

## Pengaruh Induksi Hipoksia Hipobarik Intermiten pada Aktivitas Spesifik *Manganese Superoxide Dismutase* dan Kadar *Malondialdehyde* Ginjal Tikus

Dimas Priantono,<sup>1</sup> Wawan Mulyawan,<sup>2</sup> Novi Silvia Hardiany,<sup>3</sup> Septelia Inawati Wanandi<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

<sup>2</sup>Program Doktor Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta

### Abstrak

Hipoksia hipobarik merupakan kondisi yang sering dialami penerbang angkatan udara. Pengenalan hipoksia hipobarik intermiten dapat memicu mekanisme adaptasi untuk mengurangi efek buruk hipoksia hipobarik. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh induksi hipoksia hipobarik intermiten terhadap stres oksidatif dan antioksidan serta hubungan keduanya di jaringan ginjal tikus. Sebanyak 25 ekor tikus jenis wistar dibagi menjadi lima kelompok: kelompok kontrol dan kelompok terpajan hipoksia hipobarik intermiten 1x, 2x, 3x dan 4x, dengan interval 7 hari antar pajanan. Tiap kelompok ditempatkan dalam hypobaric chamber dan dipajankan kondisi hipoksia hipobarik dengan berbagai ketinggian. Tikus dimatikan dan sampel jaringan ginjal diambil untuk diukur enzim manganese superoxide dismutase (MnSOD) dan malondialdehyde (MDA). Aktivitas enzim MnSOD tidak menunjukkan perubahan bermakna pada induksi hipoksia hipobarik 1x, 2x, 3x dan 4x dibandingkan kontrol ( $p>0,05$ ). Kadar MDA pada kelompok dengan perlakuan 2x hipoksia hipobarik meningkat bermakna ( $p<0,05$ ). Pada kelompok induksi 3x dan 4x, kadar MDA ginjal turun secara bermakna dibandingkan kelompok 2x perlakuan ( $p<0,05$ ). Tidak terdapat korelasi aktivitas MnSOD dan kadar MDA ( $p>0,05$ ). Setelah induksi 3x, mulai terjadi adaptasi terhadap stres oksidatif. Adaptasi tersebut kemungkinan juga melibatkan antioksidan yang lain pada ginjal, seperti katalase. Dengan demikian induksi hipoksia hipobarik intermiten tampaknya dapat memberikan efek protektif pada jaringan ginjal tikus.

**Kata kunci:** hipoksia hipobarik intermiten, stres oksidatif, manganese superoxide dismutase, malondialdehyde

### The Effect of Intermittent Hypobaric Hypoxia Induction to Manganese Superoxide Dismutase Activity and Malondialdehyde Level of Rat Kidneys

#### Abstract

Hypobaric hypoxia is a condition frequently experienced by air force pilots. Induction to intermittent hypobaric hypoxia was found to be able to elicit an adaptive protective mechanism. This research is aimed to study the effect of intermittent hypobaric hypoxia to oxidative stress and antioxidant status in rat kidneys, and the correlation between them. Twenty-five Wistar mice were divided into five groups, consisted of a control group and 4 groups exposed to intermittent hypobaric hypoxia, one, two, three and four times respectively, with 7 days interval between each exposure. All groups except the control group were exposed to hypobaric hypoxia in different altitudes. The mice then were killed and samples were extracted. We measured Manganese superoxide dismutase (MnSOD) as a representative for antioxidant level and Malondialdehyde (MDA) as an oxidative stress parameter. MnSOD enzyme activity did not show significant changes between the control group and all of the exposed groups ( $p>0.05$ ). MDA level was significantly higher in 2x exposed group compared to the control group ( $p<0.05$ ). In the next induction groups (3x and 4x induction), there was significant decline in MDA levels compared with the 2x exposed groups ( $p<0.05$ ). There was no correlation between MnSOD activity and MDA level. It is assumed that after 3x induction, rat kidneys started to adapt with the oxidative stress. This adaptation process perhap involve other antioxidant in kidneys, such as catalase. Therefore, exposure of intermittent hypobaric hypoxia may have protective effects in rat kidneys.

**Keywords :** intermittent hypobaric hypoxia, oxidative stress, manganese superoxide dismutase (MnSOD), malondialdehyde (MDA)

## Pendahuluan

Hipoksia didefinisikan sebagai keadaan berkurangnya suplai oksigen ( $O_2$ ) ke jaringan hingga di bawah kadar fisiologis walaupun perfusi jaringan oleh darah masih adekuat.<sup>1</sup> Berkurangnya ketersediaan  $O_2$  ini akan mengakibatkan gangguan pada metabolisme tubuh dan homeostasis sel serta menyebabkan kerusakan jaringan.<sup>2</sup> Hipoksia dapat terjadi pada lingkungan di ketinggian dengan tekanan atmosfer yang rendah dan disebut sebagai hipoksia hipobarik.<sup>3</sup> Seiring dengan perkembangan teknologi, khususnya teknologi penerbangan, manusia dapat mencapai ketinggian tertentu dengan cepat. Hal itu menyebabkan terjadinya pajanan terhadap kondisi hipoksia hipobarik.<sup>3,4</sup> Sebagian besar mamalia tidak memiliki toleransi yang besar terhadap kurangnya  $O_2$ . Salah satu efek hipoksia adalah aktivasi tambahan mekanisme produksi radikal bebas.<sup>2,5-8</sup> Mekanisme tersebut berhubungan dengan gangguan fungsi tubuh yang juga ditemui pada berbagai penyakit.<sup>7,8</sup>

Kondisi hipoksia hipobarik dapat dialami oleh semua orang yang berada di ketinggian. Salah satu kelompok orang yang banyak terpajan dengan keadaan ini adalah penerbang militer.<sup>9</sup> Hipoksia hipobarik merupakan salah satu masalah yang kerap dihadapi oleh penerbang Tentara Nasional Indonesia Angkatan Udara (TNI AU).<sup>4</sup> Meskipun demikian, kondisi itu juga dapat dialami oleh semua orang yang berada di dalam pesawat terbang *unpressurized* atau pada pesawat terbang *pressurized* yang mengalami kegagalan mempertahankan tekanan kabin.<sup>4</sup> Kondisi hipoksia hipobarik dapat terjadi secara tidak disadari sehingga dapat berujung fatal.<sup>3,4</sup> Untuk mencegah hal tersebut, dilakukan latihan dengan memberikan pajanan terhadap kondisi hipoksia hipobarik agar para penerbang mampu mengenali gejala hipoksia yang dialami dan diharapkan terjadi adaptasi terhadap keadaan ini.<sup>4,9</sup> Dengan menggunakan alat simulasi *hypobaric chamber*, pajanan hipoksia hipobarik dapat diberikan sesuai dengan ketinggian dan durasi yang diinginkan.<sup>9</sup>

Salah satu efek patologis hipoksia hipobarik terhadap tubuh adalah peningkatan stres oksidatif.<sup>9</sup> Pada ginjal, hipoksia dianggap sebagai bagian dari mekanisme patologis dari seluruh penyakit ginjal.<sup>9</sup> Hipoksia hipobarik akut diketahui dapat merusak struktur dan fungsi ginjal.<sup>8</sup> Hipoksia kronis dapat memperberat kerusakan iskemia kronis pada tubulointerstitial ginjal hingga terjadi penyakit ginjal tahap akhir.<sup>8</sup> Latihan dengan memberikan pajanan terhadap kondisi hipoksia hipobarik dinilai mampu

melatih adaptasi sistem antioksidan tubuh.<sup>10</sup> Untuk mengatasi kerusakan akibat stres oksidatif tersebut, terdapat beberapa mekanisme pertahanan di ginjal, salah satu yang akan menjadi variabel dalam penelitian ini adalah *Manganese Superoxide Dismutase* (MnSOD).<sup>11,12</sup> Untuk menilai stres oksidatif yang terjadi di ginjal, dilakukan pengukuran salah satu parameter kerusakan akibat stres oksidatif, yaitu kadar malondialdehid (MDA).<sup>5,13,14</sup>

Untuk mengatasi kerusakan akibat stres oksidatif pada keadaan hipoksia hipobarik ini, dilakukan latihan dengan memberikan pajanan hipoksia hipobarik berulang yang disebut *hypobaric chamber training*.<sup>9</sup> Dengan perlakuan ini, diharapkan terjadi suatu *hypoxia preconditioning*. Dengan adanya *hypoxia preconditioning*, diharapkan terjadi kerusakan yang lebih ringan pada jaringan dibandingkan tanpa *preconditioning*, karena telah terjadi adaptasi dari sistem antioksidan tubuh.<sup>9</sup> *Hypobaric chamber* untuk latihan tersebut di Indonesia hanya terdapat di Lembaga Kesehatan Penerbangan dan Ruang Angkasa (Lakespra) Dr. Saryanto milik TNI Angkatan Udara, Jakarta.<sup>9</sup>

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui dampak hipoksia hipobarik terhadap ginjal, khususnya dengan menilai aktivitas MnSOD dan kadar MDA.<sup>3,9,15,16</sup> Akan tetapi, penelitian tersebut dilakukan dengan simulasi ketinggian dan durasi yang berbeda dengan prosedur *hypobaric chamber training* yang dilakukan pada manusia di Lakespra Saryanto sehingga hasil yang diperoleh juga berbeda antara penelitian yang satu dengan lainnya.<sup>3,10,15,16</sup>

Penggunaan *hypobaric chamber* ideal untuk penelitian karena pada keadaan sesungguhnya, kondisi hipoksia tidak berdiri sendiri. Faktor-faktor lain seperti radiasi ultraviolet, aktivitas fisik dan perubahan temperatur yang juga terjadi di ketinggian dapat mempengaruhi keseimbangan prooksi dan antioksidan sehingga stres oksidatif yang terjadi makin meningkat.<sup>2</sup> Selain itu, reoksigenasi jaringan pascahipoksia juga dinilai dapat menimbulkan stres oksidatif lebih lanjut.<sup>2</sup> Oleh karena itu, penelitian dilakukan dengan hewan coba dalam *hypobaric chamber* untuk mencegah adanya faktor-faktor perancu yang telah disebutkan sebelumnya.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis dampak prosedur pajanan hipoksia hipobarik intermiten yang dilakukan di TNI AU terhadap jaringan ginjal tikus dengan jumlah pajanan yang berbeda-beda pada masing-masing kelompok. Seperti telah dijelaskan sebelumnya, aspek protektif terhadap stres oksidatif diukur dari jumlah

antioksidan yang terbentuk. Pada penelitian ini dipilih sistem pertahanan enzimatis MnSOD yang terdapat di mitokondria. Mitokondria merupakan organel sel yang paling berperan dalam rantai pernapasan. Stres oksidatif diukur dari produk yang dihasilkan, yaitu MDA, yang telah dianggap sebagai penanda stres oksidatif.<sup>5,13,14</sup>

## Metode

Bentuk desain penelitian yang akan digunakan adalah bentuk studi eksperimental. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian disertasi Program Doktor Ilmu Biomedik yang menelusuri peran *Hypoxia Inducible Factor 1A (HIF-1A)* pada induksi hipoksia hipobarik sehingga perlakuan hipobarik intermiten telah dilakukan di Lakespra Saryanto. Penelitian dilaksanakan dari bulan Juni 2008 hingga Desember 2009.

Sampel pada penelitian ini adalah hewan coba tikus jantan jenis Wistar berumur 8 minggu dengan berat badan 150-200 g. Jumlah hewan coba pada penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus Federer, dengan hasil lima sampel untuk setiap perlakuan. Oleh karena terdapat 5 kelompok, jumlah total sampel yang diperlukan adalah 25 ekor tikus. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah tikus percobaan harus tampak sehat dan mendapat perlakuan lengkap sesuai protokol. Tikus harus memenuhi keadaan hipoksia hipobarik dengan melihat hasil analisis gas darah (tikus dianggap telah mengalami hipoksia jika saturasi oksigen <95%). Tikus dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan adalah kelompok yang mendapat perlakuan hipoksia hipobarik (dalam *hypobaric chamber*). Kelompok perlakuan terdiri atas 4 kelompok sesuai dengan banyaknya paparan ulangan dengan hipoksia yaitu:

- Kelompok I (terpapar satu kali hipoksia hipobarik ILA awal *type I chamber flight profile*).
- Kelompok II (terpapar dua kali hipoksia hipobarik, yaitu satu kali seperti kelompok I diatas dan 1 kali ILA penyegaran *Type II chamber flight profile* untuk penerbang angkut).
- Kelompok III (terpapar 3 kali hipoksia hipobarik, yaitu seperti kelompok II ditambah satu kali

*Type II chamber flight profile* untuk penerbang angkut).

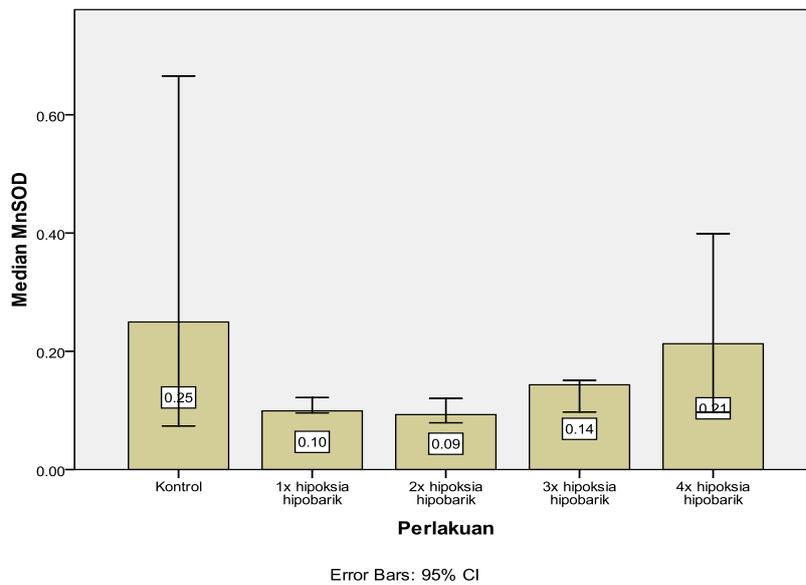
- Kelompok IV (terpapar 4 kali hipoksia, yaitu seperti kelompok III ditambah satu kali *Type II Chamber flight profile* untuk penerbang angkut). Interval untuk setiap perlakuan masing-masing selama 7 hari.

Semua tikus mendapat makan dan minum *ad libitum*. Pada hari ke-1,8,15 dan 22 sesuai dengan kelompoknya secara bertahap tikus dimasukkan ke dalam *hypobaric chamber* dan mendapat perlakuan sesuai protokol yang diuraikan di atas. Setelah prosedur tersebut tikus langsung diambil dari kandang perlakuan untuk pemeriksaan analisis gas darah. Kemudian tikus diberikan anestesi dengan eter, ditimbang dan dimatikan serta dilakukan pengambilan sampel organ. Organ ginjal yang telah dibedah dikirimkan dan disimpan di laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (FKUI/RSCM) untuk dilakukan pengukuran kadar MnSOD, protein serta MDA.

Aktivitas spesifik enzim MnSOD pada jaringan ditentukan dengan menggunakan kit Ransod<sup>®</sup>. Untuk menghambat CuSOD dan ZnSOD ditambahkan NaCN 5 mM dengan periode inkubasi selama 5 menit. Pembacaan serapan pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 505 nm pada detik ke-30 (A1) dan menit ke-3 (A2). Dari pembacaan ini, ditentukan % inhibisi dan konsentrasi MnSOD dalam Unit MnSOD/ml berdasarkan kurva standar yang telah dibuat sebelumnya. Kadar MDA jaringan ditentukan secara spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm dengan metode Wills menggunakan TBA 0,7% (*thiobarbituric acid*). Analisis data dilakukan dengan Microsoft Excel 2007 dan SPSS for Windows versi 17.

## Hasil

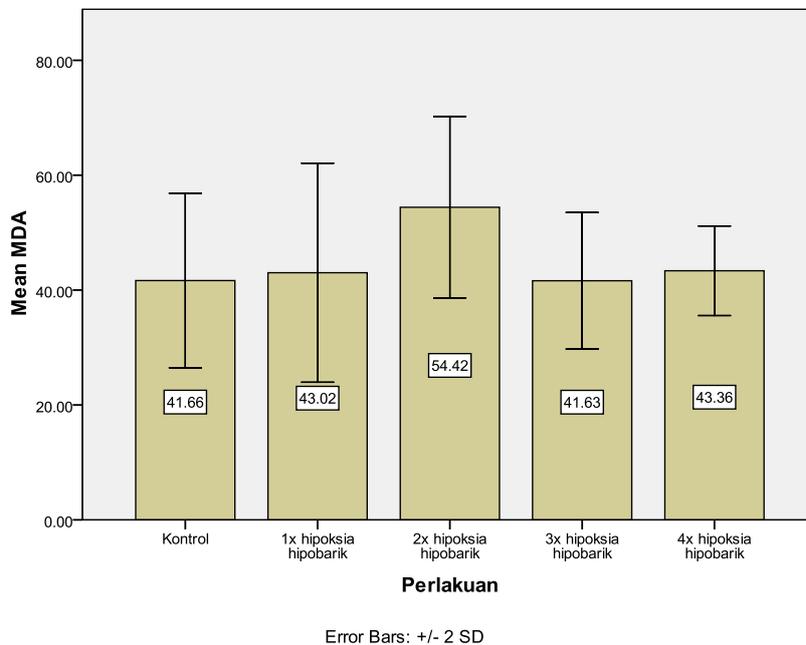
Pengukuran aktivitas dari berbagai konsentrasi MnSOD dilakukan dengan menggunakan kit dari RanSOD<sup>®</sup>. Hasil pengukuran dalam unit SOD/mg protein, dengan median (sebaran data tidak normal, p<0,05) masing-masing kelompok dapat dilihat pada Grafik.1.



**Grafik.1 Hubungan Perlakuan dengan Median Aktivitas MnSOD (unit/mg protein).**

Angka di tengah batang menunjukkan nilai median MnSOD. Angka di dalam kotak berwarna merah menunjukkan nilai maksimum. Angka di dalam kotak berwarna hijau menunjukkan nilai minimum.

Rerata kadar MDA jaringan dapat dilihat pada Grafik. 2.



**Grafik 2. Hubungan Perlakuan dengan Mean Kadar MDA (nmol/L).**

Error Bar merepresentasikan nilai 2 SD. Tanda menunjukkan adanya perbedaan bermakna terhadap kontrol ( $p < 0,05$ ). Tanda \* menunjukkan adanya perbedaan bermakna terhadap kelompok 2x hipoksia hipobarik.

Uji T tidak berpasangan dilakukan untuk data MnSOD kelompok K, F, G, H dan MDA kelompok K, E, F, G, H. Dari hasil uji ini, diperoleh bahwa terdapat perbedaan bermakna hanya antara kadar MDA kelompok F dengan K ( $p < 0,05$ ). Selain itu juga terdapat perbedaan bermakna antara kadar MDA kelompok G dan H terhadap kelompok F ( $p < 0,05$ ). Khusus untuk data MnSOD kelompok E digunakan uji Mann-Whitney karena syarat uji T tidak berpasangan tidak terpenuhi. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara data MnSOD kelompok E dengan kontrol ( $p > 0,05$ ).

Kemudian dilakukan uji korelasi untuk mencari apakah terdapat hubungan antara kadar MnSOD dengan MDA pada penelitian ini. Uji Pearson menunjukkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara kadar MnSOD dan MDA ( $p > 0,05$ ).

## Diskusi

### **Pengaruh Perlakuan Terhadap MnSOD**

Pajanan terhadap kondisi hipoksia hipobarik mampu meningkatkan produksi radikal bebas dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif pada seluruh bagian tubuh, termasuk ginjal. Stres oksidatif pada penelitian ini dinyatakan dengan aktivitas MnSOD.

Secara alami pada ginjal terdapat aktivitas MnSOD.<sup>17</sup> Pada penelitian ini terbukti bahwa ditemukan MnSOD pada kelompok kontrol. Peningkatan MnSOD dinilai berhubungan dengan adaptasi, pada penelitian Rahman dkk pemberian suplementasi MnSOD terbukti memiliki efek protektif terhadap ginjal. MnSOD mampu meningkatkan fungsi ginjal dan mengurangi jejas jaringan pada iskemia.<sup>17,18</sup>

Pada penelitian ini tidak tampak perbedaan yang bermakna kadar MnSOD ( $p > 0,05$ ). Variasi MnSOD yang terjadi dapat disebabkan oleh berbagai faktor.<sup>17,18</sup> Di antaranya, tikus pada periode fetus, neonatus dan dewasa memiliki peningkatan aktivitas enzim dan RNA messenger MnSOD.<sup>18</sup> Akan tetapi, pada penelitian ini digunakan tikus dengan umur dan berat yang homogen, sehingga faktor tersebut dapat disingkirkan.

Pada penelitian Chen dkk. menggunakan tikus yang diberi perlakuan berupa hipoksia dengan *altitude chamber* 5.500 m, 15 jam per hari selama 4 minggu dibandingkan dengan kontrol pada permukaan air laut. Tampak pada jaringan ginjal menunjukkan aktivitas SOD dan SOD mRNA yang lebih tinggi. Namun peroksidasi lipid pada kedua grup tidak menunjukkan perbedaan yang

bermakna.<sup>19</sup> Perbedaan perlakuan hipoksia yang dilakukan pada penelitian Chen dkk. dengan penelitian ini dapat menyebabkan terjadinya perbedaan hasil.

Penelitian dengan metode yang sama dengan Chen dkk. telah dilakukan kembali oleh Yang dkk. dan memang terjadi peningkatan enzim antioksidan Cu/ZnSOD, MnSOD dan katalase setelah perlakuan hipoksia selama 4 minggu.<sup>16</sup> Akan tetapi, pada penelitian tersebut hipoksia bersifat kronik sehingga terdapat kemungkinan telah terjadi adaptasi terhadap sistem antioksidan.<sup>20</sup>

Berbagai penelitian terhadap aktivitas MnSOD dan MDA pada ginjal tikus setelah perlakuan hipoksia hipobarik memang menunjukkan hasil yang berbeda.<sup>15,16,19,20</sup> Nakanishi dkk. melakukan percobaan hipoksia dengan perlakuan selama 21 hari pada 5.500 m (ketinggian yang sama dengan Chen dkk.). Penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas MnSOD ginjal tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa durasi hipoksia hipobarik sangat berpengaruh terhadap stres oksidatif yang terjadi.<sup>19</sup>

Hipoksia kronik diperkirakan menimbulkan *upregulation* dari ROS sehingga aktivitas MnSOD meningkat. Peningkatan ini merupakan bentuk adaptasi yang dinilai renoprotektif.<sup>20</sup>

Zhang dkk. mendapatkan hasil aktivitas MnSOD yang serupa dengan penelitian ini. Dalam penelitian tersebut tikus dimasukkan ke dalam *hypobaric chamber* 1.500 m dan 5.500 m selama 4 minggu dan 8 minggu. Pada semua kelompok, tidak terdapat perubahan kadar SOD dan MDA yang bermakna.<sup>15</sup>

Perbedaan hasil antara penelitian-penelitian yang telah dilakukan dengan penelitian ini dapat terjadi karena berbagai faktor, di antaranya akibat dari perbedaan dalam durasi hipoksia dan durasi pemulihan antarhipoksia.<sup>21</sup> Bentuk dan pola hipoksia yang terjadi diperkirakan dapat mempengaruhi adaptasi tubuh, terutama dalam hal ini sistem MnSOD.

Pada penelitian ini, tidak ditemukan adanya perubahan MnSOD yang bermakna. Penelitian Yang dkk. menunjukkan bahwa pada ginjal, terdapat variasi respons terhadap stres oksidatif antara jaringan korteks dan medula ginjal.<sup>16</sup> Pada penelitian ini tidak dilakukan pemisahan jaringan korteks dan medula ginjal sehingga dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Selain itu, penelitian Anatriera dkk dengan sampel yang sama dengan penelitian ini menunjukkan peningkatan aktivitas spesifik katalase pada semua perlakuan.<sup>22</sup> Hal ini mungkin menandakan bahwa untuk pajanan

yang demikian mekanisme pertahanan oleh katalase lebih dominan dibandingkan MnSOD.

Penelitian pada jaringan lain dengan perlakuan serupa penelitian ini juga dilakukan pada hati, paru, jantung dan otak. Pada hati dan paru, aktivitas MnSOD ditemukan menurun setelah pajanan hipoksia hipobarik tetapi penurunan tersebut belum dapat dikatakan sebagai mekanisme protektif maupun patologis. Pada jantung, respon terhadap pajanan hipoksia hipobarik berbeda dengan organ-organ lainnya. Jantung menunjukkan peningkatan MnSOD hanya pada pajanan pertama dan setelahnya mengalami penurunan. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa pajanan hipoksia hipobarik memiliki efek yang bervariasi pada organ yang berbeda.

Secara klinis, perlakuan berupa hipoksia kronis pada ginjal tikus memiliki efek renoprotektif, di antaranya menghambat progresi proteinuria dan kerusakan struktural. Hal ini terjadi melalui aktivasi HIF.<sup>23</sup> Oleh karena itu, sampai saat ini perlakuan hipoksia kronis belum dapat dikatakan memiliki efek yang merusak pada ginjal, karena perbedaan hasil antarpelelitian, namun dapat dikatakan hipoksia yang kronis bersifat protektif pada ginjal.

### **Pengaruh Perlakuan terhadap MDA**

MDA merupakan parameter stres oksidatif yang berasal dari peroksidasi lipid.<sup>24,25</sup> Pada pajanan terhadap kondisi hipoksia hipobarik, orang yang terbiasa dan sudah beradaptasi tidak menunjukkan perubahan kadar MDA plasma, sedangkan pajanan pada mereka yang belum pernah terpajan sebelumnya akan meningkatkan kadar MDA plasma.<sup>26</sup>

Terdapat perbedaan bermakna pada kadar MDA antara kelompok perlakuan 2x hipoksia hipobarik terhadap kontrol serta antara kelompok 3x dan 4x hipoksia hipobarik terhadap kelompok 2x hipoksia hipobarik ( $p < 0,05$ ). Berbeda dengan penelitian Chen dkk yang menunjukkan perbedaan bermakna pada MnSOD dan tidak ada perbedaan bermakna pada MDA, penelitian ini justru menunjukkan hasil yang sebaliknya. Terdapat faktor-faktor yang mungkin berpengaruh, di antaranya adalah perbedaan pola perlakuan hipoksia hipobarik yang diterapkan dalam penelitian masing-masing.

Penelitian Nakanishi dkk. menunjukkan bahwa kadar MDA pada jaringan ginjal meningkat dibandingkan kontrol, serupa dengan hasil pada penelitian ini. Dalam pajanan 5 hari pertama, pengaruh stres oksidatif berupa peningkatan MDA baru terlihat pada jantung dan hati, namun tidak pada organ lain.<sup>19</sup>

Pada penelitian ini, MDA meningkat setelah perlakuan 2x hipoksia hipobarik. Terdapat beberapa kemungkinan yang menyebabkan peningkatan ini. Pertama, jumlah pajanan terhadap kondisi hipoksia hipobarik dapat mencetuskan peningkatan stres oksidatif, sehingga pada perlakuan 2x hipoksia hipobarik tampak peningkatan kadar MDA yang bermakna dibandingkan kontrol. Penyebab lain yang mungkin berpengaruh adalah karena perlakuan hipoksia hipobarik pada kelompok ini berbeda dengan pada kelompok 1x hipoksia hipobarik. Pada pajanan pertama, dilakukan dengan ILA awal *type I chamber flight profile*, sedangkan pada pajanan berikutnya dilakukan ILA penyegaran *type I chamber flight profile*.

Penelitian Yakub dkk dengan sampel yang sama menunjukkan bahwa pada kelompok 2x hipoksia hipobarik terjadi peningkatan karbonil yang bermakna dibandingkan kontrol. Karbonil merupakan penanda stres oksidatif yang menilai kerusakan protein. Data ini mendukung bahwa kelompok 2x hipoksia hipobarik mengalami stres oksidatif yang signifikan.<sup>27</sup> Kadar MDA pada kelompok 3x dan 4x hipoksia hipobarik menunjukkan penurunan yang bermakna terhadap kelompok 2x hipoksia hipobarik. Hal ini mungkin menandakan adanya adaptasi tubuh terhadap stres oksidatif setelah pajanan 2x hipoksia hipobarik. Akibatnya pada pajanan berikutnya stres oksidatif yang terjadi, yang digambarkan oleh kadar MDA, menurun bermakna dibandingkan sebelumnya ( $p < 0,05$ ) hingga tidak lagi menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kontrol ( $p > 0,05$ ).

Pada organ lain dengan perlakuan sama, yaitu hati, paru dan otak, secara umum terjadi penurunan kadar MDA. Pada hati, penurunan ini diduga karena adanya kebocoran hasil peroksidasi akibat kerusakan jaringan. Pada jantung, kadar MDA turun setelah 3x pajanan namun meningkat setelah 4x pajanan. Hal ini mungkin menandakan bahwa adaptasi telah terjadi namun tidak mampu mengatasi stres oksidatif yang terjadi setelahnya.

### **Hubungan MnSOD dan MDA**

Pada penelitian ini, tidak terdapat hubungan antara MnSOD dan MDA. Hubungan antara MnSOD dan MDA masih belum dapat dijelaskan. Fenomena serupa juga terjadi pada jaringan otak, jantung dan ginjal tikus yang mendapat perlakuan serupa. Penelitian pada hepar tikus menunjukkan bahwa seiring dengan usia MnSOD semakin berkurang, sedangkan MDA meningkat.<sup>28</sup> Terdapat kemungkinan bahwa fenomena tersebut juga terjadi

di ginjal. Tidak adanya hubungan bermakna dalam penelitian ini mungkin dipengaruhi oleh perbedaan faktor oksidan dan antioksidan yang berperan pada stres oksidatif di ginjal. Peranan hipoksia hipobarik pada ginjal terhadap sistem antioksidan MnSOD dianggap tidak memiliki hubungan dengan status stres oksidatif yang ditandai oleh kadar MDA. Berbeda dengan ginjal, pada hati tikus terdapat korelasi positif sedang antara MnSOD dengan MDA. Ketika dikorelasikan dengan karbonil, baik MnSOD maupun MDA pada jaringan ginjal tidak menunjukkan hubungan yang bermakna. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan komponen sistem antioksidan dan oksidan yang berperan dalam stres oksidatif pada ginjal.

### Kesimpulan

Tidak terdapat perbedaan aktivitas MnSOD dalam jaringan ginjal tikus yang bermakna antara berbagai perlakuan pajanan hipoksia hipobarik intermiten. Akan tetapi, terdapat perbedaan kadar MDA dalam jaringan ginjal tikus yang bermakna antara berbagai perlakuan pajanan hipoksia hipobarik intermiten 2x dibandingkan kontrol dan antara perlakuan pajanan hipoksia hipobarik intermiten 3x dan 4x terhadap perlakuan pajanan 2x. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara perubahan aktivitas MnSOD dengan perubahan kadar MDA pada ginjal tikus.

### Daftar Pustaka

- Block AW, Borer WZ, Bruce BB, Christopger K, Drake RL, Jangid AK, et al, editor. *Dorland's illustrated medical dictionary*. Edisi ke-31. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. Hypoxia; h. 921.
- Magalhães J, Ascensão A, Soares JMC, Neuparth MJ, Ferreira R, Oliveira J, et al. Acute and severe hypobaric hypoxia-induced muscle oxidative stress in mice: the role of glutathione against oxidative damage. *Eur J Appl Physiol* 2004; 91: 185-91.
- Guyton AC, Hall JE. *Aviation, space, and deep sea diving physiology*. Dalam: Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. Edisi ke-11. United States of America: Saunders Elsevier. 2006.h.537-51.
- Ogle J, Ross H. *Aerospace medicine*. Medscape reference [online] 2008 [disitasi 25 Juni 2009]. Tersedia dari: URL: <http://emedicine.medscape.com/article/810246-overview>
- Smith C, Marks AD, Lieberman M. Oxygen toxicity and free radical injury. Dalam: Smith C, Marks AD, Lieberman M. *Marks basic medical biochemistry: a clinical approach*. Edisi ke-2. United States of America: Lippincott Williams & Wilkins. 2004. h. 439-56.
- Carroll VA, Ashcroft M. Role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  versus HIF-2 $\alpha$  in the regulation of HIF target genes in response to hypoxia, insulin-like growth factor-I, or loss of von hippel-lindau function: implications for targeting the HIF pathway. *Cancer Res* 2006; 66: 6264-70.
- Gwinner W, Deters-Evers U, Brandes RP, Kubat B, Koch KM, Pape M, Olbricht CJ. Antioxidant-oxidant balance in the glomerulus and proximal tubule of the rat kidney. *J Physiol* 1998 Jun 1;509 (Pt 2):599-606.
- Vaziri ND, Dicus M, Ho ND, Boroujerdi-Rad L, Sindhu RK. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency. *Kidney Int* 2003 Jan; 63(1):179-85.
- Mulyawan M. Perubahan ekspresi gen hypoxia inducible factor (HIF)-1  $\alpha$  pasca terjadinya hipoksia intermiten yang berulang pada otak tikus yang terpapar hipoksia hipobarik. Proposal Penelitian. Jakarta: Universitas Indonesia. 2007.
- Ahed SB, Ronskley PR, Hemmelgarn BR, Tsai WH, Manns BJ, Tonelli M, et al. Nocturnal hypoxia and loss of kidney function. *PLoS One* 2011; 6(4): e19029.
- Ding Y, Li Y, Zimmerman MC, Schultz HD. Elevated mitochondrial superoxide contributes to enhanced chemoreflex in heart failure rabbits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010 February; 298(2): R303.
- Jang YC, Pérez VI, Song W, Lustgarten MS, Salmon AB, Mele J, et al. Overexpression of Mn superoxide dismutase does not increase life span in mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009 November; 64A(11): 1114–25.
- Moore K, Roberts LJ. Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic. Res.* 1998; 28 (6): 659–71
- De Groot H, Littauer A. Hypoxia, reactive oxygen, and cell injury. *Free Radic Biol Med* 1989;6:541–51.
- Zhang QJ, Zhan H, Li T, Hao AG, Wan CH, Xin YM. Effects of simulated flight hypobaric hypoxia and oxygen inhalation on free radical metabolism in various organs of mice. *Space Med Med Eng (Beijing)* 1999 Dec;12(6):414-7.
- Yang C, Ma M, Chien C, Wu M, Sun W, Chen C. Hypoxic preconditioning attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat kidneys. *J Physiol* 2007 July 1; 582(Pt 1): 407–19.
- Rahman NA, Mori K, Mizukami M, Suzuki T, Takahashi N, Ohyama C. Role of peroxynitrite and recombinant human manganese superoxide dismutase in reducing ischemia-reperfusion renal tissue injury. *Transplant Proc* 2009 Nov;41(9):3603-10.
- Carbone GM, St Clair DK, Xu YA, Rose JC. Expression of manganese superoxide dismutase in bovine kidney cortex during development. *Pediatr Res.* 1994 Jan;35(1):41-4.
- Nakanishi K, Tajima F, Nakamura A, Yagura S, Ookawara T, Yamashita H, et al. Effects of hypobaric hypoxia on antioxidant enzymes in rats. *J Physiol* 1995;489:869–86.
- Chen C, Tsai S, Ma M, Wu M. Hypoxic preconditioning enhances renal superoxide dismutase levels in rats. *J Physiol* 2003; 552(2):561–69.

21. Gonchar O, Mankovska I. Antioxidant system in adaptation to intermittent hypoxia. *Journal of Biological Sciences* 2010;10(6):545-54.
22. Anatriera RA. Aktivitas spesifik katalase jaringan ginjal tikus yang diinduksi hipoksia hipobarik akut berulang. Juli 2009. [disitasi 10 April 2011]; Tersedia dari: URL: <http://www.digilib.ui.ac.id/opac/themes/libri2/>
23. Song YR, You SJ, Lee YM, Chin HJ, Chae DW, Oh YK, et al. Activation of hypoxia-inducible factor attenuates renal injury in rat remnant kidney. *Nephrol Dial Transplant* 2010 Jan;25(1):77-85.
24. Wiesener MS, Jurgensen JS, Rosenberger C, Scholze CK, Horstrup JH, Warnecke C, et al. Widespread hypoxia-inducible expression of HIF-2 in distinct cell populations of different organs. *The FASEB Journal* 2003;17:271-3.
25. Jewell UR. Induction of HIF-1 $\alpha$  in response to hypoxia is instantaneous. *The FASEB Journal* 2001;15:1312-4.
26. Siuris NA, Kriukov NN, Sarbaeva NN, Miliakova MN. The level of malone dialdehyde in blood plasma as a manifestation of hepatic function in pilots of various professional categories. *Aviakosm Ekolog Med* 1998;32(3):73-7.
27. Yakub A. Pengaruh hipoksia hipobarik intermiten pada kadar karbonil jaringan ginjal tikus. [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2011.
28. Bufeng L. Changes of malondialdehyde and Mn superoxide dismutase in the rat liver with aging. *Journal of Guiyang Medical College* 1992;03.