

.....

Pengaruh Stressor Renjatan Listrik (*Electrical Foot Shock*) Terhadap Kadar Serum Alkalin Fosfatase Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Jantan

Effect Of Electrical Shock Stressor (Electrical Foot Shock) To Alkaline Phosphatase Serum Level Of Male Wistar Rats (*Rattus Norvegicus*)

Agustin Wulan Suci Dharmayanti¹, Farizan Zata Hadyan¹, Rudi Budirahardjo²

¹ Biomedical Department, Dentistry Faculty, Jember University

² Pedodontia Department, Dentistry Faculty, Jember University

Abstrak

Stres merupakan mekanisme kompensasi tubuh guna mempertahankan homeostasis walaupun dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Hal ini disebabkan pada saat stres terjadi perubahan hormonal, terutama kortisol. Hormon kortisol dapat mempengaruhi kadar hormon estrogen atau androgen dimana kedua hormon tersebut berperan penting dalam proses metabolisme tulang. Pada metabolisme tulang, enzim alkalin fosfatase sangat dibutuhkan untuk pembentukan tulang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh stressor renjatan listrik pada kadar serum alkalin fosfatase tikus wistar jantan. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberi perlakuan berupa stresor rasa sakit renjatan listrik dengan mengalirkan arus listrik 5-30mA, tegangan 25V dan frekuensi 60Hz selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar serum alkalin fosfatase pada kelompok perlakuan lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Hasil uji analisis Mann Whitney U menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan ($p < 0.05$). Kesimpulan menunjukkan bahwa stressor renjatan listrik dapat mempengaruhi proses pembentukan tulang yang ditandai dengan penurunan kadar alkalin fosfatase.

Kata kunci: stressor renjatan listrik, hormon estrogen, hormon androgen, alkalin fosfatase

Abstract

Stress is body compensation mechanism for homeostasis maintaining, although it can cause health disorders. It is caused by hormonal changing in stress condition, especially cortisol. Cortisol can influence estrogen or androgen hormone, which its hormone is played role in bone metabolism. In bone metabolism, alkaline phosphatase is needed for bone formation. The aim of this study was to know Electrical Shock Stressor (Electrical Foot Shock) to Alkaline Phosphatase Serum Level of Male Wistar Rats (*Rattus norvegicus*). This study was laboratory experimental with the post test only control group design. This study was divided into 2 groups, control group and treatment group. Treatment group was group that got electrical foot shock about 5-30 mA, voltage about 25V and frequency about 60Hz for 14 days. The result showed that mean of alkaline phosphatase serum level in control group was higher than treatment group. Mann Whitney U test showed there was significant different between control and treatment group ($p < 0.05$). Conclusion showed that electrical foot shock can affect bone formation process by decreasing of alkaline phosphatase serum level.

Keywords: electrical foot shock, estrogen hormone, androgen hormone, alkaline phosphatase

Pendahuluan

Dewasa ini permasalahan di masyarakat semakin kompleks dan memicu timbulnya stres. Hampir 80 % penduduk di negara berkembang seperti di Indonesia lebih mudah mengalami stres. Hal ini diperkuat fakta bahwa kurang lebih 70-80% pasien yang datang ke dokter menderita penyakit yang dipicu oleh stres. Stres merupakan respon tubuh terhadap stresor. Stres merupakan mekanisme kompensasi tubuh untuk mempertahankan keseimbangan tubuh. Pengaruh stres terhadap timbulnya gangguan kesehatan sudah banyak diteliti, namun perubahan pada metabolisme tulang dalam keadaan stres belum banyak diteliti.¹

Stresor akan mengakibatkan gangguan sistem neurohormonal. Gangguan pada sistem neurohormonal akan mempengaruhi proses pembentukan tulang. Serum alkalin fosfatase (ALP) adalah indikator yang paling umum digunakan untuk mengetahui proses pembentukan tulang.² Alkalin fosfatase sangat berperan dalam pembentukan tulang. Alkalin fosfatase mempunyai hubungan dengan aktivitas osteoblas dalam tulang. Perubahan kadar alkalin fosfatase sangat berkaitan dengan patogenesis osteoporosis dan penyakit metabolisme tulang lainnya.³ Namun demikian, penelitian mengenai hubungan stres dengan timbulnya penyakit diakui masih sangat sulit, karena stres pada manusia bersifat subyektif sehingga sulit diukur.

Berdasarkan hal tersebut diatas maka penulis akan melakukan penelitian menggunakan konsep pendekatan MA (*Medicophysiological Approach*). Pendekatan MA menyatakan bahwa stres merupakan efek fisiologis terhadap stimulus yang mengancam dan respon tubuh terhadap

berbagai macam stresor tersebut adalah sama.⁴ Semua jenis stresor dapat mempengaruhi perubahan dalam tubuh manusia, terutama perubahan hormonal. Hormon glukokortikoid (kortisol) akan meningkat dalam keadaan stres. Hormon kortisol akan mempengaruhi pengaturan sekresi hormon estrogen atau androgen. Hal ini sebagai mekanisme adaptasi terhadap stres. Peningkatan hormon kortisol akan mempengaruhi metabolisme tulang, terutama perubahan kadar alkalin fosfatase.⁵

Dalam penelitian ini peneliti akan menggunakan stresor rasa sakit yang dihasilkan oleh alat "*electrical foot shock*". Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar dengan metode eksperimental laboratoris.⁶ Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh stressor renjatan listrik terhadap kadar serum alkalin fosfatase tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan.

Metode Penelitian

Penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember dan Laboratorium Klinik Jember Medical Center. Penelitian ini menggunakan tikus wistar galur murni, dengan kriteria jenis kelamin jantan, berat 200-250 gr, berusia 3-4 bulan dan sehat.

Hewan coba diadaptasikan selama 1 minggu, diberi makan standar dan air minum setiap hari secara *adlibitum* (sesukanya), dan ditimbang kemudian dikelompokkan secara acak. Jumlah tikus sebanyak 14 ekor dibagi secara acak menjadi 2 kelompok masing-masing 7 ekor, yaitu:

- a. Kelompok (K) adalah kelompok kontrol, dimana tikus tidak diberi perlakuan berupa stresor “*Electrical foot shock*”.
- b. Kelompok (P) adalah kelompok perlakuan dimana tikus diberi perlakuan berupa stresor “*Electrical foot shock*” selama 14 minggu. Jumlah renjatan listrik berpedoman pada penelitian ditunjukkan pada tabel 1.⁶

Tabel 1. Jumlah Pemberian Stresor Renjatan Listrik⁶

Hari ke-	Jumlah Renjatan	Jumlah Sesi
1	4	2
2	8	2
3	10	3
4	12	3
5	14	4
6	16	4
7	18	5
8	20	5
9	22	6
10	24	6
11	26	7
12	28	7
13	30	8
14	32	8

lama 1x renjatan = 1 kejut, diberikan interval 4 menit 1 sesi

Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah secara intrakardial dengan disposable syringe sebanyak ± 2 ml. Darah yang telah diambil dimasukkan dalam tabung venoject yang bersih dan kering, kemudian disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Serum yang terpisah diambil dan dimasukkan dalam tabung lainnya yang bersih dan kering dan ditutup. Jika serum tidak langsung diperiksa, maka harus disimpan pada lemari es suhu 2-8°C selama maksimal 4 hari, karena jika lebih dari 4 hari akan mengalami degradasi aktivitas sebesar 10%.⁷

Pengujian kadar alkalin fosfatase dilakukan di Laboratorium Klinik Jember Medical Center dengan menggunakan *kinetic photometric test*. Aktivitas alkalin fosfatase

ditetapkan dengan metode standar yang dioptimisasikan sesuai rekomendasi. Prinsip kerjanya adalah *p-nitrophenylphospate* bersama dengan air akan diubah oleh enzim alkalin fosfatase menjadi fosfat dan *p-nitrophenol*.

Data yang diperoleh dilakukan uji homogenitas dan uji normalitas kemudian dianalisa dengan menggunakan analisa nonparametrik *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan kadar alkalin fosfatase antara kelompok kontrol K dan kelompok yang dipapar P untuk mengetahui pengaruh stresor “*Electrical Foot Shock*” terhadap perubahan kadar alkalin fosfatase, dengan derajat kemaknaan $p < 0,05$ (=95%).

Hasil Penelitian

Hasil penelitian ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran kadar serum alkalin fosfatase (dalam U/L)

	N	Mean	Standar Deviasi
Kelompok Kontrol	7	220.71	88.53
Kelompok Perlakuan	7	73.86	21.64

Keterangan:

Mean : nilai rata-rata

Standar Deviasi : ukuran penyebaran

N : jumlah sampel

Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata kadar serum alkalin fosfatase pada kelompok perlakuan lebih kecil daripada kelompok kontrol. Hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogrov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Hasil uji normalitas dan menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0.05$), tetapi tidak homogen ($p < 0.05$). Hasil uji *Mann Whitney U* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara rata-rata kelompok perlakuan dan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Pembahasan

Hasil uji analisis homogenitas *Levene test* diketahui bahwa data tidak homogen karena nilai $p < 0,05$. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh hewan coba pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ditempatkan pada kandang yang sama, sehingga efek stresnya kelompok perlakuan mempengaruhi hewan coba pada kelompok kontrol. Selain itu, respon stres pada hewan coba kemungkinan berbeda-beda.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar serum alkalin fosfatase pada kelompok perlakuan lebih rendah dibanding

kelompok kontrol. Hal ini disebabkan pada kelompok perlakuan, sampel penelitian yaitu tikus wistar mendapatkan paparan stresor berupa “*electrical foot shock*” sehingga menyebabkan stres. Durasi dan intensitas paparan stresor pada hewan coba diberikan secara berkelanjutan sehingga menyebabkan hewan coba berada dalam ambang stres dan tidak ada proses adaptasi.

Dalam keadaan stres akan terjadi perubahan fisiologis, sistem hormonal dan neurotransmitter merupakan dua mekanisme tubuh yang berpengaruh ketika terjadi stres. Secara hormonal, stresor akan merangsang tiga sistem yaitu sistem sumbu untuk HPA, saraf simpatis dan adrenomedular. Sistem ini berfungsi untuk menjaga homeostatis tubuh dalam kondisi stres. Sumbu HPA dan sistem saraf pusat simpatis langsung berhubungan dengan modulasi respon stres.⁸

Stresor tersebut memicu hipotalamus untuk mensekresikan CRH yang akan merangsang hipofisis anterior mengeluarkan ACTH, dimana ACTH akan memicu kortek adrenal untuk mensekresi hormon kortisol.⁹ Hormon-hormon tersebut secara langsung dan tidak langsung menyebabkan penurunan kadar GnRH.¹⁰ Penurunan kadar GnRH akan mengakibatkan defisiensi hormon estrogen

atau androgen. Hormon estrogen dan androgen merupakan hormon yang ikut berperan pada metabolisme tulang.

Tulang terdiri atas materi organik yaitu 90% serat kolagen dan protein non kolagen seperti osteocalcin, osteonektin, dan proteoglikan dan materi anorganik yaitu mineral kalsium dan fosfat yang nantinya akan menjadi produk akhir *kristal hidroksiapatit*. Tahap awal produksi tulang adalah sekresi molekul kolagen (monomer kolagen) dan substansi dasar (terutama proteoglikan) oleh osteoblas. Monomer kolagen berpolimerisasi dengan cepat membentuk serat kolagen yang disebut jaringan osteoid. Suatu materi mirip kartilago yang berbeda dari kartilago karena garam kalsium mudah mengalami presipitasi di dalamnya. Tepat sebelum mineralisasi, osteoblas memproduksi enzim yaitu alkalin fosfatase yang membantu pembentukan *kristal hidroksiapatit*. Dalam waktu beberapa hari setelah osteoid dibentuk, garam kalsium mulai mengalami presipitasi pada permukaan serat kolagen. Presipitat mula-mula terjadi pada interval di sepanjang serat kolagen, yang membentuk nidus-nidus kecil yang dengan cepat bermultiplikasi dan tumbuh selama berhari-hari dan berminggu-minggu untuk menjadi produk akhir yaitu, *kristal hidroksiapatit*. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses remodeling tulang. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi proses remodeling tulang adalah hormon estrogen dan androgen.⁹

Hofbauer dan Khosla menyatakan bahwa, estrogen dan androgen sangat mempengaruhi proses remodeling tulang, menurunkan densitas tulang, penurunan kadar indikator biokimia pembentukan tulang, menghambat pembentukan tulang periosteal dan endosteal. Estrogen atau androgen mempunyai efek menghambat resorpsi tu-

lang. Sel osteoblas mempunyai reseptor untuk hormon estrogen dan androgen.¹¹ Estrogen atau androgen berfungsi mengaktifasi osteoblas. Ketika sedang aktif osteoblas menghasilkan jaringan osteoid. Sewaktu osteoid dibentuk, sejumlah osteoblas terperangkap dalam osteoid dan menjadi inaktif yang biasanya disebut dengan osteosit. Selain itu, osteoblas ketika sedang aktif mensekresikan sejumlah besar alkalin fosfatase, yang berperan penting dalam mengendapkan kalsium dan fosfat ke dalam matriks tulang. Peningkatan kadar serum alkalin fosfatase mengindikasikan adanya peningkatan aktifitas osteoblas.¹²

Emerk menyatakan bahwa defisiensi estrogen dan androgen dapat meningkatkan aktifitas osteoklas. Hal ini dapat ditunjukkan pada wanita menopause yang mengalami osteoporosis karena terjadi defisiensi hormon estrogen. Kejadian ini juga terjadi pada laki-laki, pada laki-laki defisiensi androgen yang berhubungan dengan kehilangan fungsi gonad. Kekurangan estrogen atau androgen menyebabkan peningkatan IL-6. IL-6 menstimulasi prekursor osteoklas di trabekula tulang dan peningkatan resorpsi tulang.³

Stres juga dapat mempengaruhi hormon kortikosteroid. Stresor memicu hipotalamus untuk mensekresikan CRH yang akan merangsang hipofisis anterior mengeluarkan ACTH ke dalam darah. ACTH akan menstimulasi kelenjar adrenal. Kelenjar adrenal berisi dua daerah yang berbeda, medulla yang mensekresi adrenalin (epinefrin) dan norepinefrin (norepinefrin) dan korteks yang mensekresi kortikosteroid dan kortisol. Secara simultan hipotalamus, bekerja secara langsung pada sistem otonom untuk merangsang respon yang segera terhadap stres.⁹ Kortikosteroid dapat meningkatkan aktivitas osteoklas dan menghambat aktivitas osteo-

blas, yang mengakibatkan resorpsi tulang. Hal ini menyebabkan kadar serum alkaline fosfatase menurun.³

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan adanya perubahan kadar serum alkaline fosfatase pada tikus wistar jantan setelah dipapar stresor rasa sakit renjatan listrik. Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu dilakukan penelitian yang serupa dengan memisahkan kandang hewan coba antara kelompok perlakuan dan kontrol, sehingga dapat diketahui secara nyata efek stress terhadap alkaline fosfatase. Selain itu, juga dilakukan pengukuran parameter resorpsi tulang, sehingga dapat diketahui efek stress terhadap metabolisme tulang.

Daftar Pustaka

1. Prayitno, A. 2010. *Stresor, Sakit dan Sehat*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
2. Nawawi, Yazid TN, Ismail, Mohamad, Nirwana S and Khalid. 2001. *Serum Bone Specific Alkaline Phosphatase and Urinary Deoxyypyridinoline in Postmenopausal Osteoporosis*. Universiti Kebangsaan Malaysia: Departments of Pathology, Obstetrics and Gynaecology, Orthopaedics, Pharmacology and Medicine, Faculty of Medicine.
3. Emerk, K. 2004. *Bone Markers And Osteoporosis*. Istanbul, Turkey: Marmara University School of Medicine, Department of Biochemistry.
4. Sulistyani, Barid, dan Kurniatul. 2007. Pengaruh Stressor Rasa Nyeri pada Waktu Perdarahan Tikus Wistar Jantan. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. FK UHT (1) 2: 81-84
5. Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem*. Edisi 2. Alih bahasa: Brahm. Judul asli: "Human Physiology: from Cells to Systems" Jakarta: EGC.
6. Triwahyudi, Zecky Eko dan Purwoko, Yosef. 2010. *Artikel Media Medika Muda*. Semarang: Universitas Diponegoro.
7. Irnawati R, Aty Widyawaruyanti, Herra Studiawan. 2005. Pengaruh Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus champeden Spreng* Terhadap Kadar Enzim SGPT dan SGOT Mencit. *Majalah Farmasi Airlangga (Airlangga Journal of Pharmacy)*, 5 (3).
8. Devaki, M. *et al.* 2010. Repeated Acute Stress Alters Activity of Serum Aminotransferase and Lactate Dehydrogenase in Rate. *JPBS*, 23(2): 1-4.
9. Guyton, Arthur C. and Jhon E. Hall 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Alih bahasa: LMA. Ken Ariata Tengadi. Judul asli: "Textbook of Medical Physiology" Jakarta: EGC.
10. Speroff L, Glass RH, Kase NG. 1999. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 6th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
11. Hofbauer, L.C. and Khosla S. 1999. *Androgen Effects on Bone Metabolism: Recent Progress and Controversies*. USA: Division of Endocrinology and Metabolism, Mayo Clinic.
12. Gaw, Murphy, Michael, Cowan, Robert, O'Reily, Denis, Stewart, Michael, Sheperd. 2008. *Clinical Biochemistry*. Churchill Livingstone: Elsevier.