

EFEK REMOTE ISCHEMIC PRECONDITIONING TERHADAP KADAR CKMB TIKUS WISTAR PASCA INFARK MIOKARD YANG DIINDUKSI ISOPROTERENOL

Muhammad Fa'iz Ramadhan¹, Novi Anggriyani², Noor Wijayahadi³

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Kardiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

JL. Prof. H. Soedarto, SH, Tembalang-Semarang 50275, Telp.02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Infark miokard adalah salah satu penyakit yang paling banyak menyebabkan kematian. Infark miokard dapat terjadi karena adanya iskemia berkepanjangan pada otot jantung. Salah satu indikator terjadinya infark miokard adalah CKMB. Terdapat suatu iskemia singkat dan sementara suatu organ sebelum infark miokard yang dapat melindungi otot jantung dari kerusakan yang disebut RIPC.

Tujuan : Mengetahui efek RIPC terhadap kadar CKMB tikus pasca infark miokard.

Metode : Penelitian eksperimental murni dengan rancangan *randomized posttest only control group design*. Sampel sebanyak 21 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan RIPC 3x5 menit (P1), dan kelompok perlakuan RIPC 3x15 menit (P2). Ketiga kelompok tersebut diinjeksi dengan isoproterenol untuk menginduksi infark miokard. Kadar CKMB diukur menggunakan spektrofotometer. Uji statistik menggunakan Uji *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*.

Hasil : Kadar CKMB rerata pada kelompok kontrol sebesar 217,29 U/L, kelompok perlakuan RIPC 3x5 menit sebesar 224,57 U/L, dan kelompok perlakuan RIPC 3x15 menit sebesar 141,14 U/L. Uji *Post Hoc LSD* menunjukkan kadar CKMB berbeda pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan RIPC 3x15 menit ($p=0,022$) dan tidak terdapat perbedaan kadar CKMB pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan RIPC 3x5 menit ($p=0,873$).

Simpulan : Terdapat perbedaan kadar CKMB antara tikus wistar kelompok P2 dengan kelompok K. Tidak terdapat perbedaan kadar CKMB antara tikus wistar kelompok P1 dengan kelompok K.

Kata kunci: RIPC, Infark Miokard, Isoproterenol.

ABSTRACT

THE EFFECT OF REMOTE ISCHEMIC PRECONDITIONING TOWARDS WISTAR RAT CKMB LEVELS POST MYOCARDIAL INFARCTION THAT INDUCED BY ISOPROTERENOL

Background : Myocardial infarction is one of the most disease causing death. Myocardial infarction may occur due to prolonged ischemia to cardiac muscle. One indicator of myocardial infarction is CKMB. There is a brief and transient ischemia of an organ before myocardial infarction which can protect the heart muscle from damage called RIPC.

Objective : To determine the effect of RIPC on CKMB levels of rat after myocardial infarction.

Methods : True experimental research with randomized posttest only control group design. 21 male Wistar rats were divided into 3 groups: control group (K), the group RIPC 3x5 minutes group (P1), and RIPC 3x15 minutes group (P2). The three groups were injected with

isoproterenol to induce myocardial infarction. CKMB levels were measured using a spectrophotometer. Statistical test using One Way ANOVA test and Post Hoc LSD test.

Results : The average CKMB levels were 217.29 U/L in control group, 224.57 U/L in 3x5 minutes RIPC group, and 141.14 U/L in 3x15 minutes RIPC group. Post Hoc LSD test showed different levels of CKMB in control group and RIPC 3x15 minutes RIPC group ($p = 0.022$) and there were no differences in levels of CKMB in the control group and 3x5 minutes RIPC group ($p = 0.873$).

Conclusion : There are differences in the levels of CKMB between Wistar rats P2 group with K group. There were no differences in levels of CKMB between Wistar rats P1 group with K group.

Keywords : RIPC, Myocardial Infarction, Isoproterenol.

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit yang paling banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia. Sekitar 17.5 juta orang meninggal pada tahun 2012 oleh karena penyakit kardiovaskular. Dari jumlah tersebut sekitar 7.4 juta orang meninggal karena penyakit jantung koroner.¹

Salah satu spektrum dari sindrom koroner akut adalah infark miokard. Infark miokard memiliki definisi suatu kematian *irreversible* dari otot jantung akibat dari iskemia yang berkepanjangan. Untuk mendiagnosis secara klinis infark miokard digunakan pemeriksaan Elektrokardiogram (EKG), pemeriksaan laboratorium dan *cardiac imaging*.² Salah satu pemeriksaan laboratorium dari infark miokard adalah pemeriksaan kadar *Creatine Kinase MB* (CKMB). Jika terjadi kerusakan pada otot jantung kadar CKMB dalam darah akan meningkat.³ CKMB memiliki waktu paruh pendek dan kembali kadar awal dalam waktu 48 jam setelah infark miokard akut yang menjadikan CKMB digunakan sebagai penanda untuk *reinfarction* dalam hubungannya dengan nyeri dada klinis dan perubahan EKG setelah 18 jam dari awal infark miokard.⁴ Aterosklerosis menjadi penyebab yang paling sering dari infark miokard. Pada aterosklerosis, terdapat trombus yang menyumbat arteri koroner jantung dimana hal tersebut akan mengakibatkan penurunan suplai darah ke otot-otot jantung sehingga terjadi iskemia dan jika terjadi berkepanjangan akan menyebabkan infark miokard.²

Meskipun iskemia yang berkepanjangan pada otot jantung akan mengakibatkan infark miokard, terdapat suatu mekanisme mengenai suatu iskemia yang dapat melindungi otot jantung dari kematian yaitu *ischemic preconditioning* (IPC). IPC merupakan suatu iskemia yang singkat dan sementara yang terjadi sebelum iskemia yang berkepanjangan. IPC pertama

kali diperkenalkan oleh Murray dkk tahun 1986 pada suatu percobaan dimana arteri koroner anjing dilakukan oklusi selama 5 menit dan reperfusi selama 5 menit dalam 4 siklus, kemudian arteri koroner yang sama dilakukan oklusi berkepanjangan hingga terjadi infark miokard. Ternyata dari percobaan tersebut tingkat infark miokard pada anjing yang dilakukan IPC lebih rendah daripada anjing yang tidak dilakukan IPC.⁵

IPC dapat juga dilakukan pada dua organ yang berbeda. Berbeda di sini dalam artian berbeda antara organ asal yang dilakukan iskemia dan organ yang menjadi target dari iskemia. IPC ini disebut dengan *remote ischemic preconditioning (RIPC)*. RIPC pertama kali dikemukakan oleh Przyklenk dkk tahun 1993 yang melakukan percobaan pada anjing dimana arteri yang dilakukan IPC berbeda namun masih berada pada organ yang sama yaitu jantung.⁶ Atas dasar tersebut pada tahun 1997 Birnbaun dkk menemukan suatu fenomena dimana lengan yang dilakukan IPC ternyata dapat melindungi jantung dari infark miokard.⁷

Meskipun sudah dilakukan berbagai penelitian mengenai RIPC, mekanisme dari RIPC masih belum diketahui secara pasti. Oleh sebab itu peneliti ingin mengetahui lebih lanjut mengenai efek dari RIPC sebagai kardioprotektor terhadap infark miokard.

METODE

Penelitian berjenis eksperimental murni dengan rancangan *randomized posttest only control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Sampel penelitian adalah 21 ekor tikus wistar jantan yang dipilih secara acak berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini yaitu tikus wistar jantan, umur 6-8 minggu, berat tubuh 200-250 gram, bergerak aktif, dan belum pernah digunakan untuk penelitian. Sementara kriteria eksklusinya yaitu memiliki kelainan anatomis, mati selama masa adaptasi, dan mati saat diberi perlakuan. Sampel kemudian dibagi menjadi 3 kelompok secara *simple random sampling* yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1), dan kelompok perlakuan 2 (P2). Seluruh sampel diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari. Kemudian tiap kelompok diberi perlakuan *remote ischemic preconditioning (RIPC)* masing-masing. Perlakuan RIPC tersebut yaitu pengikatan lengan kiri depan tikus wistar selama beberapa waktu kemudian ikatannya dilepas selama beberapa waktu dan diulang dalam beberapa siklus. Kelompok K tidak diberi perlakuan RIPC, kelompok P1 diberi perlakuan RIPC oklusi 5 menit dan reperfusi 5 menit selama 3 siklus, dan kelompok P2 diberi

perlakuan RIPC oklusi 15 menit dan reperfusi 15 menit selama 3 siklus. Setelah itu masing-masing kelompok diinduksi dengan isoproterenol selama 2 hari. Kemudian pada hari ketiga darah hewan coba diambil untuk dilakukan pengukuran kadar CKMB.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan RIPC. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar CKMB. Data yang dikumpulkan adalah data primer yang diperoleh dari pemeriksaan laboratorium. Data tersebut kemudian diuji normalitasnya dengan uji *Sapphiro-Wilk* dan didapatkan data tidak terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan transformasi logaritma dan diuji normalitas dengan *Sapphiro-Wilk* dan didapatkan hasil yang normal. Kemudian dilakukan uji *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD* dengan signifikansi $p < 0,05$ dan interval kepercayaan 95%.

HASIL

Pada penelitian didapatkan hasil yaitu kelompok kontrol memiliki rata-rata kadar CKMB sebesar 217,29 U/L, sementara kelompok perlakuan 1 memiliki rata-rata kadar CKMB yang lebih tinggi yaitu 224,57 U/L. Sedangkan kelompok perlakuan 2 memiliki rata-rata kadar CKMB yang paling rendah yaitu 141,41 U/L.

Tabel 1. Rerata Kadar CKMB

Kelompok	Rerata Kadar CKMB
Kontrol	217,29 U/L
Perlakuan 1	224,57 U/L
Perlakuan 2	141,14 U/L

Dari hasil uji *One Way Anova* didapatkan hasil signifikansi $p = 0,038$ yang berarti terdapat perbedaan kadar CKMB yang bermakna paling tidak pada dua kelompok dari total tiga kelompok. *Uji Post Hoc LSD* menunjukkan kadar CKMB secara signifikan berbeda pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2 ($p < 0,05$). Sedangkan antara kelompok kontrol dengan kelompok 1 tidak terdapat perbedaan kadar CKMB ($p > 0,05$).

Tabel 2. Uji Post Hoc LSD

Kelompok		Rerata Perbedaan	Signifikansi
Kontrol	Perlakuan 1	0,013376231	0,873
	Perlakuan 2	0,207021471*	0,022*
Perlakuan 1	Kontrol	-0,013376231	0,873
	Perlakuan 2	0,193645240*	0,031*
Perlakuan 2	Kontrol	-0,207021471*	0,022*
	Perlakuan 1	-0,193645240*	0,031*

*Uji Post-Hoc LSD bermakna jika $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa kadar CKMB pada kelompok 3 yaitu kelompok RIPC selama 3 siklus 15 menit oklusi dan 15 menit reperfusi lebih rendah daripada kelompok kontrol yang tidak dilakukan RIPC. Sementara kadar CKMB pada kelompok 2 yaitu kelompok RIPC selama 3 siklus 5 menit oklusi dan 5 menit reperfusi tidak terdapat perbedaan dengan kelompok kontrol.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh C Ren dkk pada tahun 2008 dimana dalam penelitiannya dikemukakan bahwa kelompok RIPC yang dilakukan selama 2 siklus 5 menit oklusi dan 5 menit reperfusi tidak memiliki perbedaan luas infark setelah stroke dengan kelompok kontrol. Sementara kelompok RIPC yang dilakukan selama 3 siklus 15 menit oklusi dan 15 menit reperfusi memiliki perbedaan luas infark setelah stroke dengan kelompok kontrol. Dalam penelitian tersebut dijelaskan bahwa RIPC mampu melindungi otak dari *focal ischemia* dimana efek perlindungan tersebut tergantung dari jumlah siklus oklusi dan reperfusi.⁸ Perlindungan yang tergantung dari jumlah siklus oklusi dan reperfusi juga dilaporkan oleh Ce Xu dkk pada tahun 2012. Dalam penelitian tersebut dikemukakan bahwa waktu akumulasi dari oklusi dan reperfusi *Remote Ischemic Post Conditioning* yang paling optimal untuk melindungi dari infark pada otak adalah 40 menit hingga 60 menit.⁹

Perlindungan yang diberikan oleh RIPC terbagi menjadi 2 fase yaitu fase awal yang berlangsung dalam 4 jam, dan fase lambat yang dimulai dari jam ke 24 hingga ke 48. Pada fase awal ada perubahan langsung di otot jantung dan sirkulasi koroner, dengan peningkatan aliran diastolik dan vasodilatasi koroner, yang mengurangi luas infark dan risiko reperfusi

aritma, dan membantu mempertahankan fungsi ventrikel kiri. Fase selanjutnya tergantung pada sintesis protein, yang konsisten dengan perubahan ekspresi gen di kardiomyosit dan leukosit di periode setelah iskemia miokard. Mekanisme patofisiologis yang terlibat dalam RIPC masih belum sepenuhnya dipahami, namun dapat dibagi menjadi tiga komponen yaitu pelepasan efektor dalam jaringan iskemia, mekanisme komunikasi antara organ *remote* dengan otot jantung, dan induksi dari respon kardioprotektif.¹⁰

Stimulus RIPC yang diberikan pada otot skelet atau organ lain memicu pengeluaran beberapa efektor yang berbeda-beda tiap organnya. Efektor yang memiliki paling besar antara lain adalah adenosin dan bradikinin. Adenosin dan bradikinin memiliki 3 jalur dalam pengaruhnya terhadap RIPC, yaitu jalur humoral yang dikeluarkan melalui aliran darah, jalur neural yang mengaktifasi saraf efferen organ target, dan jalur adenosin yang menekan respon inflamasi sistemik. Untuk dapat melindungi organ target dari infark, efektor yang dikeluarkan selama RIPC tersebut harus memenuhi ambang batas yang dibutuhkan dimana hal tersebut dipengaruhi oleh lamanya proses RIPC.⁹

Penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu RIPC yang dilakukan berupa pengikatan pada ekstremitas dapat memicu stress dan perilaku yang agresif pada tikus hingga mengakibatkan perkelahian dengan tikus lain.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Terdapat perbedaan kadar CKMB antara tikus wistar kelompok P2 dengan kelompok K. Tidak terdapat perbedaan kadar CKMB antara tikus wistar kelompok P1 dengan kelompok K.

Saran

Penulis menyarankan perlunya pemisahan antar hewan coba ketika dilakukan RIPC agar tidak menimbulkan perkelahian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dr. Novi Anggriyani, Sp. JP, FIHA, dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, Ph.D, dr. Sulistiyati Bayu Utami, Ph.D, dr. Satrio Adi Wicaksono, Sp. An serta pihak pihak lain yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung hingga penelitian dan penulisan artikel ini dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO | Cardiovascular diseases (CVDs). World Health Organization; [cited 2016 Jan 21]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/#.VrIw5CcYeDI>.mendeley
2. Zafari A. Myocardial Infarction [Internet]. Medscape. 2015 [cited 2016 Jan 21]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/155919-overview>
3. Schreiber D. Cardiac Markers [Internet]. Medscape. 2015 [cited 2016 Jan 26]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/811905-overview>
4. Junpaparp P. Creatine Kinase [Internet]. Medscape. 2014. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/2074023-overview>
5. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124–36.
6. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner R a, Whittaker P. Regional ischemic “preconditioning” protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation*. 1993;87:893–9.
7. Birnbaum Y, Hale SL, Kloner RA. Ischemic Preconditioning at a Distance : Reduction of Myocardial Infarct Size by Partial Reduction of Blood Supply Combined With Rapid Stimulation of the Gastrocnemius Muscle in the Rabbit. *Circulation* [Internet]. 1997 Sep 2 [cited 2016 Jan 30];96(5):1641–6. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/long/96/5/1641>
8. Ren C, Gao X, Steinberg GK, Zhao H. Limb remote-preconditioning protects against focal ischemia in rats and contradicts the dogma of therapeutic time windows for preconditioning. *Neuroscience*. 2008;151(4):1099–103.
9. Xu C, Yi C, Guo H, Liu Q, Wang L, Li H. Limb remote ischemic postconditioning is effective but also time-course-limited in protecting the brain from I/R injury. *Turkish J Med Sci*. 2012;42(5):918–29.
10. Costa JF, Fontes-Carvalho R, Leite-Moreira AF. Myocardial remote ischemic preconditioning: from pathophysiology to clinical application. *Rev Port Cardiol* [Internet]. 2013;32(11):893–904. Available from: papers3://publication/doi/10.1016/j.repc.2013.02.012