MEH-2ME sebagai Modalitas Terapi Preventif dan Kuratif PE

Mekanisme Kontruksi MEH-2ME

Dalam mekanisme kontruksi MEH-2ME terlebih dahulu dilakukan tahap persiapan dari 2ME. Pertama kali dilakukan kultur sel dari 2ME pada matrigel (MG), lalu dicampurkan dengan 2-mm dari polidimetilsiloksan (PDMS).⁹ Agar nantinya partikel 2ME mampu spesifik bekerja pada plasenta, kultur sel dari 2ME dicampurkan dengan sel marker dari plasenta. Progenitor Endotel CD34⁺ dipilih untuk dicampur pada kultur 2ME karena sel yang mengekspresikan CD34⁺ umumnya ditemukan pada tali pusat dan sumsum tulang.¹⁹

Setelah dilakukan kultur sel dari 2ME dan sel marker plasenta (CD34⁺), dilanjutkan dengan mekanisme preparasi hidrogel termodifikasi yang dilakukan

dengan metode *ionotropic gelation cross-linking*. Metode ini dipilih karena mudah dilakukan dan tidak melibatkan penggunaan bahan kimia *cross-linker*, serta tidak menggunakan pelarut organik yang dapat mengubah stabilitas protein dan temperatur tinggi yang merusak struktur protein yang dibawa oleh hidrogel. Persiapan kontruksi hidrogel dilakukan dengan menggunakan sintesis dari bahan alami selulosa.²⁰ Selanjutnya, dilakukan homogenisasi 2ME dan hidrogel yang memiliki karakteristik berbeda. Hidrogel memiliki sifat hidrofilik sedangkan 2ME bersifat hidrofobik. Pertama, diawali dengan mempersiapkan dasar ionik gelasi hidrogel dengan adanya Sodium Tripolyphosphate (TPP) sebagai mediumnya. Setelah itu, medium hidrogel dicampurkan dengan material makrosiklik *host curcubit* [8] (CB[8]). Material ini nantinya mampu berperan sebagai taut silang untuk membentuk hidrogel sebagai pembawa 2ME yang bersifat hidrofobik.¹¹

Selanjutnya, kultur sel dari campuran 2ME dan sel marker plasenta CD34+ dengan konsentrasi masing-masing 10% dan 20% (w/w) ditambahkan pada larutan hidrogel termodifikasi secara terpisah untuk pembentukan nanopartikel yang akan dienkapsulasi. Setelah 10 menit, 0,9 g kalsium klorida ditambahkan ke suspensi kemudian diaduk selama 20 menit. Nanopartikel diisolasi dengan sentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 45 menit sehingga membentuk presipitasi. Presipitasi disuspensikan didalam distilasi ganda, lalu disentrifugasi dan dikeringkan pada suhu 37°C sehingga terbentuk *microentrapment-hidrogel-2ME* (MEH-2ME).¹¹

Mekanisme Administrasi *Microentrapment-Hidrogel-2-Metoksiestradiol*

Dengan mempertimbangkan alasan kenyamanan penggunaan, jalur oral menjadi pilihan utama administrasi MEH-2ME. Penelitian yang dilakukan oleh Erik dan kawan-kawan (2012) menunjukkan bahwa administrasi 2ME secara oral

mampu memberikan efek protektif bagi yang mengonsumsinya. Jalur lain tidak dipilih mengingat kerentanan daripada ibu hamil, dimana jika dipilih jalur intramuskular ataupun subkutan dapat memicu efek jera terhadap pasien karena terdapat saraf perasa sakit yang cukup banyak pada bagian tersebut.^{11,20,21}

Berdasarkan penelitian *invivo* yang telah dilakukan oleh Soo Boong Lee dan kawan-kawan (2010), dosis efektif yang digunakan pada tikus adalah 0.2 µg/kg, yang setelah dikonversikan menggunakan rumus Reagan Shaw didapatkan dosis efektif pada manusia sebesar 0.032 µg/kg yang diadministrasikan setiap empat bulan untuk mendapatkan efek preventif dan kuratif terhadap PE.^{9,11,22} Dosis ini dipilih karena mampu meningkatkan invasi dan migrasi trofoblas secara optimal dibandingkan dengan dosis lainnya. Selain itu, karena berasal dari bahan organik dan molekul air, administrasi dengan MEH-2ME tidak memberikan efek samping yang berbahaya.¹¹

Farmakokinetik dan Farmakodinamik MEH-2ME sebagai Modalitas Terapi Preventif dan Kuratif PE

Farmakokinetik MEH-2ME) sebagai Modalitas Terapi Preventif dan Kuratif PE

Didalam tubuh, mobilisasi estradiol diperantarai oleh transporter *ATP-binding cassette* (ABC) yang bertanggung jawab dalam mobilisasi estradiol.²⁵ MEH-2ME mengandung perpaduan antara 2-ME dengan sel marker CD 34+. Sel marker CD 34+ akan memandu MEH-2ME menuju uterus.¹⁹ Di tubuh, MEH-2ME akan dimetabolisme oleh UGT1A1 di duodenum, ileum, kolon, dan liver. Dengan proporsi rasio metabolisme terbanyak terjadi pada liver, kemudian pada duodenum. Hal ini disebabkan oleh pengaruh dari luas permukaan, *residence time* dari obat di organ, level ekspresi enzim, dan konsentrasi obat yang menentukan paparan obat kepada enzim. Metabolisme MEH-2ME dilakukan melalui tahapan *glucuronidation* di

hepar. Klirens hepatik dari MEH-2ME sebesar 712 ml/menit, separuh dari aliran darah hepatik. Jumlah ini sudah termasuk metabolisme estrogen fase I dan II yang telah dilaluinya. Nantinya, MEH-2ME akan dieskresikan melalui urin dimana 1% dari hasil metabolisme MEH-2ME berupa glukuronida ditemukan pada urin setelah administrasi oral 800 mg MEH-2ME.²⁴

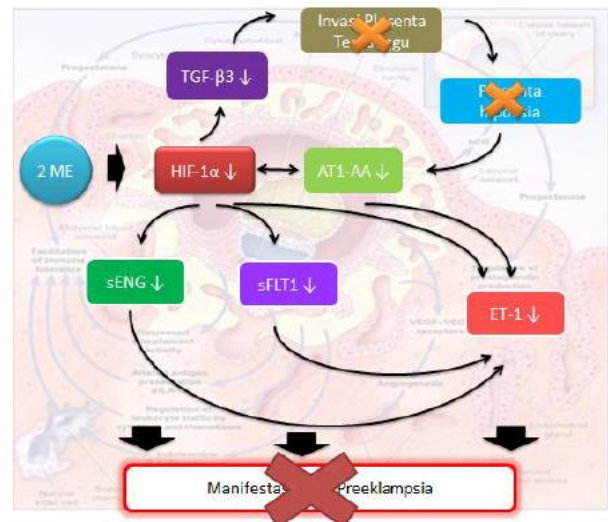
Farmakodinamik MEH-2ME sebagai Modalitas Terapi Preventif dan Kuratif PE

Mekanisme MEH-2ME dalam membantu invasi plasenta dilakukan dengan menurunkan ekspresi dari HIF-1 α pada sel sitotrofoblas.¹⁴ MEH-2ME menurunkan ekspresi HIF-1 α pada tahap pascatranslasi mitosis dengan mengganggu mikrotubul interfase.²⁵ Mekanisme ini diawali dengan interaksi antara MEH-2ME dengan situs pengikatan tubulin menyebabkan HIF-1 α tidak dapat berikatan dengan mikrotubul. Mikrotubul diperlukan oleh HIF-1 α untuk translasi mRNA serta transport protein HIF-1 α ke nukleus yang akan mengaktifkan gen-gen yang dapat memicu PE.^{8,25}

Terganggunya mikrotubul oleh MEH-2ME menyebabkan keluarnya mRNA HIF-1 α dari polisom dan menuju P-bodies. P-bodies merupakan lokasi represi translasi di sitoplasma. Gangguan pada mikrotubul akan meningkatkan jumlah dari P-bodies. Terhambatnya translasi dari HIF-1 α menyebabkan akumulasi mRNA HIF-1 α pada sitoplasma yang terus-menerus. Hal ini akan menyebabkan kerusakan pada translasi HIF-1 α . Represi translasi secara terus menerus akan menyebabkan terganggunya sintesis HIF-1 α .²⁵

Supresi terhadap HIF-1 α mencegah transkripsi gen yang diregulasi oleh HIF-1 α seperti ET-1, TGF- β 3, AT1-AA, SLFT-1 dan sENG yang penting dalam patogenesis PE.¹⁴ Downregulation dari TGF- β 3 meningkatkan diferensiasi dan invasi trofoblas. Supresi terhadap sFLT-1 akan meningkatkan VEGF dan PlGF yang merupakan agen pro-angiogenik dan vasodilator poten, sertamempertahankan

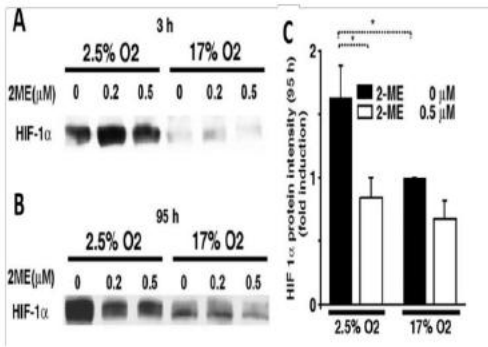
homeostasis glomerulus ginjal.¹⁶ Supresi terhadap sENG akan meningkatkan tekanan darah melalui aktivasi jalur eNOS oleh TGF- β 1.¹⁴ Downregulation AT1-AA akan menurunkan jumlah molekul stres oksidatif dan ikut mensupresi HIF-1 α dan mencegah hiperplasia dan hipertrofi sel otot polos vaskular.^{14,17} ET-1 merupakan vasokonstriktor poten sehingga inhibisi terhadap ET-1 akan menurunkan tekanan darah maternal.¹⁵



Gambar 1. Efek yang Ditimbulkan dari Penurunan HIF-1 α

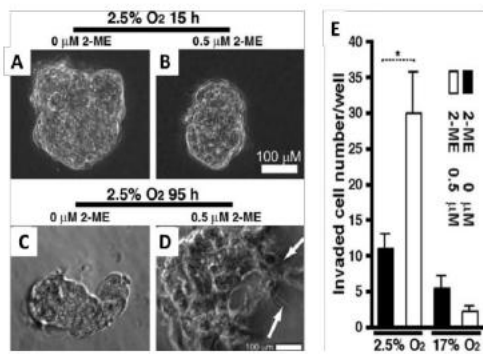
Efek Klinis Pascaadministrasi MEH-2ME) sebagai Modalitas Terapi PE

Penelitian Lee, dkk membuktikan efek 2-ME dalam mensupresi HIF-1 α . Sebanyak 0,2 dan 0,5 μ M 2-ME diadministrasikan terhadap sel trofoblas hipoksia secara invitro. Setelah 95 jam, sel trofoblas yang mendapat 2ME mengalami penurunan level HIF-1 α hingga 50% yang pada analisis *western blot* tampak sebagai blok yang memudar dibandingkan dengan kontrol.⁹



Gambar 2. Level HIF-1α mengalami penurunan pasca administrasi HIF-1α⁹

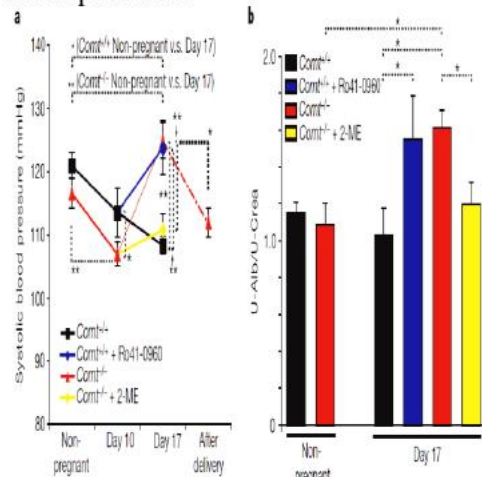
Administrasi 2-ME juga mampu meningkatkan sifat invasif dan kemampuan migrasi *trofoblas* sehingga memungkinkan untuk menciptakan sistem vaskularisasi plasenta yang adekuat.¹⁴ Administrasi 2-ME sebanyak 0,5 μM secara invitro selama 95 jam dalam konsentrasi oksigen 2,5% mengubah fenotip sel trofoblas dari non invasif menjadi invasif yang digambarkan dengan penjurulan dendrit yang memanjang hingga matrigel (MG). Selain itu, Pada keadaan hipoksia, 2-ME mampu meningkatkan jumlah sel trofoblas yang bermigrasi hingga 3 kali lipat dibandingkan tanpa 2-ME.⁹



Gambar 03.A-D) Peningkatan sifat invasif trofoblas pascaadministrasi HIF-1α; E) Hasil *hoyden chamber assay* dalam menilai migrasi trofoblas; $p < 0,05$ ⁹

Segala mekanisme pemulihan tersebut pada akhirnya berujung pada

resolusi PE. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan tekanan darah pasca administrasi 2 ng 2ME. Pada tikus hamil COMT^{-/-}, administrasi 2-ME berhasil mempertahankan tekanan darah maternal tetap normal hingga akhir kehamilan. Fakta ini mendukung fungsi 2-ME sebagai agen vasodilator. Administrasi 2ME juga mampu menurunkan proteinuria. Eksresi albumin urin tikus COMT^{-/-} yang mendapat 2 ng 2ME subkutan jauh lebih rendah dari kontrol bahkan mendekati normal. Fakta ini didukung hasil analisis histologi ginjal dimana tidak ditemukan lesi glomerular ultrastruktur seperti lepasnya sel endotel glomerular, pembengkakan, maupun vakuolisasi pada tikus yang mendapat 2-ME.¹⁰



Gambar 04. A) Tekanan darah sistolik sampel; B) *Colorimetric assay* urin albumin sampel¹⁰

SIMPULAN

Mekanisme kontruksi MEH-2ME menggunakan metode gelasi ionotropik silang. MEH-2ME diadministrasikan peroral dengan dosis potensial 0,032 μg/kg untuk 4 bulan terapi. MEH-2ME didistribusi oleh transporter ABC dan dimetabolisme di hepar. MEH-2ME memiliki sel marker CD34+ yang akan memandu MEH-2ME menuju uterin. Metabolisme MEH-2ME nantinya disekresi melalui urin. MEH-2ME bekerja secara efektif mencegah dan mengobati PE

melalui supresi terhadap HIF-1 α dengan cara menghambat translasi HIF-1 α . Supresi terhadap HIF-1 α akan mencegah transkripsi gen yang diregulasi oleh HIF-1 α seperti ET-1, TGF- β 3, AT1-AA, SLFT-1, dan sENG yang berperan penting dalam menyebabkan manifestasi klinis PE. MEH-2ME meningkatkan bioavailabilitas, waktu paruh, stabilisasi regimen, serta mempertahankan rilis dari 2ME. Efek terapi MEH-2ME berupa peningkatan proliferasi, sifat invasif, dan invasi trofoblas, penurunan tekanan darah maternal, penurunan kadar protein urin, dan membangun arteri uteroplasenta yang adekuat.

SARAN

Masih dibutuhkan evaluasi klinis terkait efektivitas kombinasi dan metode konstruksi MEH-2ME sehingga dapat menghasilkan efek klinis yang lebih bermakna. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pemilihan dosis kombinasi, lama terapi, dan efek buruk MEH-2ME terutama pada hewan coba yang lebih tinggi sehingga potensi MEH-2ME menjadi lebih aplikatif. Perlunya kerja sama seluruh komponen akademisi, pemerintah, dan masyarakat untuk dapat mengembangkan nanoteknologi khususnya hidrogel.

DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes RI. 2007. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
2. World Health Organization. 2010. *Maternal Health : Maternal Mortality Indicator and Maternal Mortality Ratio*. Report of WHO. URL: <http://www.who.int/healthinfo/statistics/indmaternalmortality/en/> [Akses : 20 Maret 2013]
3. Sibai, B., Dekker, G., dan Kupferminc, M. 2005. *Preeclampsia*. *The Lancet* 9461: 785–99.
4. Ghulmiyyah, L. dan Sibai, B. 2012. *Maternal mortality from preeclampsia/eclampsia*. *Seminars in Perinatology*. 36(1): 56–9.
5. Osungbade, O.K. dan Ige, O.K. 2011. *Public health perspectives of preeclampsia in developing countries: implication for health system strengthening*. *Journal of Pregnancy*, 58(81): 451-8.
6. Soleymanlou, N., Jurisica, I., Nevo, O., Ietta, F., dkk. 2005. *Molecular Evidence of Placental Hypoxia in Preeclampsia*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7):4299–308.
7. Rajakumar, A., Brandon, H.M., Daftary, A., Ness, R., Conrad, K.P. 2004. *Evidence for the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae*. *Placenta*, 25: 763–9.
8. Escuin, D., Kline, E.R., Giannakakou, P. 2012. *Both Microtubule-Stabilizing and Microtubule-Destabilizing Drugs Inhibit Hypoxia-Inducible Factor-1 Accumulation and Activity by Disrupting Microtubule Function*. *Cancer Res.*, 65:9021-8.
9. Lee, S.B., Wong, A.P., Kanasaki, K., dkk. 2010. *Preeclampsia: 2-methoxyestradiol induces cytotrofoblas invasion and vascular development specifically under hypoxic conditions*. *Am J Pathol*, 176(2):710–20.
10. Kanasaki, K, Palmsten K, Sugimoto H, dkk. 2008. *Deficiency in catechol-O-methyltransferase and 2-methoxyestradiol is associated with preeclampsia*. *Nature*, 453(7198):1117–21.
11. Appel, E.A., Loh, X.J., Jones, S.T., Dreiss, C.A., Scherman, O.A. 2012. *Release of Protein From High Water Content Supramolecular Polymer Hydrogels*. *Biomaterial Elsevier Journal*, 33: 4646-52
12. World Health Organization. *WHO recommendations for Prevention and treatment of pre-eclampsia and*

- eclampsia*. Geneva: WHO Press; 2011.
13. Semenza, G.L. *Life with Oxygen*. Science. 2007;318(5847):62-4.
 14. Tal, Reshef. *The Role of Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factor-1Alpha in Preeclampsia Pathogenesis*. Biology Of Reproduction. 2012;87(6):1341-8.
 15. Fiore, G., Florio, P., Micheli L. *Endothelin-1 Triggers Placental Oxidative Stress Pathways: Putative Role in Preeclampsia*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2005;90(7):4205-10.
 16. Maynard, S.E., Min, J.Y., Merchan, J., dkk. *Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia*. J Clin Invest. 2003;111(5):649-58.
 17. Herse, F. *Angiotensin II Type I Receptor Autoantibody (AT1-AA)-Mediated Pregnancy Hypertension*. American Journal of Reproductive Immunology. 2012;69:413-8.
 18. Efrizal. *The Effect Of Hydrogel Dressing Copolymer Poli(Vinylpirrolidone) (Pvp) - K-Carrageenan Prepared By Radiation And Healing Times On The Radius Reductions Burn Injured Of Wistar White Rat*. Indo. J. Chem. 2008;8(2):271-28.
 19. Furness, S.G., dan McNagny, K. *Beyond mere markers: functions for CD34 family of sialomucins in hematopoiesis*. Immunol. Res. 2006;34(1):13-32.
 20. Peng Ke, dkk. *Cyclodextrin-Dextran Based In Situ Hydrogel Formation: A Carrier For Hydrophobic Drugs*. Soft Matter. 2010;6:85-7.
 21. Chen MC, dkk. *A nanoscale drug-entrapment strategy for hydrogel based system for the delivery of poorly soluble drug*. Biomaterials. 2009;30:2010-11.
 22. Reagan-Shaw, S, Nihal, M., Ahmad, N. *Dose translation from animal to human studies revisited*. Epub. 2008;22(3):659-61.
 23. Schinkel AH, Jonker JW. *Mammalian Drug Efflux Transporters of the ATP Binding Cassette (ABC) Family: an Overview*. Adv Drug Deliv Rev. 2003;55:3-29.
 24. Lakhani NJ, Sparreboom A, Xu X, Veenstra TD, Venitz J, Dahut WL, Figg WD. *Characterization of in Vitro and in Vivo Metabolic Pathways of the Investigational Anticancer Agent, 2-Methoxyestradiol*. J Pharm Sci. 2007;96:1821-31.
 25. Marisa C, Aurora O'Brate, Paraskevi G. *Microtubule disruption targets HIF-1α mRNA to cytoplasmic P-bodies for translational repression*. J. Cell Biol. 2011;192:183-99.

Analisis Potensi Curcumin Kunyit (*Curcuma longa*) Sebagai Agen Neuroprotektor, Antiinflamasi, dan

Antioksidan: Inovasi Pengembangan Terapi yang Efektif pada Penderita Alzheimer

Surya Wijaya,* Muthmainnah Arifin*

Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Korespondensi: suryawijaya_102@yahoo.com

ABSTRAK

Alzheimer merupakan gangguan demensia yang paling sering dialami oleh penduduk di seluruh dunia. Alzheimer tidak hanya menyumbang angka komplikasi, kecacatan, dan kematian yang cukup tinggi, namun penyakit ini juga berimplikasi pada aspek psikiatri dan ekonomi. Sayangnya, hingga saat ini belum ada penatalaksanaan medis yang mampu untuk mengobati Alzheimer secara efektif. Salah satu tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai terapi Alzheimer adalah kunyit (*Curcuma longa*) dengan komponen utamanya berupa curcumin. Tujuan penulisan karya tulis ini adalah untuk mengetahui mekanisme kerja dan potensi aplikasi curcumin kunyit sebagai terapi bagi penderita Alzheimer. Metode pengumpulan data karya tulis ini adalah dengan melakukan studi literatur, sedangkan metode analisis data dengan cara induktif.

Curcumin dapat berpotensi sebagai penatalaksanaan Alzheimer karena berfungsi sebagai agen neuroprotektor dengan menghambat siklus pembentukan protein β -amiloid dan protein tau, menurunkan aktivitas β -secretase dan asetilkolinesterase, serta antidislipidemia. Curcumin juga berperan sebagai antiinflamasi melalui efek inhibisi aktivitas NF- κ B, COX-2, lipooksigenase, AP-1, iNOS dan Egr-1. Selain kedua efek itu, curcumin berpotensi sebagai agen antioksidan dengan menurunkan aktivitas lipid peroksidase, jumlah ROS, dan stress oksidatif yang diinduksi oleh homosistein. Hal ini menunjukkan bahwa curcumin kunyit memiliki potensi kuat untuk dikembangkan lebih lanjut menjadi alternatif terapi Alzheimer.

Kata kunci: Alzheimer, antiinflamasi, curcumin, kunyit, neuroprotektor

ABSTRACT

Alzheimer is the most common type of dementia disorders affecting people all over the world. Alzheimer not only contribute to complications, disability, and high mortality rate, but also has implications in psychiatry and economic aspects. Unfortunately, until now there is no medical management to treat Alzheimer effectively. One of the herbs that is used as Alzheimer therapy is turmeric (*Curcuma longa*) with its main components, curcumin. The aim of paper writing is to investigate the mechanism and potential applications of turmeric's curcumin as innovative therapy for Alzheimer patient. Data collection methods is literature study, whereas data analysis method is inductive.

Curcumin has potential as management modality of Alzheimer because it serves as a neuroprotective agent by inhibiting the formation protein β -amyloid and tau protein cycle, decreasing the activity of β -secretase and acetylcholinesterase, and antidislipidemia. Curcumin also acts as an anti-inflammatory agent through inhibition of NF- κ B activity, COX-2, lipooxygenase, AP-1, iNOS, and Egr-1. In addition to these two effects, curcumin also has potential as an antioxidant agent through lowering activity of peroxidase, reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress induced by homocysteine. This suggests that turmeric's curcumin has strong potential for further development into alternative Alzheimer therapies.

Keywords: Alzheimer, anti-inflammatory, curcumin, turmeric

PENDAHULUAN

Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif yang ditandai oleh penurunan memori dan kognitif, gangguan dalam melakukan aktivitas sehari-hari, serta gangguan perilaku dan neuropsikiatri.¹ Keadaan ini ditunjukkan dengan kemunduran fungsi intelektual dan emosional secara progresif dan perlahan sehingga mengganggu kegiatan sosial sehari-hari.²

Penyakit Alzheimer merupakan gangguan demensia yang paling sering terjadi di berbagai negara dunia. Organisasi Alzheimer Internasional mencatat sekitar 4,6 juta kasus demensia baru dilaporkan di dunia tahun 2001 atau muncul tujuh kasus barusetiap tujuh detik. Pada tahun 2050, jumlah penderita demensia diperkirakan mencapai 100 juta orang di dunia.³ Berbagai penelitian menunjukkan laju insidensi penyakit Alzheimer meningkat secara eksponensial seiring dengan bertambahnya umur dan mencapai 20-40% populasi yang berusia 85 tahun atau lebih.⁴

Prevalensi penyakit Alzheimer juga cukup tinggi di negara Asia Pasifik, termasuk di Indonesia. Pada tahun 2005 penderita demensia di kawasan Asia Pasifik berjumlah 13,7 juta orang. Kejadian demensia di Indonesia pada tahun 2005 yaitu 606.100 orang. Angka ini diperkirakan akan terus meningkat seiring dengan peningkatan usia harapan hidup.⁵

Alzheimer menyebabkan angka kecacatan (morbiditas) yang cukup tinggi karena, seiring dengan berkembangnya penyakit, pasien Alzheimer akan mengalami disabilitas berat. Kemampuan pasien menjadi terbatas dan tidak mampu untuk mengurus kebutuhan dasar mereka atau untuk mengenali anggota keluarganya sehingga mereka sangat tergantung pada orang lain.⁶ Penderita Alzheimer sering mengalami disorientasi sehingga mereka mudah jatuh yang mengakibatkan fraktur tulang.⁷

Angka kematian pada Alzheimer pun cukup tinggi. Alzheimer merupakan

penyebab kematian ke-9 di Amerika Serikat. Kematian akibat Alzheimer meningkat 32,8% dari tahun 2000 sampai tahun 2004, sedangkan penyebab kematian karena semua jenis demensia meningkat dari 49.558 kematian pada tahun 2000 menjadi 65.829 kematian pada tahun 2004. Sebaliknya, kematian karena penyakit jantung koroner, kanker payudara, kanker prostat, dan stroke mengalami penurunan pada periode yang sama.^{5,5}

Penyakit Alzheimer tidak hanya berimplikasi secara medis, namun juga pada aspek ekonomi. Biaya yang dikeluarkan oleh pemerintah Amerika Serikat untuk mengatasi penyakit ini sangat besar, diperkirakan antara US\$ 83,9-100 milyar dolar per tahun. Biaya yang diperkirakan ini, termasuk biaya perawatan akibat hilangnya produktivitas kerja (*caregivers fee*), biaya tekanan jiwa untuk anggota keluarga pasien akibat masalah-masalah kesehatan, perawatan di rumah (*homecare*), dan perawatan jangka panjang (*long term care*).⁴

Permasalahan penyakit Alzheimer saat ini terkait terapi Alzheimer yang ada saat ini. Terapi farmakologis Alzheimer berupa obat penghambat kolinesterase, estrogen, antioksidan, dan obat anti-inflamasiasih memiliki keterbatasan dan masih terdapat efek samping.

Saat ini memang obat penghambat kolinesterase masih menjadi pilihan terapi untuk pasien. Namun, obat ini masih memiliki keterbatasan berupa harga yang relatif mahal dan toksisitas yang cukup banyak, seperti muntah, diare, muntah, insomnia, fatigue, keram, toksisitas hepar, dan gejala gastrointestinal.^{2,4}

Penelitian observasional prospektif memberi kesan efek protektif terapi sulih hormon estrogen. Namun, kecemasan terhadap adanya risiko kanker pada pemakaian estrogen masih mengganggu. Selain itu, harganya mahal dan data saat ini masih dianggap kurang cukup masih menjadi kendala untuk merekomendasikan terapi sulih hormon bagi terapi Alzheimer.^{2,4}

Antioksidan pun dilaporkan mempunyai khasiat, tetapi harganya mahal dan membutuhkan penelitian lebih lanjut.² Terapi lainnya, seperti obat anti-inflamasi non-steroid (OAINS) memiliki khasiat ringan terhadap perbaikan memori. Namun, saat ini penggunaan OAINS tidak dapat direkomendasikan bagi Alzheimer karena bukti khasiatnya belum memadai dan tidak langsung, sementara toksisitas obat ini cukup besar, meliputi toksisitas pada saluran pencernaan, hati, dan ginjal.^{8,9}

Secara keseluruhan, terapi Alzheimer di atas belum mampu secara efektif dan efisien menangani penyakit Alzheimer. Oleh karena itu, perlu penatalaksanaan multifungsi dengan keefektifan yang tinggi dan efek samping yang minimal sebagai terapi pilihan Alzheimer.

Indonesia memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies di antaranya termasuk tumbuhan berkhasiat (180 spesies telah dimanfaatkan oleh industri jamu tradisional) merupakan potensi pasar obat herbal dan fitofarmaka. Kemandirian bangsa Indonesia yang kaya akan bahan obat tradisional mendorong masyarakat untuk memanfaatkan program *back to nature* sebagai pengobatan herbal alternatif.¹⁰ Salah satu tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai terapi Alzheimer adalah kunyit (*Curcuma longa*).

Curcumin dalam kunyit berperan sebagai *multiple agent*, yaitu agen neuroprotektor, antioksidan, antiinflamasi, dan antikoagulan, serta dapat menembus sawar darah-otak sehingga dapat mencapai konsentrasi puncak yang cukup signifikan. Keempat potensi yang dimiliki curcumin, membuat curcumin dalam kunyit dapat dijadikan terapi multifungsi pada alzheimer.^{9,11-13}

Curcumin dapat berperan sebagai agen neuroprotektor karena berperan sebagai antiagregasi A β , inhibitor β -secretase serta penghambat pembentukan protein tau, dan aktivitas asetilkolinesterase.^{11,12} Curcumin terbukti memiliki efek antiinflamasi dengan

menghambat aktivitas NF-kB, siklooksigenase-2 (COX-2) dan lipooksigenase yang terlibat dalam proses sintesis zat-zat pro-inflamasi.⁹ Curcumin juga berfungsi sebagai antioksidan karena menghambat aktivitas lipid peroksidase dan jumlah spesies oksigen reaktif (ROS), menurunkan stress oksidatif yang diinduksi homosistein, serta mengurangi jumlah kalsium interseluler dan hiperfosforilasi protein tau.^{11,13}

Kombinasi dari berbagai mekanisme kerja ini dapat memberikan efek perbaikan fungsi kognitif dan perilaku pada pasien Alzheimer. Selain itu, curcumin terbukti aman untuk dikonsumsi karena tidak dijumpai toksisitas atau toksisitas yang minimal pada penelitian binatang maupun manusia.¹⁰

Curcumin diduga memiliki potensi untuk digunakan sebagai terapi yang efektif dengan efek samping yang minimal pada penderita alzheimer. Oleh karena itu, perlu dikaji lebih lanjut mengenai mekanisme kerja dan potensi tersebut dengan menggagas karya tulis yang berjudul "**Analisis Potensi Curcumin Kunyit (*Curcuma longa*) sebagai Agen Neuroprotektor, Antiinflamasi, dan Antioksidan: Inovasi Pengembangan Terapi yang Efektif pada Penderita Alzheimer**".

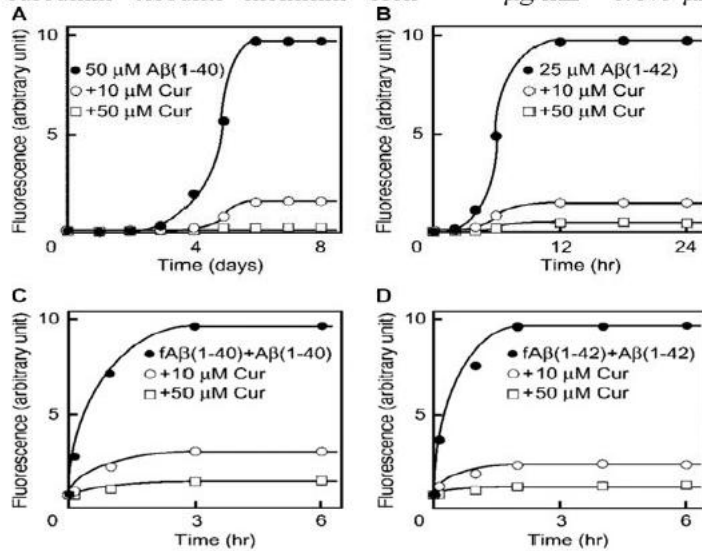
PEMBAHASAN

Potensi Curcumin sebagai Agen Neuroprotektor pada Pasien Alzheimer

Curcumin berperan sebagai neuroprotektor karena berperan dalam siklus pembentukan protein β -amiloid (A β). Curcumin dapat berperan sebagai antiagregasi A β karena curcumin menghambat pembentukan fibriler A β yang berasal dari A β 40 dan A β 42 dan mengganggu stabilisasi fibril A β yang belum terbentuk (EC₅₀ = 0,19-0,63 μ M).^{11,14} Curcumin pun terbukti secara in vivo dan in vitro dapat mencegah pembentukan dan mengurangi toksisitas oligomer A β 42 pada masing-masing konsentrasi 13,6 μ mol/g dan 0,1-1,0 μ M

dengan $IC_{50} = 361.11 \pm 38.91 \mu M$.^{15,16} Selain itu, dalam sebuah percobaan in vitro, curcumin terbukti memiliki efek

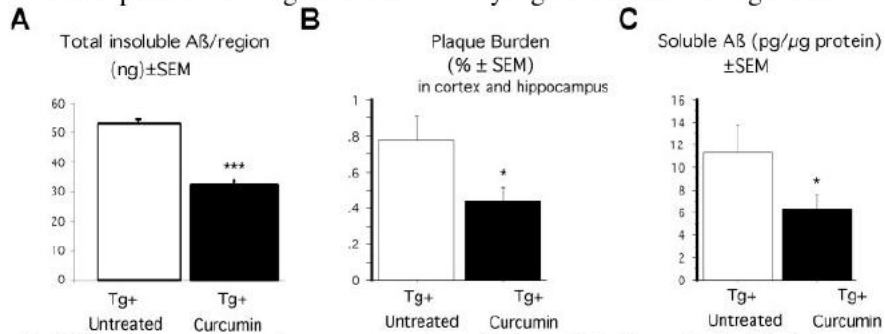
inhibisi terkuat jika dibandingkan dengan 214 komponen lain dengan $IC_{50} = 0.25 \mu g/mL = 0.679 \mu M$.¹⁷



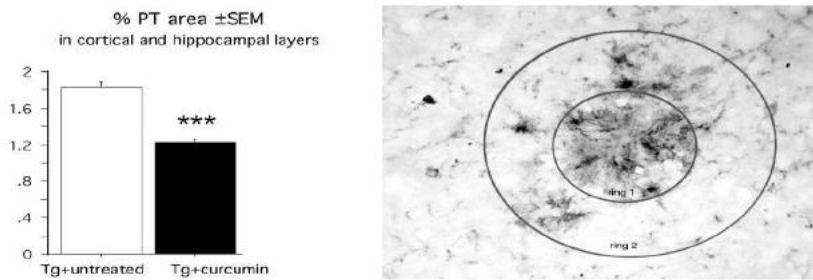
Gambar 1. Efek Inhibisi Curcumin pada (A & B) Pembentukan Fibril Protein Aβ40 dan Aβ40 (C & D) Agregrasi Fibril Protein Aβ40 dan Aβ40.¹¹

Curcumin memiliki efek inhibisi β -secretase karena curcumin menurunkan ekspresi enzim yang berperan dalam pembentukan Aβ, yaitu β -secretase dan β -site APP-cleaving enzyme 1 (BACE-1). Kedua enzim ini berperan dalam pemecahan molekul protein prekursor Aβ yang berperan dalam pembentukan protein Aβ.¹¹ Pada suatu penelitian dengan kultur

sel neuron, 3–30 μM curcumin terbukti menurunkan upregulasi BACE-1 sekaligus menurunkan ekspresi mRNA protein prekursor Aβ dan BACE-1.¹⁸ Penelitian lain juga menemukan bahwa 1–30 μM curcumin mengurangi produksi Aβ yang diinduksi oleh spesies oksigen reaktif dan 20 μM mencegah perubahan struktur Aβ yang bersifat toksik bagi otak.¹⁹



Gambar 2. Efek Curcumin dalam menurunkan (A) protein β -amiloid tidak larut total; (B) plak amiloid; (C) protein β -amiloid larut.⁹



Gambar 3. Perbandingan Efek Pemberian Curcumin terhadap Plak Mikroglia; kanan penurunan plak mikroglial pada lapisan membran dalam dan lapisan membran dalam (lapisan kortikal dan hipokampus); kiri ring 1= tanpa pemberian curcumin; ring 2 = pemberian curcumin⁹

Kombinasi kedua efek di atas mengurangi kerusakan oksidatif dan kehilangan sinaptofisin yang disebabkan oleh deposit protein A β dan meningkatkan proteksi terhadap mikroglial pada struktur yang berdekatan dengan deposisi protein A β . Hal ini yang selanjutnya mengurangi defisit memori spasial pada penderita Alzheimer.¹¹

Tidak hanya berperan dalam siklus pembentukan protein A β , curcumin juga mempengaruhi pembentukan protein tau dan aktivitas asetilkolinesterase. Curcumin terbukti dapat menurunkan protein tau terfosforilasi pada membran neuron hipokampus karena menurunkan ekspresi kinase terminal c-Jun-N dan substrat reseptor insulin-1 (IRS-1) terfosforilasi.^{19,20} Hal ini menyebabkan perbaikan perilaku pada penyandang Alzheimer. Selain itu, curcumin terbukti menghambat aktivitas asetilkolinesterase (AChE) secara in vitro dengan IC₅₀ = 67.69 μ M.²¹

Curcumin memperbaiki profil lipid dengan memodifikasi kadar lipid peroksidase serum, kolesterol HDL, dan kadar serum kolesterol total. Pada sebuah penelitian, pemberian 500 mg curcumin selama 7 hari terbukti menurunkan kadar kolesterol karena meningkatkan aktivitas kolesterol-7 α -hidroklase dan meningkatkan katabolisme kolesterol melalui mobilisasi α -tocopherol dari jaringan lemak serta peningkatan transpor kolesterol LDL dan VLDL dalam

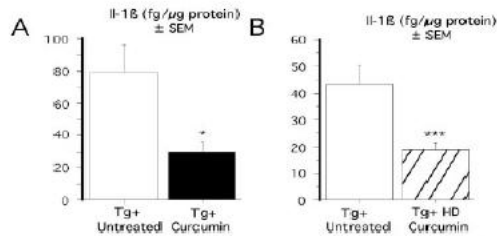
plasma.¹² Data dari penelitian pada sepuluh sukarelawan sehat yang diberi 500 mg curcumin selama 7 hari menghasilkan penurunan bermakna kadar lipid peroksidase serum (33%), peningkatan kolesterol HDL (29%), dan penurunan kadar serum kolesterol total (12%).¹⁰ Perbaikan profil ini berkorelasi positif dengan penghambatan deposisi protein β -amiloid dan progresivitas penyakit pada pasien Alzheimer.¹²

Potensi Curcumin sebagai Antiinflamasi pada Pasien Alzheimer

Curcumin terbukti memiliki efek antiinflamasi yang berperan penting dalam patogenesis Alzheimer. Curcumin dapat menghambat aktivitas NF- κ B, COX-2, dan lipooksigenase yang terlibat dalam proses sintesis zat-zat pro-inflamasi, seperti leukotrin, prostaglandin, dan tromboksan.¹² Aktivitas inhibisi terhadap tromboksan A-2 juga sekaligus menghambat agregasi platelet yang mencegah faktor risiko dan perburukan Alzheimer akibat gangguan vaskularisasi pada otak.^{10,12} Aktivitas antiinflamasi curcumin pun setara dengan obat antiinflamasi steroid dan nonsteroid, seperti indometasin dan fenilbutazon.¹²

Curcumin terbukti menghambat transkripsi yang diperantarai oleh protein aktivasi-1 (AP-1) secara in vitro dan menekan aktivitas *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) pada makrofag yang teraktivasi yang selanjutnya akan menekan produksi sitokin yang menginduksi

inflamasi.^{9,11} Suatu penelitian dengan menggunakan sel PBM dan THP-1 melaporkan bahwa curcumin (12,5-25 μM) menekan *early growth response-1* (Egr-1), yang selanjutnya menurunkan ekspresi sitokin (TNF- α dan IL-1 β) dan kemokin (MIP-1 β , MCP-1, dan IL-8).^{9,22}



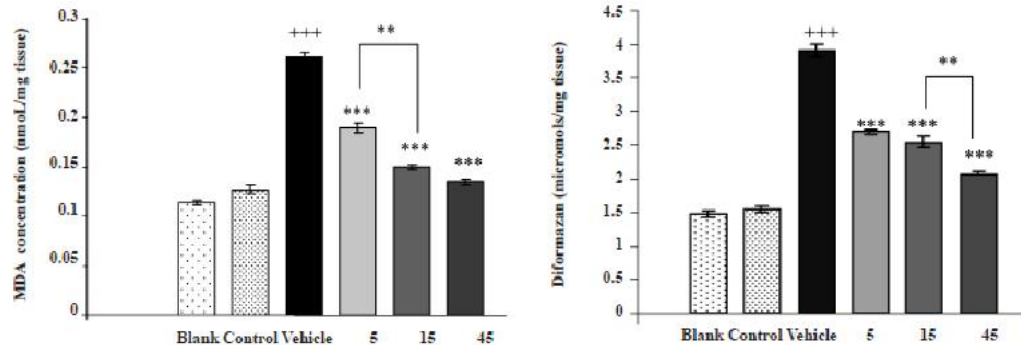
Gambar 4. Efek (a) Curcumin dosis rendah dan (b) Curcumin dosis tinggi terhadap Penurunan Kadar IL-1 β ⁹

Potensi Curcumin sebagai Antioksidan pada Pasien Alzheimer

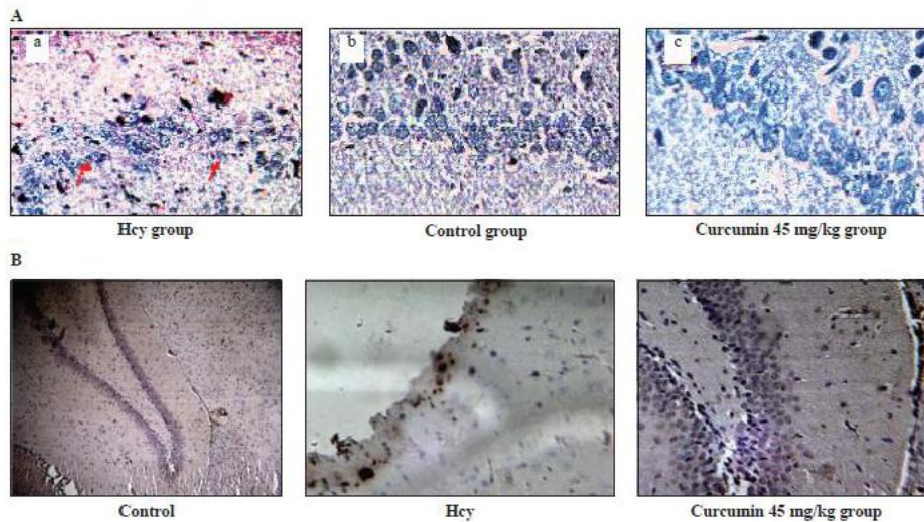
Terdapat hubungan antara kerusakan oksidatif dengan perkembangan penyakit Alzheimer. Peningkatan berbagai kadar molekul organik dalam bentuk teroksidasi (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat) dijumpai pada otak, cairan

serebrospinal, darah, dan/atau urin pasien Alzheimer.¹² Curcumin mencegah kerusakan DNA fibroblas pada tikus dengan menghambat aktivitas lipid peroksidase dan jumlah spesies oksigen reaktif (ROS) serta mengurangi jumlah kalsium interseluler dan hiperfosforilasi protein tau. Curcumin juga dilaporkan melindungi sel PC12 ($\text{ED}_{50} = 7,1 \mu\text{g/mL}$) dan sel endotel vena umbilicalis manusia ($\text{ED}_{50} = 6,8 \mu\text{g/mL}$) dari oksidan.⁴³ Bahkan, curcumin terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang lebih poten dibandingkan dengan *alfa-tocopherol* dalam menurunkan jumlah kation radikal.¹²

Curcumin juga menurunkan stress oksidatif yang diinduksi oleh homosistein dengan menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dan anion superoksida (SOA) serta meningkatkan ekspresi enzim antioksidan, seperti glutation peroksidase (GSH-Px) dan superoksida dismutase (SOD). Kedua efek ini mengurangi neuro-toksitas homosistein, mengurangi apoptosis neuron hipokampus, dan memperbaiki defisit memori.^{10,13}



Gambar 5. Efek Berbagai Konsentrasi Curcumin terhadap Penurunan Konsentrasi Malondialdehid (kiri) dan Diformazan, Anion Superoksida (kanan).¹³



Gambar 6. Perbandingan Struktur Girus Dentat Hipokampus pada Kontrol dan Pasien dengan Homosisteinemia tanpa dan dengan Pemberian Curcumin (A) Pengecatan Hematoksilin dan Eosin; (B) Pengecatan imunohistokimia.¹³

Analisis Potensi dan Toksisitas Curcumin Kunyit (*Curcuma Longa*) sebagai Terapi Alzheimer

Di Indonesia, kunyit merupakan salah satu tanaman rempah dan obat asli dari wilayah Asia Tenggara. Khasiat fitofarmaka kunyit di atas telah terbukti secara klinis, baik in vivo maupun in vitro. Bahkan, khasiat curcumin kunyit telah mendapat pengakuan dari *World Health Organization* dan beberapa organisasi lainnya, seperti *Food and Drug Administration (FDA)* di Amerika.²³ Pada Alzheimer, curcumin kunyit (*Curcuma longa*) dapat berpotensi sebagai modalitas terapi karena curcumin dapat menembus sawar darah-otak dengan konsentrasi yang cukup tinggi ($4,04 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$), waktu paruh cukup panjang ($9,2 \pm 1,84$ menit), dan menetap hingga waktu yang cukup lama ($20,4 \pm 0,95$ menit), serta mampu berikatan dengan plak amiloid di otak, dan memperbaiki patologi yang ditimbulkan oleh plak amiloid dan kesusutan neurofibriler.²⁴

Selain fitofarmaka, toksisitas suatu zat menjadi salah satu hal yang diperhitungkan dalam pembuatan suatu obat menggunakan zat tersebut. Banyak dari zat-zat kimiawi yang memiliki potensi

untuk digunakan sebagai modalitas terapi, namun tidak dapat diproduksi dan digunakan pada manusia karena memiliki toksisitas yang tinggi pada dosis efektifnya.²⁵

Curcumin terbukti aman untuk dikonsumsi karena tidak dijumpai toksisitas atau toksisitas yang minimal pada penelitian binatang maupun manusia. Monyet dan tikus yang masing-masing diberi 0,8 mg/kgBB kurkumin/hari dan 1,8 mg/kgBB kurkumin/hari tidak menunjukkan efek samping. FDA pun mengklasifikasikan curcumin sebagai zat dengan predikat *Generally Recognized as Safe (GRAS)*. Tidak ditemukan efek samping pada pasien artritis rematoid yang diberi 1.200 mg/hari kurkumin selama 2 minggu dan tidak ada efek toksik setelah pemberian oral 8.000 mg kunyit (setara dengan 655 mg curcumin) per hari selama 4 bulan.¹⁰

Suatu penelitian klinis pada manusia menggunakan curcumin, kandungan fitofarmaka terpenting dalam kunyit dosis tinggi (8-12 gram) menunjukkan sedikit efek samping, antara lain diare dan mual. Akhir-akhir ini, curcumin dilaporkan menyebabkan anemia defisiensi besi. Tidak ada bukti

yang jelas mengenai efek curcumin pada ibu hamil, tetapi pada percobaan tikus dan babi terbukti tidak ada efek samping obstetri, baik kecepatan lahir maupun jumlah embrio yang lahir atau mati.⁴⁶ Namun, penggunaan pada kehamilan dan menyusui harus dengan pengawasan dokter karena pemberian dosis tinggi dapat menimbulkan gejala mual.¹⁰

Manusia bisa menoleransi curcumin dengan dosis tinggi tanpa efek samping yang signifikan dibandingkan dengan tikus, yang diakibatkan adanya perbedaan metabolisme pada manusia dibandingkan pada tikus yang lebih rentan. Walaupun demikian, pemakaian curcumin dikontraindikasikan pada pasien obstruksi saluran empedu, kolesistitis, dan hipersensitivitas serta perlu diwaspadai jika penggunaannya bersamaan dengan antikoagulan, antiplatelet, heparin, dan agen trombolitik karena meningkatkan risiko perdarahan.¹⁰

Ketersediaan bahan baku menjadi faktor utama yang berperan penting dalam produksi obat-obatan. Bahan baku yang tidak memadai akan menyebabkan produksi obat tidak dapat memenuhi kebutuhan pasien terhadap obat tersebut dan mengakibatkan harga obat menjadi sangat tinggi.²⁵ Salah satu sumber utama curcumin yang cukup tinggi, yaitu kunyit (*Curcuma longa*). Kunyit mengandung kadar curcuminoid 3-8%.²³

Kunyit merupakan tumbuhan yang sangat mudah tumbuh di daerah tropis pada wilayah dataran rendah hingga ketinggian 2.000 m di atas permukaan laut. Hal ini menjadikan kunyit sangat mudah untuk dibudidayakan di Indonesia yang merupakan negara dengan iklim tropis dengan intensitas cahaya matahari penuh dan curah hujan lebih 1.000 mm/tahun sepanjang tahun serta tanah yang subur. Saat ini saja di Indonesia, sentral penanaman kunyit di Jawa Tengah menghasilkan produksi mencapai 12.323 kg/ha. Hal diperkuat dengan harga yang relatif murah.²⁶

KESIMPULAN

Curcumin kunyit (*Curcuma longa*) dapat berpotensi sebagai terapi multi fungsi Alzheimer melalui 3 mekanisme utama yaitu: (1) sebagai agen neuroprotektordengan menghambat siklus pembentukan protein β -amiloid dan protein tau, menurunkan aktivitas β -secretase dan asetikolinesterase, dan antidislipidemia; (2) sebagai antiinflamasi melalui efek inhibisi aktivitas NF-kB, COX-2, lipooksigenase, AP-1, iNOS dan Egr-1; (3) sebagai agen antioksidan dengan menurunkan aktivitas lipid peroksidase, jumlah spesies oksigen reaktif (ROS), dan stress oksidatif yang diinduksi oleh homosistein melalui penghambatan aktivitas MDA dan SOA serta peningkatan ekspresi enzim antioksidan.

SARAN

Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menentukan dosis terapi dan cara pemberian curcumin yang efektif dan aman untuk digunakan pada manusia, khususnya pada pasien Alzheimer.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cummings JL. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2004;351:56-67.
2. Lumbantobing, SM. Penyakit Alzheimer. Dalam: Neurogeriatri. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2004. p.74-82.
3. Alzheimer's Disease and Referral Center. Alzheimer's disease. 2010. Diunduh dari: http://www.alz.org/alzheimers_disease_what_is_alzheimers.asp#early), diakses tanggal 11 November 2012.
4. Wasilah R, Kuntjoro H. Ed. Aru W. Sudoyo, dkk. Demensia. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbit Departemen IPD FKUI; 2006. Hlm.1364-8.
5. Alzheimer's Association. Alzheimer's Facts and Figures 2007. 2007. Diunduh dari:

- <http://www.demensia-in-europe.html>, diakses pada tanggal 11 November 2012.
6. Bird, TD. and Bruce LM. Dementia in Harrison's Principle of Internal Medicine 17th Edition. New York: The McGraw-Hill Companies; 2008. p. 2539-43.
 7. Weller I, Schatzker J. Hip Fractures and Alzheimer's disease in elderly institutionalized Canadians. *Ann Epidemiol.* 2004;14:319-24.
 8. Walker D, Lue LF. Anti-inflammatory and immune therapy for Alzheimer's disease: current status and future directions. *Curr neuropharmacol.* 2007;5:232-43.
 9. Giselle PL, Teresa C, Fusheng Y, Walter B, Sally AF, Greg MC. The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative Damage and Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse. *J. Neurosci.* 2001;21(21):8370-8377.
 10. Arief, N. Herbal pada Penyakit Metabolik. Dalam: Makalah Simposium Actual Comprehensive Database: Invention, Therapies, And Regulation on Herb Medicines. Tanggal 11 November 2012. p.64-5.
 11. Tsuyoshi H, Kenjiro O, Masahito Y. Curcumin and Alzheimer's Disease. *CNS Neuroscience & Therapeutics.* 2010;16:285-97.
 12. John MR, Sally AF, Gregory MC, Donna LM, Jeffrey LC. A Potential Role of the Curry Spice Curcumin in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research.* 2005;5(2):1-6.
 13. Ataie A, Sabetkasaei M, Haghparast A, Hajizadeh MA, Ataie R, Nasiraei MS. An investigation of the neuroprotective effects of Curcumin in a model of Homocysteine - induced oxidative stress in the rat's brain. *DARU.* 2010;18(2):128-36.
 14. Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *J Neurosci Res.* 2004;75:742-50.
 15. Yang F, Lim GP, Begum AN, et al. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem.* 2005;280:5892-901.
 16. Necula M, Kaye R, Milton S, Glabe CG. Small molecule inhibitors of aggregation indicate that amyloid beta oligomerization and fibrillization pathways are independent and distinct. *J Biol Chem.* 2007;282:10311-24.
 17. Kim H, Park BS, Lee KG, Choi CY, Jang SS, Kim YH, Lee SE. Effects of naturally occurring compounds on fibril formation and oxidative stress of beta-amyloid. *J Agric Food Chem.* 2005;53:8537-41.
 18. Lin R, Chen X, Li W, Han Y, Liu P, Pi R. Exposure to metal ions regulates mRNA levels of APP and BACE1 in PC12 cells: Blockage by curcumin. *Neurosci Lett.* 2008;440:344-7.
 19. Ma QL, Yang F, Rosario ER, et al. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: Suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *J Neurosci.* 2009;29:9078-89.
 20. Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, et al. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: Intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron.* 2003;39:409-21.
 21. Ahmed T, Gilani AH. Inhibitory effect of curcuminoids on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia may explain medicinal

- use of turmeric in Alzheimer's disease. *Pharmacol Biochem Behav* 2009;91:554–9.
22. Giri RK, Rajagopal V, Kalra VK. Curcumin, the active constituent of turmeric, inhibits amyloid peptide-induced cytochemokine gene expression and CCR5-mediated chemotaxis of THP-1 monocytes by modulating early growth response-1 transcription factor. *J Neurochem* 2004;91:1199–1210.
23. Aggarwal BB, et al. *Curcumin-Biological and Medicinal Properties*. Houston: CRC Press; 2006.
24. M. Garcia-Alloza, L.A. Borrelli, A. Rozkalne, B.T. Hyman, B.J. Bacskai, Curcumin labels amyloid pathology in vivo, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. *J Neurochem* 2007;102:1095–1104.
25. Elin Yuliah Sukandar. *Tren dan Paradigma Dunia Farmasi: Industri-Klinik-Teknologi Kesehatan*. 2004. Diunduh dari: http://www.itb.ac.id/focus/focus_file/orasi-ilmiah-dies-45.pdf, diakses pada tanggal 12 November 2012
26. Mono Rahardjo dan Oti Rostiana. *Budidaya Tanaman Kunyit*. Sirkuler No. 11, 2005.p. 2-6.

Penatalaksanaan Kegawatdaruratan Gagal Jantung Kongestif secara Komprehensif pada Pasien Pediatri di Pelayanan Primer

Kevin Saputra,* Felix Chikita Fredy*

*Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Korespondensi: xilefchikita@hotmail.com

PENDAHULUAN

Gagal jantung pada anak merupakan suatu sindrom klinis yang disebabkan oleh ketidakmampuan miokardium untuk memenuhi metabolisme tubuh, termasuk pertumbuhan. Gagal jantung pada anak memberikan gambaran klinis dan perjalanan penyakit yang berbeda pada orang dewasa. Disamping faktor penyebab utama yaitu penyakit jantung bawaan (PJB), faktor umur menyebabkan jantung dan organ lainnya masih lebih baik regenerasinya sehingga memberikan harapan penyembuhan yang lebih baik. Anak dengan PJB 90% meninggal karena gagal jantung dalam usia kurang dari satu tahun, sedangkan sisanya terjadi pada umur 1-5 tahun. Oleh karena itu, upaya penanganan kegawatdaruratan gagal jantung pada anak yang tepat diperlukan dalam upaya menurunkan angka mortalitas. Laporan kasus ini membahas upaya penegakkan diagnosis dan stabilisasi anak dengan syok kardiogenik karena PJB.

ILUSTRASI KASUS

An. L, perempuan, usia 4 bulan, datang ke IGD pukul 18.30 dengan sesak napas. Pada pasien segera dilakukan survei primer dan survei sekunder serta tatalaksana kegawatdaruratan.

Hasil survei primer pada pasien:

- Evaluasi Tanda Vital
Tekanan darah : Sulit dinilai
Frekuensi nadi : 173x/menit, isi lemah, ireguler

Frekuensi napas : Gaspings,
65x/menit

Suhu : 39,2°C

- Penilaian Jalan Napas (*Airway*)
Bebas, bunyi napas tambahan (-)
- Penilaian Pernapasan (*Breathing*)
Pasien bernapas spontan, tidak teratur, cepat, dangkal. Terlihat retraksi iga dan suprasternal, napas cuping hidung. Pergerakan dada simetris pada saat statis dan dinamis. Bunyi paru bronkovesikuler dengan ronki basah kasar pada kedua lapang paru.
- Penilaian Sirkulasi (*Circulation*)
Nadi teraba lemah dan tidak teratur. Akral dingin dan berkeringat, tampak bibir kebiruan, turgor cukup, *Capillary Refill Time* (CRT) > 3 detik. Saturasi oksigen dengan osimetri 62%.
- Penilaian *Disability*
Glasgow coma scale 9/14, kesadaran somnolen.
- Penilaian *Exposure*
Pasien tampak pucat, bibir kebiruan, akral berkeringat, tampak gerakan abnormal stereotipik.
- Pediatric Assessment Triangle*
Penurunan kesadaran, takipnea, akral dingin, sianosis sentral.

Berdasarkan survei primer, didapatkan masalah: hipoperfusi, sianosis sentral, takikardi, takipnea, dan demam. Kemudian, pasien segera ditatalaksana dengan:

- Intubasi dengan endotracheal tube (ETT) berukuran 3,5. *Bagging* dengan

frekuensi 80x-90x/menit pada oksigen 10L/menit.

- IVFD NaCl 0,9% 45 mL (*loading*)
- IVDF KAEN 3B 14 mL/jam (*syringepump*)
- Dobutamin 10mcg/kgBB/menit
- Dilakukan pungsi vena untuk cek darah lengkap perifer dan analisis gas darah

Setelah pasien mendapat tatalaksana awal, dilakukan survei sekunder guna mendapatkan masalah lainnya, diagnosis, dan penyebab dari masalah tersebut. Pada anamnesis didapat keluhan utama pasien ialah sesak napas yang semakin memberat 3 hari sebelum masuk rumah sakit (SMRS). Sejak lahir pasien tidak tampak biru. Pada saat berusia 2,5 bulan, pasien mengalami sesak dengan keringat dingin sehingga dibawa keluarga ke puskesmas. Pada saat itu didiagnosis jantung bocor dan dirujuk ke RSCM untuk mendapat perawatan. Pasien didiagnosis mengalami PJB VSD besar oleh dokter jantung. Enam hari SMRS pasien baru saja pulang dari rawat inap di RSCM selama 3 hari karena sesak napas yang disebabkan oleh gagal jantung pada *decompensatio cordis*. Tiga hari SMRS pasien tampak bernapas berat, demam (-), batuk (+), tetapi seperti tidak dapat mengeluarkan lendir. Pasien minum susu dengan menggunakan NGT 8 x 60 mL dan ASI, muntah (+) 2x/hari, tidak tersedak, dan obat tetap diberikan rutin.

Dua hari SMRS pasien kontrol ke poli dan mendapat pengobatan berupa furosemid, ranitidine, cefixim, ambroksol, dan salbutamol. Satu hari SMRS anak tampak sesak sekali, napas tersengal-sengal, demam (+), batuk (+), tampak pucat, BAK dan BAB (+) dengan konsistensi berupa ampas makanan, riwayat tersedak (-). Anak kemudian dibawa ke IGD RSCM.

Riwayat alergi disangkal. Pasien masih minum ASI, tetapi hanya dapat minum selama 10 menit. Pasien tidak tampak sesak saat minum ASI.

Pasien adalah anak pertama. Riwayat penyakit jantung, asma, alergi, dan darah tinggi dalam keluarga disangkal. Pasien lahir secara *section saesaria* akibat letak lintang. Berat badan lahir 2900 kg dengan panjang badan 48 cm. Pasien langsung menangis, tampak pucat, tidak biru, dan tidak kuning. APGAR *score* 9/10. Pasien belum dapat tengkurap. Imunisasi lengkap untuk usianya.

Selanjutnya, pasien dilakukan pemeriksaan fisik per sistem organ dengan hasil:

- a. Sistem susunan saraf pusat
 - Kesadaran somnolen
 - Kepala tidak terdapat deformitas
 - Diameter pupil ods 3mm, RCL +/-, RCTL +/-
 - Kesan parese ekstremitas dan nervus kranialis (-)
- b. Sistem kardiovaskuler
 - Frekuensi nadi 173x/menit, reguler, isi lemah
 - Iktus kordis teraba pada sela iga 5 linea midklavikula
 - Bunyi jantung I dan II normal, murmur pansistolik grade III/6 pada upper lateral sternal border, gallop S3 (+).
- c. Sistem respirasi
 - Frekuensi napas dibantu dengan ventilasi kendali dengan frekuensi 80-90 kali per menit pada oksigen 10L/menit
 - Pergerakan dada simetris statis dan dinamis
 - Suara napas bronkovesikuler +/-, ronki basah kasar +/-, mengi -/-
- d. Sistem infeksi
 - Demam (+), suhu tubuh dari pengukuran aksila 39,2°C
 - KGB leher tidak teraba
- e. Sistem gastrointestinal, sistem metabolik, sistem hematologi, sistem muskuloskeletal dalam batas normal.

Berikut ini adalah hasil pemeriksaan penunjang (pukul 19.00):

Tabel 1. Hasil pemeriksaan hematologi

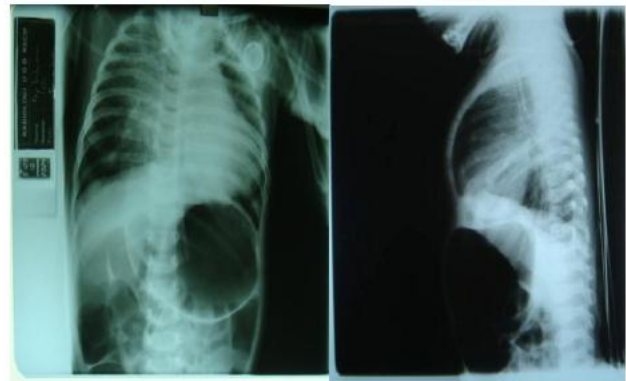
Hematologi		
Hemoglobin	13,2 g/dL	12,0 – 16,0
Hematokrit	40%	25 – 47
Eritrosit	3,59 jt/uL	3,6 – 5,8
MCV	70 fL	80 – 100
MCH	20 pg	26 – 34
MCHC	33 %	32 – 36
RDW-CV	13,9 %	11,5 – 14,5
Trombosit	391.000/mm ³	150 – 440
Leukosit	11,9 ribu/mm ³	5 – 10
Diff count	0/0/1/39/58/2	0-1/1-3/2-3/50-70/20-40/2-8

Tabel 2. Analisis gas darah

Analisis Gas Darah (dengan pemberian oksigen 10L/menit per ETT)		
Ph	7,14	7,34 – 7,44
pO₂	94,9 mmHg	85 – 95
pCO₂	45 mmHg	35 – 45
HCO₃	15,5 mmol/L	22 – 26
TCO₂	16,9 mmol/L	23 – 27
Base Excess	-12,3	-2,5 – 2,5
Sat O₂	95,1 %	96 – 97

Tabel 3. Elektrolit

Elektrolit		
Natrium	135 mmol/L	135 – 145
Kalium	5,3 mmol/L	3,5 – 5,5
Klorida	97 mmol/L	98 – 109



Gambar 1. Foto toraks

Pasien dilakukan pemeriksaan dalam keadaan intubasi dan bagging, frekuensi 70 kali/menit dan aliran oksigen 10L/menit. Kesan kardiomegali. Tampak infiltrat perihiler kedua paru, parakardial kanan, yang pada foto lateral tampak pula ruang retrosternal dan retrokardial. Infiltrat tampak menutupi batas kanan dan superior jantung. Mediastinum superior tidak melebar. Kedua hemidiafragma licin, kedua sisi kostofrenikus lancip. Tulang-tulang dan jaringan lunak dinding dada baik.

Berdasarkan survei sekunder dan hasil pemeriksaan penunjang, didapatkan masalah pada pasien adalah gagal jantung dengan syok kardiogenik, pneumonia dengan ancaman gagal napas, dan VSD PMO besar. Tatalaksana lanjut yang diberikan *bagging* 70x/menit pada oksigen 10Liter/menit dan pertahankan saturasi oksigen di atas 92%. Operasi katup setelah keadaan hemodinamik stabil dan pneumonia teratasi.

DISKUSI

Penatalaksanaan Awal

Syok merupakan diagnosis klinis dan suatu kegawatdaruratan. Oleh karena itu, penanganan awal syok tidak boleh tertunda untuk melakukan pemeriksaan penunjang. Pada semua pasien syok perlu mendapat penanganan ABC (*airway, breathing, dan circulation*) yang tidak boleh tertunda. Etiologi syok ditentukan

setelah dilakukan tindakan ABC pada pasien syok. Pada pasien anak sering terjadi hipoglikemia, oleh karena itu perlu pemberian dextrose sebagai tambahan dari rangkaian ABC. Jika ABC telah stabil, baru dilanjutkan untuk penatalaksanaan spesifik terhadap penyebab syok.

Pasien pada kasus ini datang dengan penurunan kesadaran dan tampak sakit berat. Dari pemeriksaan *airway* udara dapat dirasakan keluar dari mulut, tetapi terdengar suara *gurgling*. Oleh karena itu, untuk penatalaksanaan *airway* dilakukan *suctioning* sekret-sekret yang terdapat dalam saluran napas. Dari pemeriksaan *breathing*, pasien *gaspings* dengan frekuensi 65x/menit, retraksi iga, suprasternal, dan napas cuping hidung (+). Frekuensi napas normal anak usia 4 bulan adalah 40-60x/menit. Takipnea dan gejala-gejala di atas merupakan tanda-tanda *respiratory distress*. Untuk penatalaksanaan awal dilakukan intubasi karena dari anamnesis didapatkan riwayat penyakit jantung bawaan, adanya sianosis sentral, dan saturasi oksigen 62%. Tanda-tanda *respiratory distress* yang ditemukan pada pasien antara lain tampak kesulitan bernapas, takipnea, retraksi iga, napas cuping hidung, sianosis, dan bunyi paru yang abnormal (ronki basah kasar pada kedua lapang paru). Ketiga masalah ini perlu tindakan untuk membantu ventilasi, yakni dengan pemasangan *endotracheal tube* (ETT). Pada anak itu diberikan bantuan ventilasi dengan frekuensi 80-90x/menit pada oksigen 10 liter/menit. Sirkulasi pasien ini mengalami gangguan yang dapat dilihat dari sianosis sentral, penurunan kesadaran, denyut nadi teraba lemah, takikardi, CRT > 3 detik, dan akral yang dingin serta berkeramat. Gangguan sirkulasi seperti ini merupakan tanda-tanda syok. Tidak didaptkannya riwayat diare, riwayat muntah-muntah, turgor kulit tidak menurun dan fontanel datar dapat mengarahkan bahwa syok yang terjadi kecil kemungkinannya merupakan syok hipovolemik. Dari anamnesis didapatkan

PJB ditunjang dengan ditemukannya murmur pan sistolik pada pemeriksaan fisik mengarahkan kepada diagnosis syok kardiogenik. Penatalaksanaan awal yang diberikan adalah bolus 45 mL cairan NaCl 0,9% selama 20 menit, dimana dosis yang diberikan ini lebih rendah daripada dosis biasa karena pertimbangan adanya syok kardiogenik.¹ Penambahan cairan KAEN 3B dilakukan untuk mempertahankan volume intravaskular dan perlu tetap diberikan sampai perbaikan tekanan darah, frekuensi nadi, urin, kesadaran, dan CRT. Pemberian dobutamin dilakukan untuk memperbaiki kontraktilitas jantung (inotropik). Pemilihan dobutamin dilakukan karena dobutamin dapat meningkatkan fungsi sistolik dan menurunkan *systemic vascular resistance* (SVR) tanpa peningkatan frekuensi nadi yang signifikan.¹ Pada pasien ini dapat juga diberikan loading NaCl 0,9% sebesar 10 ml/jam untuk memperbaiki perfusi jaringan.

Diagnosis Syok Kardiogenik

Diagnosis syok ditegakkan atas dasar ditemukannya tanda-tanda syok pada pasien ini, antara lain penurunan kesadaran, takikardi, pemanjangan *capillary refill time*, dan suhu akral yang dingin pada perabaan. Penurunan kesadaran, pemanjangan *capillary refill time*, dan suhu akral yang dingin merupakan tanda-tanda hipoperfusi jaringan yang khas pada kasus syok. Penyebab dari syok diperkirakan adalah syok kardiogenik dengan ditemukannya pembesaran hati yang teraba 3 jari di bawah arcus costae, S3 gallop, dan murmur pansistolik pada daerah *upper lateral sternal border* yang menunjukkan adanya *left to right shunt*.² Etiologi syok kardiogenik pada pasien adalah PJB jenis *ventricular septal defect* (VSD).

Resusitasi Cairan pada Syok Kardiogenik

Penatalaksanaan awal yang diberikan adalah dengan bolus 45 mL cairan NaCl

0,9% selama 20 menit.¹ Penambahan cairan KAEN 3B dilakukan untuk mempertahankan volume intravaskular dan perlu tetap diberikan sampai perbaikan tekanan darah, frekuensi nadi, *urine output*, kesadaran, dan CRT.³

Pemberian Agen Inotropik pada Syok Kardiogenik

Pasien dengan syok kardiogenik biasanya memiliki volume intravaskular normal atau meningkat. Bolus inisial normal saline 10-20 ml/kg selama 20 menit harus dimonitor pembesaran hepar dan tanda-tanda *overload* cairan. Jika terdapat tanda-tanda *overload* cairan, cairan harus dihentikan dan mulai pemberian inotropik.^{3,4} Pemantauan CVP sangat penting untuk melindungi terhadap *overload* cairan. Dopamin diindikasikan bila tekanan darah rendah dan dobutamin lebih dipilih ketika tekanan darah normal atau tinggi. Keduanya dimulai pada 5 µg/kg/menit dan dititrasi sesuai dengan respon pasien.⁵

Dobutamin merupakan agen inotropik dengan efek agonis beta yang meningkatkan kontraktilitas kardiak. Dobutamin juga memiliki efek beta₂ yang berperan sebagai vasodilatasi perifer yang dapat menurunkan tahanan pembuluh darah perifer dan afterload dan meningkatkan perfusi jaringan. Selain itu, dobutamin dapat meningkatkan fungsi sistolik dan menurunkan *systemic vascular resistance* (SVR) tanpa peningkatan frekuensi nadi yang signifikan. Oleh karena itu, dobutamin merupakan obat yang tepat untuk meningkatkan kontraktilitas miokardium pada pasien-pasien syok kardiogenik dibandingkan dengan agen-agen inotropik atau vasopressor lain. Dosis awal dobutamin dapat dimulai dengan 5 mcg/kg/min IV dan ditingkatkan secara bertahap sampai dengan 20 mcg/kg/min IV.⁵

Komorbiditas pada Syok Kardiogenik

Anak-anak dengan PJB akan lebih sering mengalami infeksi saluran pernapasan daripada anak-anak tanpa PJB. Anak pada

kasus ini mengalami pneumonia. Diagnosis pneumonia pada anak ini ditegakkan atas dasar gambaran infiltrat pada kedua lapang paru, disertai dengan gejala-gejala demam, batuk-batuk, bunyi napas ronki basah kasar pada kedua lapang paru, dan leukositosis. Pada anak ini perlu dilakukan pemeriksaan sputum untuk memastikan mikroorganisme penyebab pneumonia. Untuk terapi pneumonia diberikan secara empiris dahulu dengan pemberian *cefuroxime* (150 mg/kg/24 jam), *ceftriaxone*, atau *cefotaxime*.⁶ Pada pasien ini, direncanakan pemberian antibiotik di *Pediatric Intensive Care Unit* (PICU). Oleh karena itu, pasien tidak mendapatkan antibiotik di Instalasi Gawat Darurat (IGD).

Perbaikan Stres Metabolik

Stres metabolik seperti demam, gangguan keseimbangan asam basa, ketidakseimbangan elektrolit, hipoglikemia, dapat memperburuk keluaran syok. Perbaikan-perbaikan dari kondisi stres metabolik juga berperan penting dalam penanganan syok kardiogenik.

Pada pasien ini didapatkan gangguan keseimbangan asam basa, yakni kondisi asidosis metabolik. Hasil AGD menunjukkan penurunan kadar bikarbonat serum. Penurunan kadar serum bikarbonat disebabkan oleh hipoperfusi jaringan. Hipoperfusi jaringan menyebabkan perubahan metabolisme tubuh menjadi metabolisme anaerob yang menghasilkan asam laktat. Asam laktat ini yang menyebabkan kondisi asidosis metabolik. Tubuh akan berusaha untuk mengompensasi kelebihan asam laktat dengan menggunakan bikarbonat serum sehingga kadar bikarbonat serum akan terukur rendah pada saat pengambilan analisis gas darah.⁷ Penatalaksanaan asidosis karena syok kardiogenik perlu dikoreksi dengan memperbaiki etiologi asidosis tersebut, yaitu dengan memperbaiki perfusi jaringan, dengan cara

resusitasi cairan, penggunaan obat-obatan inotropik, dan ventilasi yang optimal.

Penggunaan natrium bikarbonat untuk penatalaksanaan asidosis metabolik pada keadaan syok masih kontroversi. Keadaan asidosis dapat menurunkan kontraktilitas miokardium dan fungsi katekolamin. Namun, penatalaksanaan dengan bikarbonat dapat memperburuk asidosis intraseluler. Hal ini terjadi karena bikarbonat merupakan ion yang tidak dapat langsung melewati membran sel yang semipermeabel. Bikarbonat akan berikatan dengan asam di dalam serum dan memproduksi karbondioksida dan air. Jika peningkatan CO₂ tidak dapat dikeluarkan melalui ventilasi, CO₂ akan masuk ke dalam sel dan membuat reaksi Henderson-Hasselbalch bergerak ke arah yang berlawanan dan menyebabkan asidosis intraseluler. Jika asidosis intraseluler terjadi, maka akan terjadi perburukan kontraktilitas miokardium.^{8,9} Penelitian lain mengatakan bahwa pemberian bikarbonat meningkatkan laju keselamatan pada pasien syok dengan henti jantung.⁵

Asetaminofen per rektal diberikan untuk mengurangi demam anak. Kondisi demam jika tidak diperbaiki akan meningkatkan *demand* jaringan akan oksigen. Oleh karena itu, dibutuhkan perbaikan terhadap stress metabolik yang terjadi.¹

Pemeriksaan Lanjutan dan Terapi Definitif Penyakit Jantung Bawaan

Pemeriksaan yang perlu dilakukan lagi antara lain adalah *echocardiography*. Pada pemeriksaan ini dapat ditentukan derajat gangguan struktur dan fungsi jantung. Dari pemeriksaan ini dapat ditentukan terapi selanjutnya yang akan diberikan dan prognosis dari penyakit anak ini.²

Operasi untuk penutupan VSD dilakukan pada pasien semua umur dengan defek yang besar, dimana gejala klinis dan

gagal tumbuh tidak dapat dikendalikan dengan terapi medikamentosa. Operasi juga perlu dilakukan jika Qp/Qs ratio lebih besar dari 2.² Oleh karena itu, pemeriksaan echocardiography diperlukan untuk menentukan indikasi operasi pada anak ini.

SIMPULAN

Pasien anak perempuan berusia 4 bulan dengan keluhan utama napas tersengal-sengal (*gaspings*) satu hari sebelum masuk rumah sakit. Anak didiagnosis syok kardiogenik pada gagal jantung kongestif yang disebabkan oleh penyakit jantung kongenital *ventricular septal defect* besar. Pada anak dilakukan penatalaksanaan berupa *suctioning*, intubasi, *bagging*, pemberian bolus NaCl, infus Kaen 3B, dumin, dan dobutamin. Pasien dirawat di *Pediatric Intensive Care Unit* setelah syok kardiogenik teratasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lorry RF, Saraswati K. Shock. In: Kliegman Robert M, Richard RB, Hal BJ, Bonita FS, editors. Nelson textbook of pediatrics, 18th ed. USA: Saunders Elseviers. 2007. p. 312-34.
2. Daniel Bernstein. Congenital heart disease. In: Kliegman Robert M, Richard RB, Hal BJ, Bonita FS, editors. Nelson textbook of pediatrics, 18th ed. USA: Saunders Elseviers. 2007. p. 803-21.
3. Maitland K, Kiguli S, Opoka RO, et al. Mortality after fluid bolus in African children with severe infection. *N Engl J Med*. 30 2011;364(26):2483-95.
4. Carcillo JA, Fields AI. Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal patients in septic shock. *Crit Care Med*. Jun 2002;30(6):1365-78.
5. Brierley J, Carcillo JA, Choong K, et al. Clinical practice parameters for

- hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American College of Critical Care Medicine. *Crit Care Med.* 2009;37(2):666-88.
6. Sectish TC and Charles GP. Pneumonia. In: Kliegman Robert M, Richard RB, Hal BJ, Bonita FS, editors. Nelson textbook of pediatrics, 18th ed. USA: Saunders Elseviers. 2007. p. 467-98.
 7. Cingolani HE, Mattiazzi AR, Blesa ES, Gonzalez NC. Contractility in isolated mammalian heart muscle after acid-base changes. *Circ Res.* Mar 2002;26(3):269-78.
 8. Arieff AI. Indications for use of bicarbonate in patients with metabolik acidosis. *Br J Anaesth.* 2003;67(2):165-77.
 9. Walley KR, Cooper J, Baile EM. Bicarbonate does not improve left ventricular contractility during resuscitation from hypovolemic shock in pigs. *J Crit Care.* 2002;7:14-21.

