

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sifat Fisika dan Kimiawi Kadmium

Kadmium merupakan unsur logam periode 5 golongan IIB, bernomor atom 48, dan memiliki massa atom relatif 112,411. Kadmium memiliki warna perak dan merupakan produk sampingan dari pengolahan bijih seng. Posisinya dalam tabel periodik kimia pun tepat berada di bawah unsur seng. Keduanya berada pada satu golongan yang sama sehingga akan didapati beberapa kesamaan sifat dari keduanya, termasuk bagaimana proses biologisnya dalam organisme (Royal Society of Chemistry, 2014; Klaassen, 2008).

Kadmium ditemukan pada tahun 1817 oleh Friedrich Stromeyer. Pada tahun 1800-an apoteker-apoteker di Hannover, Jerman membuat seng (II) oksida (ZnO) dengan memanaskan bijih *calamine* yang mengandung senyawa seng (II) karbonat (ZnCO₃). Produk ZnO yang terbentuk beberapa mengalami perubahan warna dari yang seharusnya berwarna putih. Stromeyer yang mendapati masalah tersebut kemudian mengambil bagian yang mengalami perubahan warna tersebut. Ia tidak mengidentifikasi bagian tersebut dan mengasumsikan bahwa komponen tersebut merupakan unsur yang belum diketahui. Stromeyer memisahkan kadmium dari komponen sebagai oksida coklat, dan memanaskannya dengan *lampblack*. Tepat pada tahun 1817 ia menghasilkan logam berwarna perak kebiruan yang ia namai *cadmia* atau kadmium yang diturunkan dari nama bijih yang mengandung ZnCO₃ tadi (Royal Society of Chemistry, 2014).

Kadmium memiliki titik lebur 321,069 °C, titik didih 767 °C, dan massa jenis 8647 kg/m³. Logam kadmium berwujud padat pada suhu ruangan dan bersifat tidak reaktif pada suhu dan tekanan normal apabila berada pada bentukan berukuran besar. Permukaan logam bisa rapuh apabila terkena udara yang lembab. Kadmium reaktif terhadap agen-agen pengoksidasi seperti peroksida, klorat, nitrat, halogen atau senyawa interhalogen seperti klorin tiofluoride juga teradap unsur-unsur seperti sulfur, selen, selenium, atau tellurium. Pereaksian dengan asam nitrat (HNO₃) akan menghasilkan gas beracun nitrogen oksida (N₂O₃). Ledakan bisa terjadi apabila cadmium digabungkan amonium nitrat (NH₄NO₃) atau dibenamkan dalam asam hidrazoat (HN₃). Kadmium yang terbakar dapat dipadamkan dengan air, busa, karbondioksida atau Halon. Kadmium juga akan bereaksi dengan asam kuat dan akan menghasilkan gas hidrogen yang mudah terbakar (H₂). (Royal Society of Chemistry, 2013; Teck Metals, 2013)

2.2 Kadmium di Lingkungan Sekitar

Bahan kimia menjadi hal yang tak terpisahkan dari kehidupan manusia. Setiap detik dalam kehidupannya manusia selalu terpapar oleh bahan tersebut baik berhubungan dengan interaksinya dengan bahan alamiah maupun bahan sintesis. Keterpaparannya terhadap bahan kimia bisa terjadi melalui udara, makanan, air, makanan, maupun berbagai media. Hal tersebut tentu memberikan efek bagi manusia terutama pada kesehatannya (Prüss-Ustün *et al.*, 2011). Peraturan pemerintah pun dibuat untuk mengatur bagaimana interaksi masyarakatnya terhadap bahan-bahan kimia baik yang berpotensi maupun tela teruji secara ilmiah memberikan dampak yang buruk bagi kesehatannya. Prüss-Ustün *et al.* (2011) melakukan *review* terhadap zat-zat kimia yang berdampak

buruk bagi kesehatan manusia. Review mereka fokuskan pada zat-zat kimia yang *burden*-nya terhadap manusia dapat diturunkan secara signifikan melalui manajemen lingkungan dan manajemen okupasional. Salah satu zat kimia yang menjadi objek pembahasan mereka dan memiliki peranan negatif terhadap kesehatan manusia adalah logam kadmium (lambang unsur: Cd).

Kandungan kadmium terbesar berada di Cina, Australia, dan Kazakhstan. Produksi cadmium terbesar dilakukan oleh Cina, Korea Selatan, dan Jepang. Mineral alami yang mengandung jumlah cadmium yang banyak hanyalah greenockite. Beberapa juga terdapat di sphalerite. Hampir semua produk cadmium yang dikomersialkan berasal dari sisa olahan seng (Zn), tembaga (Cu), dan timbal (Pb) (Royal Society of Chemistry, 2014).

Pada kondisi global, penambangan menyumbang produksi cadmium yang meningkat dari tahun 1970 sampai 2004 dari 17.000 ton menjadi 22.000 ton. Konsumsi cadmium relatif konstan pada lebih dari 15 tahun terakhir, yakni sekitar 20.000 ton. (Sochor *et al.*, 2011) Di atmosfer, pada kondisi pembakaran, cadmium berupa gas di udara. Pada saat mendingin, cadmium di udara mudah berikatan dengan bahan-bahan lain, terutama partikel-partikel air, sehingga cadmium cenderung bertebaran di udara dalam bentuk aerosol (Van Hook, 1979; Sochor *et al.*, 2011).

Kadmium bermanifestasi menjadi bermacam-macam senyawa dengan sumber-sumber *intake* yang bervariasi. Gaya hidup yang menyebabkan paparan kadmium antara lain adalah merokok. Spesies *Nicotiana* yang merupakan bahan baku rokok mampu mengonsentrasikan kadmium. Kadmium oksida (CdO) yang dihasilkan dari pembakaran tembakau kemudian dihirup oleh si perokok. Bioavailabilitas cadmium oksida (CdO) dua sampai tiga kali lebih besar pada

ginjal perokok dibandingkan dengan bukan perokok. Merokok diketahui sebagai faktor risiko kanker pankreas dengan kadmium sebagai salah satu karsinogen etiologinya (Luckett *et al.*, 2012).

Kadmium juga sangat banyak dimanfaatkan dalam menunjang kehidupan manusia sehari-hari. Dalam bidang pertanian, kadmium klorida (CdCl_2) terkandung dalam pestisida. Selain itu, kadmium juga terkandung dalam pupuk fosfat. Debu yang terbentuk dari sisa hasil panen pun mungkin menunjukkan kandungan kadmium karbonat (CdCO_3) yang terkandung dalam fungisida. Kadmium juga bisa menjadi logam yang dihasilkan dari pemurnian beberapa bijih logam. Sumber daya manusia yang bekerja di bidang penyolderan, penempaan logam, perpipaan, dan perkapalan merupakan kelompok dengan risiko tinggi. Kadmium sulfida (CdS) digunakan dalam cat untuk mencegah penghitaman karena hidrogen sulfida (H_2S). Makanan menjadi sumber lain paparan kadmium. Kurang lebih dua pertiga *intake* kadmium dari makanan berasal dari makanan produk nabati, sedangkan sepertiganya berasal dari produk hewani. Bioakumulasi kadmium oleh tanaman dan ikan-ikan kerang tersebut dikarenakan *uptake*-nya dari perairan yang tercemar oleh kadmium yang dihasilkan dari limbah pabrik, pembakaran bahan bakar fosil, pestisida, dan pupuk kimiawi (Luckett *et al.*, 2012).

2.3 Kadmium dan Penambangan Batubara

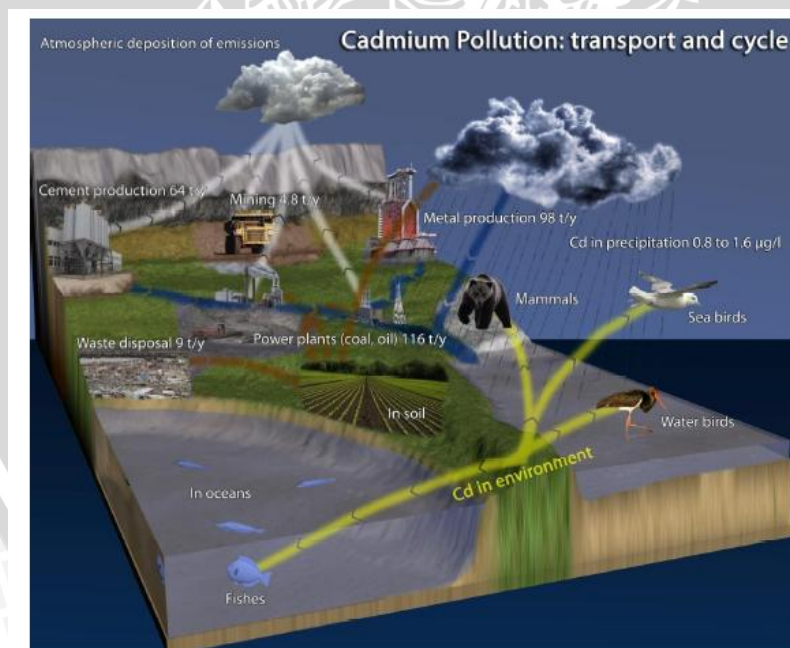
Isu global pencemaran lingkungan terutama ekosistem air oleh xenobiotik yang terus bertambah parah menjadi fokus ilmiah yang populer saat ini. Yang menjadi salah satu latar belakang dilakukannya penelitian ini adalah kondisi pencemaran logam kadmium di Sungai Mahakam yang disebabkan oleh

penambangan batubara terbuka di Kelurahan Sanga-sanga Muara, Kecamatan Sanga-sanga (Sochor *et al.*, 2011; Laporan Praktik Kebidanan Komunitas, 2010).

Di Amerika Serikat (AS) beberapa riset dan *literature review* telah dilakukan guna mengaji dampak penambangan dan penggunaan batubara bagi lingkungan begitu di negara tersebut diberlakukan kebijakan politis pemanfaatan batubara secara massif pada era 1980-an guna memenuhi kebutuhan energi di negara tersebut (Special Committees to Study Health and Environmental Effects of Increased Coal Production, 1979; Van Hook, 1979). Beberapa bahan kimia produk samping pengolahan batubara menjadi fokus studi yang dilakukan, antara lain As, Be, Cd, Cr, F, Hg, Ni, dan Pb. Konsentrasi masing-masing unsur tergantung jenis batubara. (Van Hook, 1979).

Van Hook (1979) menjelaskan bagaimana proses pemakaian batubara menyebabkan penyebaran bahan-bahan polutan bahkan juga bahan radioaktif isotop Uranium (^{235}U dan ^{236}U), ^{232}Th , serta produk-produk turunannya ke lingkungan. Proses tersebut menjadi mekanisme pencemaran lingkungan oleh pengolahan batubara di samping pencemaran yang disebabkan oleh pembakaran pada saat batubara digunakan. Selama pemrosesan, kandungan bahan-bahan kimianya terinfiltrasi ke dalam air tanah melalui abu pembakaran dan lumpur. Ada pun bentuk pencemaran akibat pembakaran yang berakibat langsung bagi kesehatan manusia adalah asap pembakarannya yang juga mengandung bahan kimia seperti cadmium (Cd), raksa/merkuri (Hg), dan timbal (Pb). Aerosol ketiga bahan kimia tersebut memasuki ekosistem air setelah dilarutkan oleh air hujan. Hal tersebut menyebabkan perlunya memonitor seberapa tingkat pencemaran air.

Kadmium menjadi polutan pada ekosistem air, diantaranya berasal dari uap, debu, atau limbah yang dihasilkan oleh hasil samping penambangan timah dan seng. Selain itu, pencemaran cadmium di air juga bisa berasal dari air bilasan penyolderan logam (*electroplating*). Pemurnian logam seperti besi, tembaga, maupun logam lain dari mineral seperti *calamine* atau logam lainnya yang mengandung cadmium juga menjadi penyebab pencemaran. Korosi pada lapisan seng yang digunakan dalam pelapisan juga bisa menjadi polutan karena pada lapisan seng tersebut terdapat kira-kira 0,2% Cd sebagai bahan ikutan. Proses korosi biasa berlaku dalam kurun waktu 4-12 tahun. Penyebab lain juga bisa berasal dari endapan sampah (Clark, 1986; Royal Society of Chemistry, 2014).



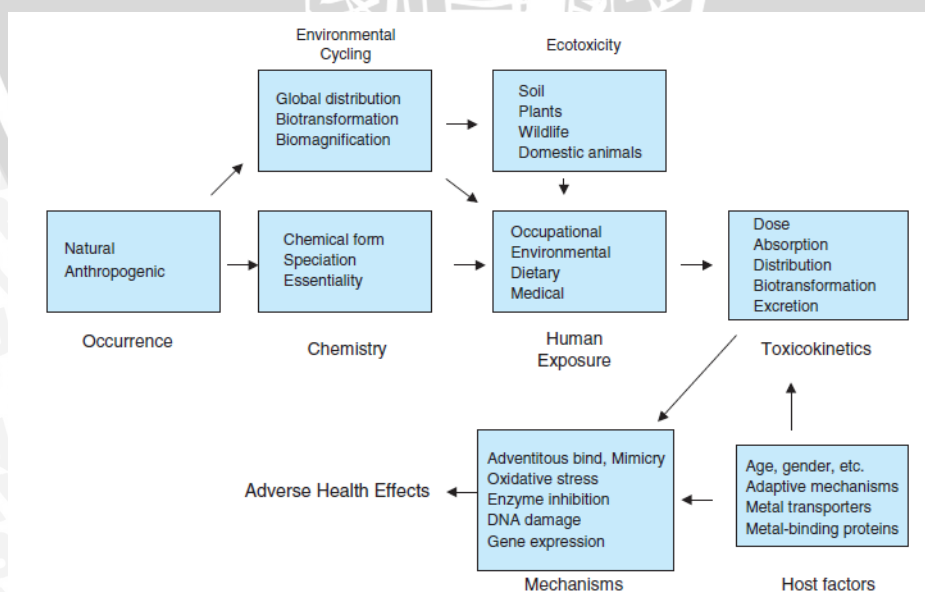
Gambar 2.1 Siklus Polusi dan *Intake* Cadmium (Sochor *et al.*, 2011)

Sochor *et al.* (2011) yang melakukan penelitian tentang *biosensing* dari polusi ion cadmium (II) (Cd^{2+}) di air oleh *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan hasil obeservasi yang dilakukan, ditemukan bahwa penambangan seng dan besi,

pembakaran plastic, dan pembakaran bahan bakar fosil kendaraan bermotor menjadi sumber utama pencemaran kadmium. Sebagaimana dijelaskan pada gambar 2.1, kadmium residu aktivitas manusia memasuki ekosistem air secara langsung atau setelah dilarutkan oleh air hujan setelah sempat dilepaskan ke udara terlebih dahulu.

2.4 Toksikologi Kadmium

Kadmium merupakan jenis toksikan logam berat. Logam didefinisikan sebagai unsur kimiawi yang sebagian besar berwujud padat pada suhu ruangan dengan kemampuan yang baik sebagai konduktor panas dan listrik, mengkilat dan memiliki kekuatan mekanis (kekakuan). Penyebutan logam berat digunakan pada jenis logam yang termasuk dalam jenis logam transisional pada tabel periodik. Berbeda dengan logam-logam lain seperti besi (Fe) dan seng (Zn) yang dibutuhkan tubuh dalam jumlah kecil (esensial), kadmium merupakan logam racun utama yang seharusnya tidak ada pada tubuh makhluk hidup (Liu *et al.* dalam Klaassen, 2008).



Gambar 2.2 Bagan Toksikologi Logam (Liu *et al.* dalam Klaassen, 2008)

Logam memiliki kemampuan khusus yang menyebabkannya dapat memengaruhi aktivitas biologi yakni kemampuan teroksidasi untuk menjadi ion. Kemampuan ini menyebabkan logam dapat ditransportasikan ke dalam sel melalui suatu protein transporter salah satunya adalah *divalent transporter protein* (DTP) yang memfasilitasi difusi ion logam esensial berbilangan valensi 2+ seperti logam golongan IIA magnesium (Mg) dan seng (Zn) (Liu *et al.* dalam Klaassen, 2008).

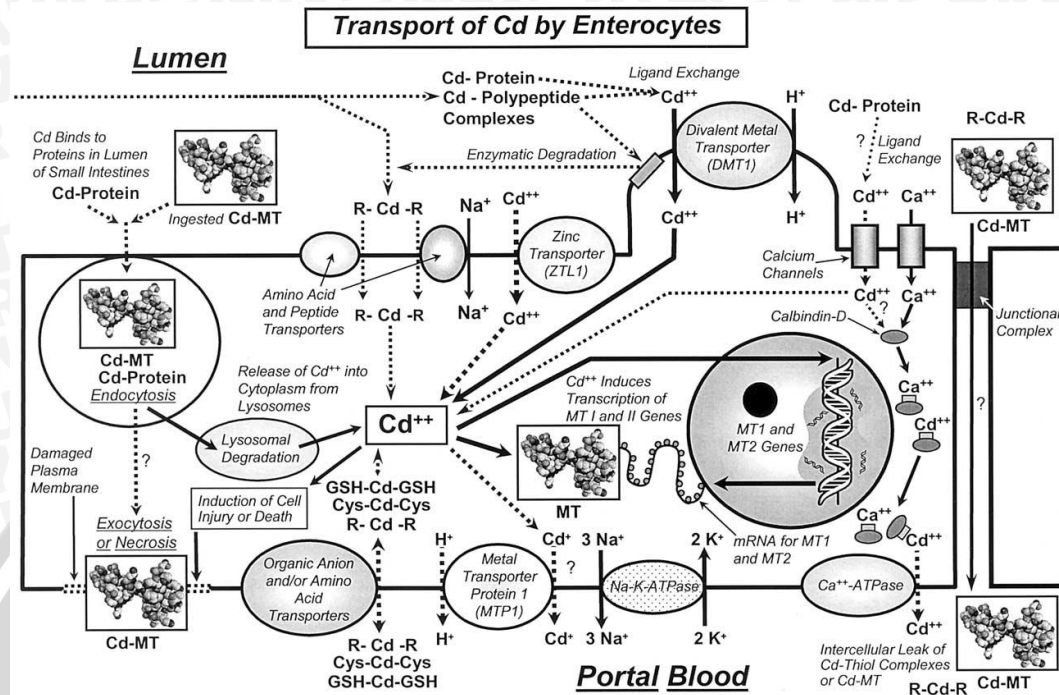
Kespesifikan protein transporter yang memfasilitasi transportasi logam berdasarkan valensinya ini yang menjelaskan bagaimana kadmium dapat ditransportasikan ke dalam sel. Liu *et al.* dalam Klaassen (2008) yang merujuk pada penelitian Kasprzak (2002) dan Cousins *et al.* (2006) menjelaskan bagaimana beberapa logam seperti kadmium, tembaga, dan nikel bersifat mimikri molekuler terhadap seng yang menyebabkan ketiganya mampu ditransportasikan (melalui protein transporter divalen) hingga berinteraksi dengan bagian-bagian intraseluler yang sama dengan logam-logam esensial bervalensi 2+ lain.

2.4.1 Toksikokinetik Kadmium

2.4.1.1 Penyerapan

Kadmium yang diberikan per oral akan diserap oleh usus sebanyak 5-10% dari dosis yang diberikan. Penyerapan meningkat seiring dengan berkurangnya asupan besi, kalsium, dan protein. Pada wanita hamil dengan kadar ferritin rendah didapatkan adanya peningkatan penyerapan kadmium dua kali lipat (Liu *et al.* dalam Klaassen, 2008).

Pada model hewan coba tikus, dapat dijelaskan bahwa penyerapan kadmium terbanyak terutama pada bagian duodenum distal dan jejunum (Zalups dan Ahmad, 2003).



Gambar 2.3 Penyerapan Kadmium di dalam usus (Zalups dan Ahmad, 2003)

Kadmium memiliki kemampuan mimikri terhadap seng dan kalsium dalam transportasinya ke dalam sel enterosit. Pada gambar 2.3, diketahui bahwa kadmium masuk melalui kanal kalsium dan *zinc transporter L1* (ZTL1). Molekul lain yang juga diketahui berperan dalam memerantairi transport kadmium masuk ke dalam sel adalah *divalent metal transporter 1* (DMT1). Jalur transportasi ini terjadi pada kadmium yang masuk ke dalam saluran pencernaan dalam bentuk ion bebas (tak terikat dengan protein karier) (Zalups dan Ahmad, 2003).

Pada jalur transportasi kadmium yang masuk pencernaan melalui sumber makanan nabati dan hewani yang terakumulasi kadmium, kadmium berada dalam bentuk berikatan dengan protein karier jenis thiol yang disebut metallothionein (MT). Cd-MT masuk ke enterosit melalui endositosis. Cd-MT juga dapat langsung memasuki sistem sirkulasi melalui *gap junction* setelah

mengubah sistem protein adherin *E-cadherin* dan β -*catenin* (Zalups dan Ahmad, 2003).

2.4.1.2 Peredaran Kadmium ke Seluruh Tubuh

Setelah memasuki enterosit, kadmium akan ditransfer ke sirkulasi vena porta untuk mengalami first pass metabolisme. Transfer ion kadmium keluar enterosit diperantarai oleh *zinc transporter (ZnT)* dan Ca-ATPase. *Metal transporter protein 1 (MTP1)* dan ferroportin juga diduga memfasilitasi kadmium keluar enterosit menuju peredaran darah (Zalups dan Ahmad, 2003; Martelli *et al.*, 2006).

Kadmium yang beredar jumlahnya jauh lebih kecil dibandingkan dengan dosis yang diberikan. Ini karena kadmium akan terakumulasi pada sitosol enterosit dalam bentuk Cd-MT. Namun, kadmium terakumulasi akan berpindah ke peredaran darah setelah enterosit mengalami apoptosis setelah beberapa hari umur normal enterosit bahkan dipercepat dengan efek induktor apoptosis dan nekrosis oleh kadmium (Zalups dan Ahmad, 2003; Martelli *et al.*, 2006).

Ion kadmium akan diangkut pada eritrosit atau berikatan dengan protein albumin dan protein thiol berberat molekul kecil seperti sistein, homosistein, dan glutathione. MT juga termasuk protein karier kadmium di sirkulasi terutama pada Cd-MT yang dibentuk dalam enterosit (Zalups dan Ahmad, 2003).

Sebelum diangkut ke seluruh tubuh, kadmium yang terikat dengan protein karier melewati hepar. Kadmium akan diambil oleh hepatosit melalui jalur yang sama dengan penyerrapan pada usus yakni melalui DMT1. Kadmium tersebut keluar lagi ke peredaran darah yang diduga melalui MTP1, *organic anion transporting polypeptide 1 dan 2 (OATP1 dan OATP2)*, *organic cation transporter*

1 (OCT1), dan transporter asam amino atau oligopeptida (Zalups dan Ahmad, 2003).

Kadmium memasuki sel-sel organ lain melalui berbagai macam jalur. Pada sel saraf, masuknya kadmium ke dalam sel difasilitasi oleh *voltage-gated calcium channel*. Pada sel-sel yang tidak bermuatan, kadmium masuk melalui ligand-gated calcium channel seperti *N-methyl-D-aspartate receptor calcium channel* (Martelli *et al.*, 2006).

2.4.2 Efek Toksik Kadmium

Kadmium bersifat sitotoksik, karsinogen, dan teratogen. Kadmium mengalami bioakumulasi pada tubuh makhluk hidup. Pada beberapa abad yang lalu, akibat belum dikenalnya toksisitas kadmium, pekerja-pekerja di bidang penyolderan dan *plating* mengalami gejala-gejala medis berat berkaitan dengan paparan kadmium (Royal Society of Chemistry, 2014; Sochor *et al.*, 2011).

Pada tingkatan organisme paling rendah, Sochor *et al.* (2011) mendapati perubahan yang signifikan pada perubahan senyawa thiol (protein metallothionein, enzim glutathione S-transferase, dan grup sulfhydryl) pada *Stapylococcus aureus*. Mereka juga mendapati peningkatan stress oksidatif pada selnya dengan adanya penurunan rasio glutathione tereduksi banding glutathione teroksidasi. Aktivitas urease yang dikaitkan dengan resistensi bakteri juga mengalami perubahan yang besar. Perubahan lain yang didapati pada bakteri antara lain sintesis arginine, β -glucosidase, phosphatase, N-acetyl β -D-glucosamine, sucrose, trehalose, mannitol, maltose, lactose, fructose and protein total. Indikator tersebut membutuhkan hipotesis mereka tentang adanya perubahan akumulasi ion cadmium (II) dalam sel.

Luckett *et al.* (2012) pada awal artikelnya menuliskan bahwa eksperimen yang dilakukan pada hewan coba membuktikan kadmium sebagai salah satu karsinogen kanker pankreas. Kadmium menginduksi transdiferensiasi sel-sel pankreas dan meningkatkan sintesis DNA yang diduga melalui peningkatan sintesis metallothionein sebagai respon sitoprotektif. Metallothionein merupakan protein berberat molekul rendah dan kaya sistein yang mengikat logam berat xenobiotik seperti kadmium dalam proses detoksifikasi.

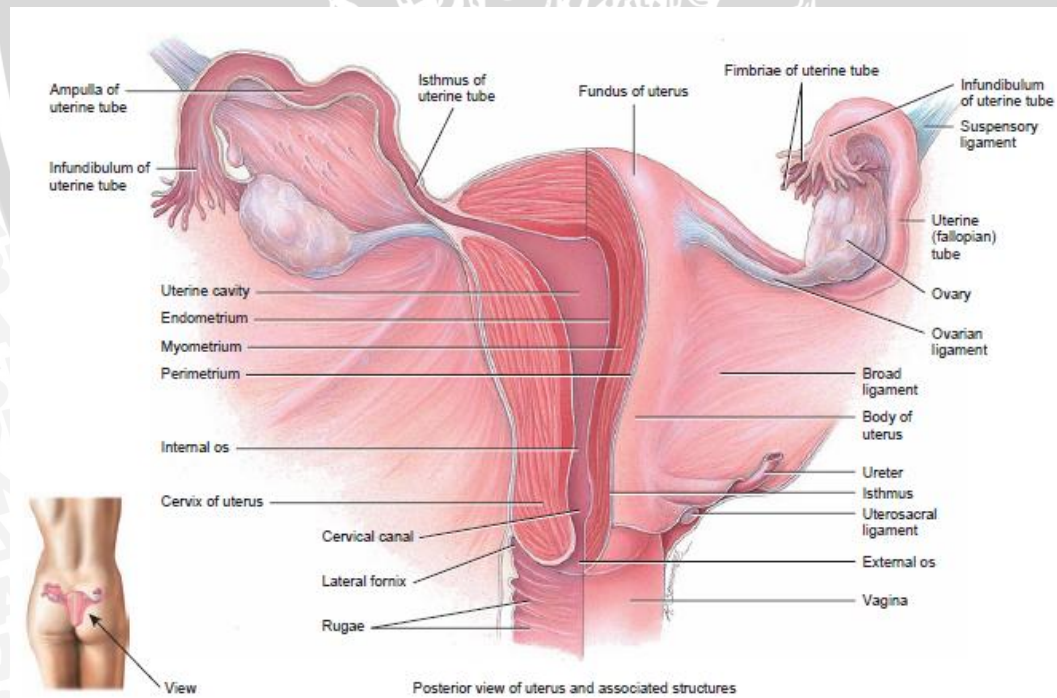
Selain sebagai karsinogen, cadmium yang berbentuk ion Cd^{2+} juga bersifat genotoksik dengan pengaruhnya dalam menghambat sintesis DNA, RNA, dan protein. Meskipun bersifat mitogenik lemah, Cd^{2+} bisa mengubah sinyal transduksi sel, menginduksi stres oksidatif, dan menghambat *DNA repair* (Haase *et al.*, 2010).

Cadmium juga bersifat imunotoksik. Haase *et al.* (2010) melaporkan bahwa sifat imunotoksisitas bersifat kontradiktif. Pada beberapa kasus, kadmium menstimulasi respon imun, sedangkan pada kasus lainnya kadmium ternyata bersifat immunosupresan. Pada studi lain bahkan ditemukan tidak adanya efek imunotoksisitas kadmium meskipun aspek imunologis yang diamati oleh studi-studi tersebut sama dengan yang diamati oleh studi yang menunjukkan efek. Haase *et al.* (2010) juga menuliskan bahwa perlakuan Cd^{2+} pada hewan coba berjenis *rodent* menginduksi inflamasi. Tikus yang diinjeksi Cd^{2+} secara intraperitoneal menunjukkan peningkatan aktivitas sitokin proinflamasi TNF- α dan *interleukin* (IL)-6. Pada kultur *peripheral blood mononuclear cells* (PBMCs) manusia dengan adanya Cd^{2+} menimbulkan ekspresi gen IL-1 α , TNF- α , interferon (IFN)- γ , dan IL-6. Haase *et al.* (2010) juga membuktikan salah satu

mekanisme Cd^{2+} menginduksi produksi TNF- α oleh monosit (beserta sel-sel turunannya seperti makrofag, Langerhans, Kupffer, dan sebagainya).

2.5 Uterus

Uterus merupakan saluran reproduksi wanita sebagai jalan yang dilalui sperma untuk membuahi ovum yang terletak pada tuba fallopi. Pada wanita yang belum pernah hamil, ukuran normal uterus sekitar 7,5 cm x 5 cm x 2,5 cm. uterus dibatas I oleh bagian teratas yang menyerupai kubah yang disebut *fundus uteri*, bagian badan (*korpus uteri*) yang terpisah dengan tuba fallopii pada *isthmus* (lubang) tuba fallopii, dan bagian inferior yang menyempit yang disebut serviks. Serviks sendiri meliputi *ostium cervicis interna*, *canalis cervicis*, *ostium cervicis externa*, dan *portio cervicis* (atau yang biasa dikenal dengan bibir rahim) (Tortora dan Derrickson, 2009).



Gambar 2.4 Ilustrasi Struktur Makroskopis Organ Reproduksi Internal Wanita (Tortora dan Derickson, 2009)

Lokasi uterus berada di antara *vesica urinaria* (kandung kemih) dan rektum. Posisi korpus uteri agravida normal adalah menekuk ke depan dan berada di atas *vesica urinaria*. Uterus difiksasi oleh ligamen-ligamen. Ligamen berguna untuk membatasi gerakan dan mempertahankan posisi uterus untuk mencegah malposisi yang berakibat pada gangguan fisiologi uterus. Sepasang *ligamentum latum* yang berbentuk lembaran mengikatkan korpus uteri ke peritoneum. Sepasang *ligamentum uterosacralis majora* yang mengikatkan bagian posterior *korpus uteri* ke *sacrum* melewati kedua sisi rektum. *Ligamentum lateralis cervicis* mengikatkan peritoneum *pars pelvis* ke vagina dan serviks. *Ligamentum rotundum* yang berpenampang lingkaran berasal dari bagian inferior tuba fallopii ke bagian labia majora. Telah disebutkan pentingnya ligament-ligamen uterus untuk mencegah posisi abnormal uterus, namun ada bentuk variasi posisi anatomis korpus uteri yang tak berbahaya yang disebut retrofleksi atau penekukan korpus uteri ke belakang. Ini terjadi pada beberapa pascapersalinan (Tortora dan Derrickson, 2009).

Lapisan jaringan organ uterus terdiri dari 3 lapis, endometrium, myometrium, dan perimetrium. Endometrium merupakan bagian paling dalam uterus. Endometrium merupakan lapisan uterus yang berhadapan dengan lumen. Endometrium berdasarkan aktivitas fisiologisnya terbagi menjadi 2, stratum functionalis dan stratum basalis. Darah dan sekret haid berasal dari peluruhan stratum functionalis. Secara lebih dalam, endometrium akan dibahas pada subbab berikutnya. Myometrium terdiri atas jaringan otot polos. Distribusi lapisan myometrium paling tebal ada pada fundus uteri dan paling tipis pada serviks. Myometrium berperan penting dalam proses persalinan melalui aktivitas kontraksi ritmik dan involuntirnya. Kontraksi myometrium juga didapati pada fase

menstruasi yang apabila berlebihan akan menimbulkan keluhan nyeri yang disebut dismenore. Perimetrium merupakan jaringan ikat areolar pembungkus uterus. Epitel skuamous simpleks juga menjadi penyusun perimetrium selain jaringan ikat. Perimetrium merupakan bagian dari peritoneum visceralis (Tortora dan Derrickson, 2009).

Uterus terletak di posterior vesica urinaria dan di anterior dari rectum. *Excavatio vesicouterina* merupakan cekungan yang membatasi organ vesica urinaria dan uterus. Ke bagian inferior, struktur tersebut berbatasan dengan fornix vaginalis anterior. Di posterior uterus, terdapat *excavatio rectouterina* atau *cavum Douglasi* yang membatasi uterus dan rectum. Kepentingan klinis dari struktur ini antara lain untuk lokasi pengambilan cairan yang mengisi cavum peritoneum atau yang disebut dengan tindakan *culdosentesis*. *Culdosentesis* dilakukan dengan mengaspirasi *fornix vaginalis posterior* yang berbatasan dengan *cavum Douglasi*. Cairan asites atau darah akan mengikuti gravitasi dan mengisi pada bagian paling bawah *cavum peritoneum pars pelvis*. Struktur *cavum Douglasi* ini merupakan lokasi tersering ditemukannya deposisi cairan tersebut. Contoh kasus yang biasa dilakukan tindakan *culdosentesis* antara lain ruptur pada kehamilan ektopik terganggu (KET). Keluarnya darah pada aspirasi menunjukkan adanya ruptur *adnexa* (organ-organ di sekitar uterus, misal tuba fallopii, ovarium, dan sebagainya) (Tortora dan Derrickson, 2009).

Uterus divaskularisasi utamanya oleh cabang-cabang arteri uterina (cabang dari arteri iliaca interna). Arteri uterina menjadi arteri arcuata dan longitudinal seakan-akan mengelilingi uterus. Arteri arcuata bercabang menjadi arteri radialis menuju myometrium. Ketika akan mencapai endometrium arteri radialis bercabang menjadi arteriol recta yang memvaskularisasi stratum basalis

endometrium dan arteriol spiralis yang memvaskularisasi stratum functionalis. Darah meninggalkan uterus melalui vena uterine ke vena iliaca interna. Vaskularisasi uterus berkaitan dengan menstruasi serta perkembangan janin dan plasenta (Tortora dan Derrickson, 2009).

2.6 Endometrium

2.6.1 Histologi Endometrium

Endometrium terdiri dari dua lapisan morfologi (stratum), basal dan fungsional. Lapisan basal dipertahankan selama menstruasi dan berperan dalam regenerasi lapisan fungsional selama siklus menstruasi. Lapisan hanya terdiri atas lamina propria berada dekat dengan myometrium. Lapisan fungsional meluruh pada saat menstruasi. Lapisan fungsional berisi lamina propria yang sejenis dengan yang dari lapisan basal, epitel kelenjar, dan epitel permukaan. Epitel-epitel endometrium merupakan epitel columnar simpleks dan terdiri atas jenis epitel columnar sekretorik (terutama ada pada lumen) dan silia (yang berada di permukaan, jarang pada kelenjar). Batasan antara lapisan basal dan fungsional adalah pangkal kelenjar endometrium.

Pada lapisan basal terdapat arteri basalis. Arteri ini tumbuh dan berpilin yang selanjutnya disebut a. spiralis. A. spiralis memvaskularisasi lapisan fungsional dan dipengaruhi oleh kerja hormon seks steroid. (Helmestam *et al.*, 2013). Literatur lain tidak menyebutkan adanya arteri basalis dan bercabang menjadi arteri spiralis. Literatur tersebut menjelaskan bahwa arteriol recta dan spiralis keduanya merupakan cabang langsung dari arteri radialis (Tortora dan Derrickson, 2009).

2.6.2 Fase Endometrium

Dalam siklus menstruasi, endometrium juga memiliki pembagian fase. Fase ini terdiri dari tiga, yakni fase aliran menstruasi, fase proliferaatif, dan fase sekretorik. Lamanya siklus mengikuti siklus menstruasi (Tortora dan Derrickson, 2009).

2.6.2.1 Fase Menstruasi

Hari pertama fase aliran menstruasi (*menstrual flow phase*) diawali dengan peluruhan dinding endometrium. Lapisan fungsional endometrium terlepas dari dinding uterus disertai dengan perdarahan. Lapisan yang tersisa adalah lapisan basal endometrium. Ini berlangsung selama kurang lebih lima hari. Pada fase tersebut estradiol dan progesteron dalam kadar terendah. LH mengalami penurunan, sedangkan FSH mulai meningkat. Darah haid yang dikeluarkan antara lain darah, potongan-potongan epitel endometrium, serta lendir dari serviks. Darah tidak mengalami pembekuan karena dihasilkannya fermen yang berperan mencegah pembekuan darah dan mencairkan potongan-potongan mukosa. Apabila perdarahannya banyak, fermen yang dihasilkan tidak mencukupi sehingga pembekuan darah akan terjadi. Volume darah haid selama menstruasi kurang lebih 50-150 cc (Junqueira dan Caneiro).

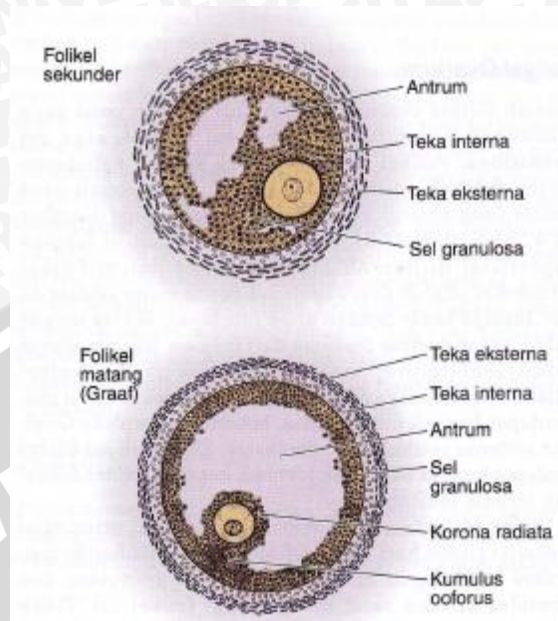
2.6.2.2 Fase Regenerasi

Soemardini (2005) menyatakan bahwa bersamaan dengan fase menstruasi (atau yang disebut juga deskuamasi) terjadi juga fase regenerasi. Fase ini juga memiliki durasi yang hampir sama yakni kurang lebih 4 hari. Pada fase ini tebal endometrium $\pm 0,5$ mm. Luka yang terjadi akibat peluruhan endometrium berangsur ditutup kembali oleh selaput lendir baru dari sel epitel kelenjar endometrium.

2.6.2.3 Fase Proliferatif

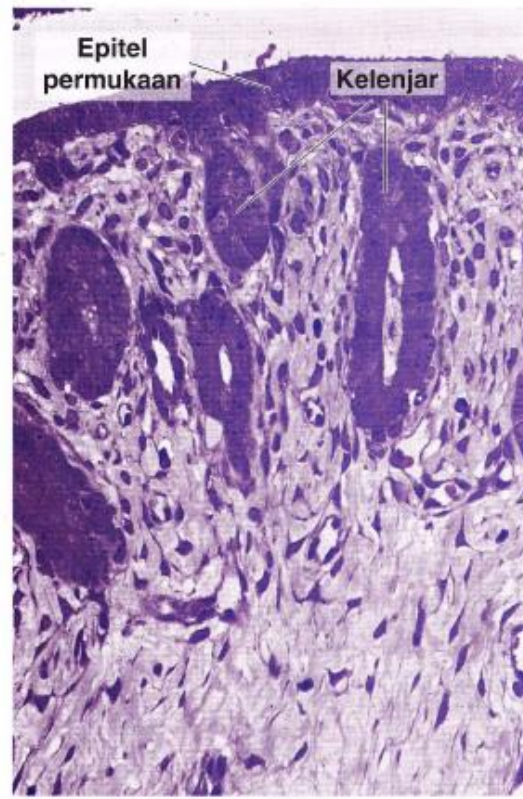
Siklus dilanjutkan dengan fase proliferasi. Fase proliferasi merupakan fase pertumbuhan cepat. Endometrium tumbuh hingga $\pm 3,5$ mm. Fase ini biasanya berlangsung 10 hari dari hari ke-5 hingga ovulasi (kurang lebih pada hari ke-14). Antara hari ke-10 sampai ke-14 estradiol mencapai jumlah puncaknya.

Pada awal fase proliferasi endometrium, di ovarium akan didapati perubahan dari folikel preantrum atau folikel primer, secara histologis di dalam folikel ini didapati susunan sel folikel yang mengelilingi oosit bertumpukan sehingga folikel ini disebut juga folikel multilaminar, ke folikel antrum atau sekunder yang ditandai dengan adanya lumen-lumen antrum di antara sel granulosa. Pada bagian folikel antrum akan terbentuk sel theca interna dari fibroblast sel stroma folikel. Esterogen dihasilkan oleh sel theca interna ini. Sel theca interna memiliki kemampuan menghasilkan hormone steroid androstenedion yang kemudian ditransfer ke sel granulosa. Androstenedion berubah menjadi esterogen dengan bantuan enzim aromatase yang dihasilkan oleh sel granulosa yang juga berada lebih dekat dengan oosit di dalam folikel. Esterogen yang terbentuk kemudian kembali keluar hingga ke stroma ovarium dan memasuki pembuluh darah untuk diedarkan ke seluruh tubuh. Esterogen berperan dalam fase proliferasi dengan menginduksi proliferasi sel-sel endometrium. Selain itu, esterogen juga menginduksi pembentukan silia pada sel-sel tuba fallopii (Junqueira dan Carneiro; Soemardini, 2005).



Gambar 2.5 Folikel Antrum atau Sekunder yang Telah Memiliki *Theca Interna* dan Folikel de Graaf (Junqueira dan Caneiro)

Pada fase proliferasif, struktur endometrium yang terbentuk salah satunya adalah lumen kelenjar yang merupakan invaginasi dari epitel columnar simpleks yang ada di permukaan endometrium. Lumen ini nantinya yang akan menampung hasil sekresi epitel-epitel tersebut. Pada fase ini epitel belum aktif melakukan ekskresi sehingga akan tampak lumen yang sempit. Walaupun sempit, lumen memanjang mengikuti perkembangan sel stroma di sekitarnya. Pada Gambar 2.4, nampak epitel di bagian atas menghadap lumen dan epitel-epitel kelenjar yang terbentuk di antara sel stroma pada lamina propria (Junqueira dan Caneiro).



Gambar 2.6 Endometrium Fase Proliferasi (Junqueira dan Carneiro)

2.6.2.4 Fase Sekresi

Fase sekresi sudah dipersiapkan endometrium dari fase proliferasi dimana epitel-epitel simpleks yang mengelilingi lumen sekretorik membentuk retikulum endoplasma kasar lebih banyak dan apparatus golgi yang lebih besar. Pada hari ke-14 sampai ke-28, endometrium mengalami fase sekretorik. Pada fase ini, ketebalan endometrium tetap tetapi bentuk kelenjar menjadi panjang, berkelok, dan mengeluarkan getah. Endometrium dipersiapkan untuk nidasi (implantasi/penanaman) ovum yang telah dibuahi oleh sperma sehingga dinding endometrium diperkaya dengan glikogen dan kalsium (Ca) sebagai makanan baginya. Fase ini bergulir selama hari 14-18. Apabila tidak terjadi pembuahan dan implantasi, korpus luteum yang menyekresikan estradiol dan progesteron

akan menyusut. Penyusutan kadar estradiol dan progesteron yang cepat akan menyebabkan spasme a. spiralis. Suplai darah ke endometrium yang terhenti akan menyebabkan nekrosis lapisan fungsional dari lapisan basal endometrium. Perdarahan menstruasi pun terjadi dan kembali memasuki fase menstruasi (Junqueira dan Caneiro).

2.6.3 Imunologi dan Jalur Inflamasi pada Endometrium

Imunitas merupakan salah satu sistem penting dalam faal tubuh manusia. Imunitas berperan mengeliminasi benda asing, misal bakteri, virus, atau toksin yang berpotensi merugikan tubuh. Selain itu, aktivitas imun juga dibutuhkan dalam mengeliminasi sel yang telah apoptosis atau mengalami kerusakan. Kerusakan ini disebabkan oleh adanya aktivitas virus yang menginfeksi atau akibat mutasi seperti pada sel kanker. Sel yang mengalami kerusakan tidak mampu memberikan signaling anti-sitolitik pada sel imun (NK cell atau makrofag) sehingga sel imun mengeliminasinya. Aktivitas imun bekerja melalui jalur inflamasi.

Aktivitas imun pada tiap sistem organ bervariasi sesuai kebutuhan. Pada sistem reproduksi wanita, aktivitas imun berperan dalam meregulasi aktivitas fisiologi sepanjang siklus menstruasi. Pada endometrium peranan ini ditandai antara lain dengan adanya influks leukosit, modifikasi matriks ekstraseluler, dan peningkatan permeabilitas vaskuler. Selain itu, ada juga penanda berupa dinamika jumlah sitokin dan mediator-mediator proinflamasi yang ada. Regulasi yang baik diperlukan untuk mempersiapkan fase sekretorik endometrium untuk implantasi dan fase regenerasi setelah terjadinya menstruasi (Maybin et al, 2010).

Disregulasi pada aktivitas imun dan jalur inflamasi ini dapat bermanifestasi pada kelainan-kelainan ginekologis. Di antaranya adalah menorrhagia yang ditandai dengan adanya peningkatan sitokin TNF- α yang abnormal. Selain itu ditemukan pula peningkatan mRNA enzim siklooksigenase 2 (COX-2) pada biopsi endometrium fase sekretorik. Jumlah prostaglandin juga mengalami peningkatan. Peningkatan signaling family prostaglandin yakni prostaglandin E2 (PGE2) pada reseptor EP2 dan EP4 juga tampak dengan ditemukannya peningkatan produksi cyclic AMP (cAMP) pada endometrium wanita menorrhagia. Aktivitas PGE2 ini yang kemudian mencegah arteriol spiralis berovaskonstriksi menyebabkan perdarahan yang berlebihan (mencapai 90 ml) pada menorrhagia (Maybin et al, 2010).

Kondisi lain yang berkaitan dengan disregulasi aktivitas imun dan jalur inflamasi pada endometrium adalah dismenore primer. Bertolak belakang dengan menorrhagia, dismenore primer ditandai dengan peningkatan abnormal jenis famili prostaglandin yang lain yakni prostaglandin F2 α (PGF2 α). PGF2 α meningkatkan kontraktilitas otot polos uterus dan vasokonstriksi arteri-arteri yang memvaskularisasi endometrium. Peningkatan PGF2 α yang abnormal akan menyebabkan hiperkontraktilitas dan iskemia sehingga wanita dengan dismenore akan mengeluhkan nyeri dan kram pada regio suprapubik. Hiperkontraktilitas terjadi pada perimenstruasi (Ma et al, 2013).

2.7 Dismenore Primer

2.7.1 Definisi

Dismenore primer ditandai dengan nyeri kram pada pelvis bagian anterior inferior (French, 2005). Diagnosis dilakukan mulai dari anmnesis yang difokuskan

kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan fisik. Berdasarkan laporan klinis, keduanya cukup untuk menegakkan diagnosis dismenore primer.

2.7.2 Diagnosis

Informasi yang dibutuhkan antara lain mengenai onset, lokasi, durasi, karakter, dan faktor-faktor yang memperberat maupun memperingan gejala.

Pada dismenore primer, onset nyeri biasanya muncul beberapa saat sebelum maupun tepat pada saat onset menstruasi. Gejala ini biasanya akan bertahan antara 8 – 72 jam. Itu salah satu yang membedakan dengan dismenore sekunder dimana pada dismenore sekunder onsetnya bisa muncul kapan saja meskipun penderita tidak sedang dalam fase menstruasi. Wanita dengan dismenore sekunder kadang mengeluhkan perubahan *timing* dan intensitas nyeri (French, 2005; Proctor dan Farquhar, 2006).

Keluhan yang kadang-kadang menyertai dismenore primer antara lain nyeri pinggang dan punggung, nyeri kepala, diare, mual dan muntah. Berbeda dengan dismenore sekunder yang kadang-kadang gejalanya penyertanya antara lain *dyspareunia* (nyeri pada saat *sexual intercourse*), *menorrhagia* (periode menstruasi yang berat dan memanjang pada interval yang beraturan, disebabkan oleh pembekuan darah abnormal, gangguan pada regulasi hormonal normal terhadap periode, dan penebalan dinding endometrium yang berlebihan), perdarahan *intermenstrual* (perdarahan bukan pada fase menstruasi), dan perdarahan setelah melakukan *sexual intercourse* (French, 2005; Proctor dan Farquhar, 2006).

Temuan-temuan lain yang bisa mengarahkan diagnosis dismenore di antaranya adalah dismenore selama satu atau dua siklus setelah fase menstruasi (dimana dismenore primer hanya terjadi pada fase menstruasi); onset

pertama setelah usia 25 tahun; onset lambat dari dismenore setelah tidak adanya riwayat nyeri haid sebelumnya (French, 2005; Proctor dan Farquhar, 2006).

Selain itu, tidak adanya respon terhadap pengobatan dengan *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID) maupun kontrasepsi oral mengindikasikan dismenore sekunder. Oleh karena itu, biasanya dokter akan meresepkan terlebih dahulu NSAID pada pasien dengan *presumptive diagnosis* dismenore primer (French, 2005; Proctor dan Farquhar, 2006).

Pemeriksaan fisik pada pasien dismenore primer tidak menunjukkan adanya abnormalitas. Ini berbeda dengan dismenore sekunder yang akan menunjukkan adanya abnormalitas pada pelvis penderita. Pada remaja yang belum menikah (belum aktif secara seksual), pemeriksaan fisik yang dilakukan dalam *men-screening* dismenore sekunder dibatasi hingga pemeriksaan abdomen. Pada pemeriksaan klinis yang mengarah pada dismenore sekunder, pemeriksaan penunjang yang pertama kali akan dilaksanakan adalah ultrasonografi pelvis untuk mengonfirmasi adanya lesi massa, kista, ataupun endometrioma (Proctor dan Farquhar, 2006).

Terapi terhadap dismenore antara lain dengan NSAID yang terbukti efektivitasnya pada 67% pasien. Jenis yang sudah terbukti efektivitasnya antara lain naproxen, ibuprofen, dan ketoprofen. Produksi prostaglandin F (PGF)-2 α melalui melalui siklooksigenase (COX) menjadi target terapi NSAID (Proctor dan Farquhar, 2006; Dawood, 2006).

Analisa ekspresi gen monosit darah tepi (*peripheral blood mononuclear cells/PBMC*) menunjukkan adanya peningkatan gen pengode sitokin proinflamasi interleukin 1beta (IL-1 β), tumor necrosis factor (TNF), interleukin 6 (IL6), dan interleukin 8 (IL8). IL-1 β dan TNF- α meningkatkan produksi PGF2 α pada stroma

endometrium melalui peningkatan COX-2. Pengaruh sitokin-sitokin proinflamasi terhadap hiperkontraktilitas juga diperantarai dengan oksitosin dan signaling ion Ca^{2+} . Oksitosin ditingkatkan produksinya oleh sel desidua dengan pengaruh dari IL-1 β yang meningkatkan produksi prostaglandin pada sel tersebut. IL-6 menyebabkan fosforilasi asam amino serin dan tirosin dan menyebabkan peningkatan transkripsi reseptor oksitosin pada sel-sel myometrium. TNF- α menyebabkan ion Ca^{2+} memasuki sel myometrium dan berakibat pada peningkatan oksitosin. IL-1 β , TNF- α , dan IL-6 meningkatkan vasokonstriksi pembuluh darah, koagulasi, dan eksitabilitas ujung saraf sensorik. Peningkatan eksitabilitas ujung saraf menginduksi nyeri (Ma et al, 2013).

Aktivitas fisiologi maupun patologis yang distimulasi PG tergantung pada jenis reseptor yang diaktivasi. Kelainan menstruasi yang didasari oleh aktivitas PG-reseptor selain dismenore adalah menorrhagia. Menorrhagia adalah kelebihan produksi darah menstruasi dimana darah menstruasi normal adalah 8 cc. Jumlah PGE2 yang ditemukan meningkat pada menorrhagia menyebabkan relaksasi otot polos dan vasodilatasi (Fortier *et al.*, 2008).

Prostaglandin jenis F2 α dan E2 berperan dalam gangguan menstruasi dismenore dan menorrhagia. Dismenore yang merupakan gejala gangguan menstruasi berupa nyeri pada saat fase menstruasi didasari oleh iskemia dan hiperkontraksi myometrium akibat peran PGF2 α serta adanya eksitabilitas dan hiper-algesia ujung saraf oleh PGE2 (Fortier *et al.*, 2008).

2.8 Interleukin 1 β (IL-1 β)

Sepanjang siklus menstruasi, endometrium mengalami proses yang kompleks. Proses ini dipengaruhi oleh mekanisme yang melibatkan sitokin-sitokin, growth factor, dan mediator-mediator kimia yang menggambarkan

terjadinya dinamika aktivitas imun dan inflamasi. Siklus menstruasi pada endometrium ini menggambarkan bagaimana sel-sel epitel dan stroma mengalami pertumbuhan pada fase proliferasi, peluruhan pada fase menstruasi, serta repair pada fase regenerasi (Rossi et al, 2005).

IL-1 β merupakan salah satu sitokin penting yang berperan pada siklus menstruasi. IL-1 β merupakan salah satu anggota famili interleukin 1 (IL-1) selain IL-1 α . Interleukin merupakan salah satu sitokin utama dalam proses inflamasi (Rossi et al, 2005).

IL-1 β merupakan polipeptida dengan berat molekul 17 kDa yang pada sistem imun merupakan salah satu sitokin penting dalam aktivasi limfosit T helper. IL-1 β terutama diproduksi oleh monosit. IL-1 α dan IL-1 β mampu berikatan pada reseptor yang sama yakni reseptor IL-1 (IL-1R) tipe I yang kemudian menghasilkan sinyal transduksi dengan IL-1Ra sebagai antagonisnya (Rossi et al, 2005).

2.8.1 Peranan IL-1 β

IL-1 β berperan dalam mengontrol proliferasi, pertumbuhan, dan apoptosis sel. Selain itu, interaksi IL-1 β dan IL-1R juga berperan pada keberhasilan implantasi pada in vitro fertilization. IL-1 β yang dihasilkan embrio akan berinteraksi dengan reseptornya pada sel desidua endometrium (Rossi et al, 2005).

IL-1 β yang dihasilkan baik oleh sel stroma dan epitel endometrium maupun monosit dan makrofag berperan pada imunitas sel-sel endometrium melalui efeknya menginduksi sintesis protein-protein proinflamasi lain seperti IL-6, IL-8, dan IL-1 β . Produksi IL-1 β meningkatkan kadar IL-1 β yang telah ada. Pada kehamilan, IL-1 β menginduksi produksi protein colony stimulating factor 2

(CSF2) yang merupakan growth factor utama pada siklus sel granulosit dan makrofag. CSF2 juga merupakan growth factor bagi trofoblas yang yang berimplikasi pada perkembangan plasenta dan fetus. IL-1 β juga menginduksi produksi human choriogenic gonadotropin (hCG) dari trofoblas melibatkan peran IL-6. Pentingnya fungsi IL-1 β juga ditunjukkan dengan terjadinya *abortus habituais* yang terjadi pada wanita dengan kadar IL-1 β rendah (Rossi et al, 2005).

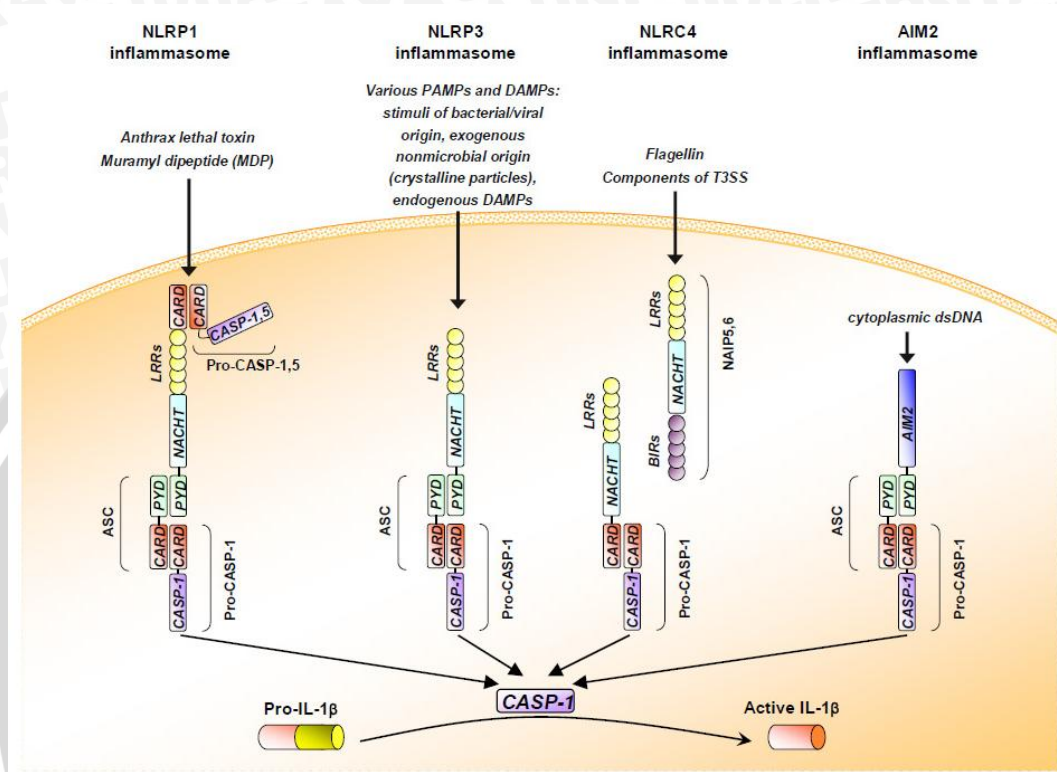
2.8.2 Biosintesis IL-1 β

IL-1 α dan IL-1 β memiliki keunikan sifat biokimiawi dibandingkan protein-protein lain. Keduanya tidak memiliki *signal sequence* yang merupakan penentu organel tujuan translokasi untuk persiapan disekresikan keluar sel produsen guna menjalankan peranan biologisnya. Kedua anggota famili interleukin 1 tersebut juga tidak melalui jalur klasik sekresi protein yakni jalur retikulum endoplasma-apparatus Golgi dalam proses sekresinya. Kaspase-1 merupakan fasilitator dalam proses sekresi sitokin tersebut melalui *unconventional secretory pathway* (Contassot *et al.*, 2012).

Produksi sitokin IL-1 β terutama distimulasi oleh adanya rangsangan pada *Toll-like receptor* (TLR) sel penyekresinya antara lain lipopolisakarida (LPS) dan IL-1 sendiri terhadap TLR4. Ligan pada TLR akan mengaktifasi NF κ B yang kemudian menginduksi transkripsi mRNA protein IL-1 yang kemudian akan ditranslasikan menjadi proIL-1 β (Contassot *et al.*, 2012).

Protein hasil translasi yang dibentuk akan mengalami modifikasi menjadi bentuk aktif melalui peran inflamasom dan kaspase-1. Inflamasom merupakan kompleks protein yang berperan mengaktifasi kaspase-1 dalam proses maturasi IL-1 β dari proIL-1 β . Kaspase-1 yang teraktivasi akan melakukan *cleaving* pada

proIL-1 β (31-34 kDa) menjadi IL-1 β fungsional (17-18 kDa) (Rubartelli *et al.*, 1990; Contassot *et al.*, 2012).



Gambar 2.7 Peran Inflamasom dalam Maturasi IL-1 β (Contassot *et al.*, 2012)

IL-1 β dihasilkan terutama oleh monosit, makrofag, dendritik, limfosit B, NK cells, dan sel epitel. Proses maturasi proIL-1 β pada monosit terjadi segera setelah protein disintesis. Ini berbeda dengan pada sel-sel penyekresi lain dimana aktivasi inflammasom juga membutuhkan rangsangan eksternal. Inflamasom terdiri atas 3 domain utama, yaitu *pyrine domain* (PYD) pada bagian N-terminal yang berperan sebagai reseptor ligan, *leucine rich repeats* (LRRs) pada bagian C-terminal, dan *nucleotida-binding/oligomerization domain* (NACHT). Berdasarkan strukturnya, inflammasom terbagi menjadi empat jenis, yaitu *NOD-like receptor P1* (NLRP1), *NLRC4*, *NLRP3*, dan *Absent in melanoma 2* (Aim2). Berdasarkan gambar 2.7, inflammasom berikatan dengan ASC

(apoptosis-associated speck-like protein) yang membawa pro-kaspase yang berikatan dengan *caspase recruitment domain* (CARD) (Contassot *et al.*, 2012; Sollberger *et al.*, 2014).

NLRP1 berespon terhadap *muramyl dipeptide*, konstituen peptidoglikan bakteri dan toksin yang dihasilkan *Bacillus anthracis*. Paparan sinar ultra violet B (UVB) juga menginduksi inflamasom *NLRP1* (Sollberger *et al.*, 2014).

NLRC4 berikatan dengan *apoptosis inhibitory proteins* (NAIPs) untuk berespon sebagai inflamasom terhadap rangsangan yang ada, seperti *NAIP5* dan *NAIP6* untuk *flagellin* dan *NAIP2* untuk *type III secretion system* (T3SS) pada model hewan mencit. Flagellin merupakan protein penyusun flagella beberapa jenis bakteri yakni *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, dan *Legionella pneumophila*. Meskipun ada juga literatur yang menyatakan kesamaan kemampuan inflamasom tersebut pada manusia, ada literatur yang menyatakan bahwa hanya terdapat satu subunit *NAIP* pada manusia, dan *NAIP* tersebut hanya berespon terhadap T3S beberapa jenis bakteri (Sollberger *et al.*, 2014).

NLRP3 merupakan inflamasom penting yang berperan karena kemampuannya berespon terhadap jenis *pathogen-associated molecular pattern* (PAMP) dan *damage/danger-associated molecular pattern* (DAMP) yang lebih bervariasi. Sebagian bakteri patogen direspon oleh inflamasom ini, begitu juga beberapa jenis jamur seperti *Candida albicans* dan *Aspergillus fumigates*, virus, hepatitis A dan vesicular stomatitis virus, dan cacing *Schistosoma mansoni*. Pada jalur inflamasom *NLRP3*, ROS menjadi efek dari aktivasi *NLRP3* oleh protein yang berikatan dengan thioredoxin, yakni protein-protein yang berkaitan dengan

metabolisme logam di dalam tubuh makhluk hidup (Contassot *et al.*, 2012; Sollberger *et al.*, 2014).

Aim2 berperan sebagai inflamasom dalam maturasi sitokin IL-1 β yang diinduksi oleh virus dan dsDNA. Patogen yang berkemampuan menginduksi inflamasom ini antara lain *Listeria monocytogenes* dan cytomegalovirus. Aim2 memiliki domain PYD pada N-terminal dan 200 repeat asam amino yang merupakan tempat berikatan dengan dsDNA (Sollberger *et al.*, 2014).

2.8.3 Pengaruh IL-1 β Terhadap Produksi Prostaglandin F2 α

Prostaglandin (PG) merupakan jenis asam lemak berantai karbon 20 tak terlarut yang dihasilkan dari membran fosfolipid sel. Fosfolipid pada membran sel dikatalisis menjadi asam arakhidonat oleh fosfolipase A2. Asam arakhidonat diubah menjadi prostaglandin H2 (PGH2) dengan bantuan enzim siklooksigenase-2 (COX-2). Prostaglandin dihasilkan pada semua sel tubuh dan merupakan mediator kimiawi yang berperan dalam proses inflamasi dengan menginduksi rasa nyeri dan vasodilatasi. Prostaglandin akan mengalami metabolisme menjadi PG fungsional I2, D2, E2, F2 α , atau tromboksan A2 (TXA2) dengan bantuan enzim-enzim yang berbeda sesuai aktivitas dan lokasi kerjanya (Olson dan Ammann, 2007; Fortier *et al.*, 2008; Ruan *et al.*, 2011).

2.8.3.1 Biosintesis Prostaglandin

2.8.3.1.1 Hidrolisis Membran Plasma

Prostaglandin termasuk golongan eikosanoid yang dihasilkan dari substrat utama fosfolipid-fosfolipid yang menyusun membrane plasma. Eikosanoid merupakan mediator biologis yang bersifat sama seperti lipid, contoh lain eikosanoid adalah leukotrien dan lipoksin (Olson dan Ammann, 2007).

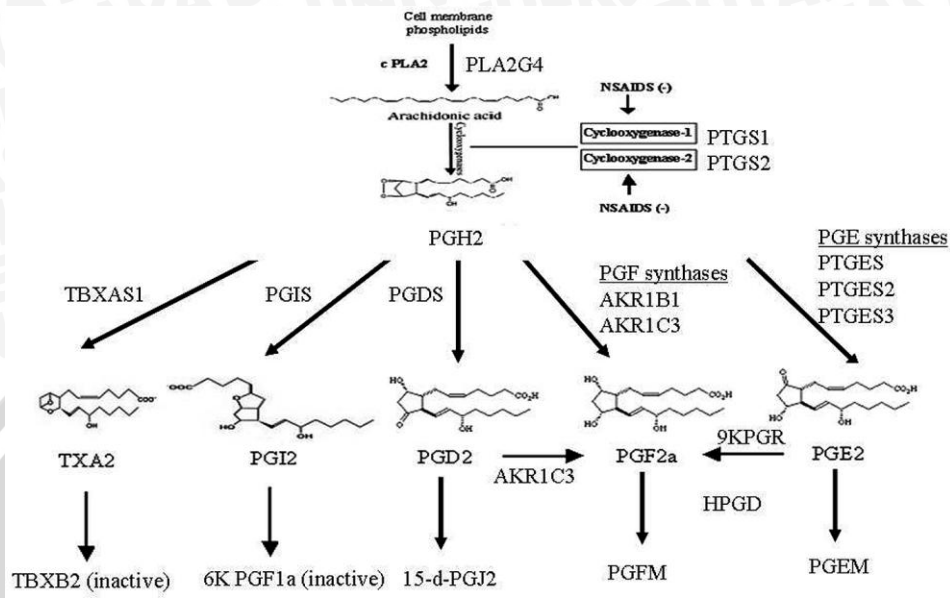
Fase awal biosintesis prostaglandin adalah hidrolisis fosfolipid dari membran oleh enzim fosfolipase A2 (PLA2). Enzim fosfolipase terbagi atas jenis PLA2 ekstraseluler tipe I-IV dan fosfolipase 2 sitosolik (cPLA2) berdasarkan lokalisasi kerjanya. PLA2 ekstraseluler setelah disintesis akan disekresikan dan memengaruhi sel-sel lain. Sedangkan cPLA2 menghidrolisis fosfolipid pada membran selnya sendiri (Olson dan Ammann, 2007). cPLA2 pada kondisi aktif beredar pada sitosol kemudian pada kondisi inflamasi akan berpindah ke membran sel untuk memulai proses biosintesis (Olson dan Ammann, 2007).

Pada jaringan yang berperan dalam proses kehamilan, Olson dan Ammann (2007) menemukan bahwa fosfolipase A2 yang berperan adalah tipe PLA2 ekstraseluler tipe II, IV, dan cPLA2. Pada sel-sel lain pada umumnya, Frontier *et al.* (2008) menyebutkan bahwa yang berperan paling banyak adalah cPLA2.

2.8.3.1.2 Sintesis Prostaglandin H2

Hidrolisis fosfolipid akan menghasilkan asam arakhidonat yang kemudian diproses secara enzimatik oleh COX-2 (nama lain: prostaglandin H2 sintase (PGHS2) menjadi prostaglandin H2 (PGH2). Berbeda dengan COX-1 yang perannya fisiologis dan keberadaannya bersifat konstitutif di dalam sel, COX-2 hanya diproduksi sel pada kondisi terinduksi oleh sitokin dan promotor tumor (Frontier *et al.*, 2008).

2.8.3.1.3 Biosintesis PG Fungsional



Gambar 2.8 Bagan Biosintesis Prostaglandin Fungsional (Fortier *et al.*, 2008)

Prostaglandin H2 yang tak stabil diubah ke PG fungsional sesuai dengan kebutuhan kerja dan lokalisasinya dengan bantuan enzim-enzim spesifik. Sesuai gambar 2.8, perubahan PGH2 ke TXA2, PGI2, PGD2, PGF2α, dan PGE2 masing-masing dibantu oleh enzim TBXAS1, PGIS, PGDS, PGFS, dan PGES (Fortier *et al.*, 2008).

Hingga saat ini diketahui dua jenis enzim PGF2α sintase (PGFS) pada manusia, yakni aldo-keto reduktase 1 B1 dan C3 (AKR1B1 dan AKR1C3). Namun, AKR1B1 disebut sebagai PGFS yang lebih poten dibandingkan AKR1C3 (Fortier *et al.*, 2008; Bresson *et al.*, 2011).

Pada sistem reproduksi manusia, diketahui peran utama dua subunit prostaglandin, PGE2 dan PGF2α, yang bekerja berlawanan. Keduanya dihasilkan oleh sel-sel jaringan endometrium dengan PGE2 terutama dihasilkan oleh sel stroma dan PGF2α terutama dihasilkan oleh sel epitel. Salah satu target kerja keduanya adalah vasomotor dimana PGE2 bekerja pada reseptor E

prostanoid 2 dan 4 (EP2 dan EP4) menyebabkan vasodilatasi, sedangkan PGF2 α bekerja pada reseptor F prostanoid (FP) menyebabkan vasokonstriksi. Target kerja kedua subunit ini pun bisa mencapai ovarium menimbulkan efek luteolitik maupun luteotropik guna meregulasi produksi progesteron (Fortier *et al.*, 2008).

Sebagaimana enzim sintasenya, subunit-subunit prostaglandin pun memiliki reseptor-resptor spesifik. Selain PGE2 dan PGF2 α dengan EP (yang memiliki subtype EP1-4) dan FP, ada juga reseptor D prostanoid (DP), I prostanoid (IP), dan T prostanoid (TP). Reseptor-reseptor ini berjenis *G-protein-coupled transmembrane protein*. Stimulasi pada DP, EP2, EP4, atau IP sel otot polos akan menyebabkan relaksasi dengan meningkatkan cAMP. Stimulasi pada EP1, FP, dan TP akan memobilisasi ion kalsium masuk ke dalam sel menyebabkan kontraksi (Ruan *et al.*, 2011).

Prostaglandin (PG) yang fungsional dikeluarkan oleh sel produsen melalui MRP4. PG yang dihasilkan ini kemudian akan berikatan dengan reseptor-reseptornya baik pada membran sel produsen (autokrin) maupun sel sekitarnya (parakrin). Terdapat jenis PG yang bekerja pada reseptor yang ada pada nukleus, yakni PGD2 dan PGI2. Keduanya memasuki sel target melalui PG transporter (PGT) untuk berikatan dengan reseptor PPAR δ (untuk PGI2) dan PPAR γ (untuk PGJ2 yang merupakan metabolit spontan dari PGD2) pada nukleus (Fortier *et al.*, 2008).

2.8.3.2 Katabolisme Prostaglandin

PG mengalami proses katabolisme menjadi bentuk inaktif dengan bantuan enzim *15-hidroxy prostaglandin dehydrogenase (15-hidroxy PDH)*. Enzim ini ditemukan pada sel khorion sitotrofoblas, plasenta, desidua,

myometrium, dan serviks (Olson dan Ammann, 2007). Pada sistemik, PG yang berada pada peredaran darah dikatabolisme pada sel paru. Metabolit inaktif PG diekskresikan melalui ginjal (Fortier *et al.*, 2008).

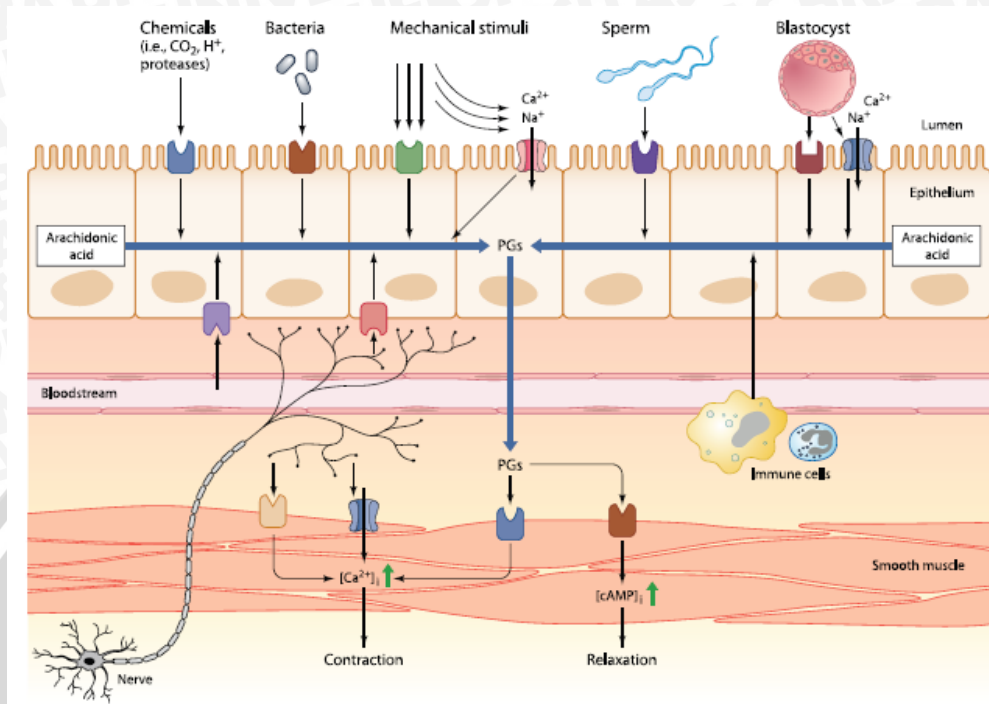
Sintesis enzim ini ditingkatkan oleh progesteron dan sitokin antiinflamasi IL-10 dan diturunkan oleh kortisol, glukokortikoid sintetik, dan sitokin-sitokin proinflamasi IL-1 β dan TNF- α . Produksi enzim ini meningkat selama kehamilan dan menurun ketika akan persalinan (Olson dan Ammann, 2007).

2.8.3.3 IL-1 β Meningkatkan Sintesis Prostaglandin

Pada proses inflamasi, IL-1 β memberikan sinyal transduksi pada IL-1R. Sinyal mengaktifkan faktor transkripsi NF κ B. NF κ B teraktivasi menginduksi sintesis protein-protein mediator proinflamasi seperti COX-2. Peningkatan COX-2 akan meningkatkan produksi prostaglandin H (PGH) dari asam arakhidonat (Olson dan Ammann, 2007).

IL-1 β juga menginduksi produksi aldo-keto reduktase 1 B1 (AKR1B1) dengan memicu aktivitas NF κ B yang kemudian akan berinteraksi dengan *antioxidant response element (ARE)* dan *osmotic response element (ORE)* yang merupakan gen promotor AKR1B1. AKR1B1 merupakan enzim PGF sintase yang mengubah PGH menjadi PGF2 α . Selain meningkatkan AKR1B1, ternyata IL-1 β juga meningkatkan PGE2 dengan meningkatkan sintesis enzim PGES subtype 2 (PGES-2) melalui peran ROS terhadap Egr-1 yang meningkatkan transkripsi mPGES2 (Fortier *et al.*, 2008).

Selain meningkatkan sintesisnya, IL-1 β juga meningkatkan aktivitas PG terutama PGF2 α dengan meningkatkan sintesis reseptor FP. Mekanisme ini, sama seperti pada sintesis COX-2, juga diperantarai oleh NF κ B (Olson dan Ammann, 2008).



Gambar 2.9 Faktor-faktor yang Meningkatkan Produksi PG (Ruan *et al.*, 2011)

Faktor-faktor yang meningkatkan produksi PG dari epitel endometrium dijelaskan secara skematik pada gambar 2.9. Faktor-faktor tersebut bisa meningkatkan produksi PG baik dengan meningkatkan sintesisnya maupun dengan meningkatka pelepasannya dari sel. Faktor-faktor tersebut di antaranya adalah bahan kimia seperti karbondioksida, protease, dan ion hidrogen melalui mekanisme *chemosensing* terhadap sel epitel lumen. Produksi bahan kimiawi protease dan ion hidrogen juga menjadi perantara bagaimana blastocyst, sperma, dan ovum dapat menginduksi produksi PG. Semua faktor di atas menyebabkan pelepasan PG. Selain itu, ada juga stimulasi dari rangsangan mekanik yang membuka kanal natrium epitel (*epithelial Na channel/ENaC*) dan *transient receptor potential (TRP) channel*. Ion natrium dan kalsium intraseluler yang meningkat pada sel akan memicu pelepasan PGE₂ (Ruan *et al.*, 2011).

Proses infeksi juga menjadi pemicu pelepasan PG oleh sel epitel. Bakteri dan produknya (PAMPs) yakni LPS memicu produksi PG. Interaksi antara LPS dan TLR menyebabkan pelepasan PGE₂. Ini menjadi penjelasan mekanisme yang mendasari infeksi sebagai pemicu kelahiran prematur (Ruan *et al.*, 2011).

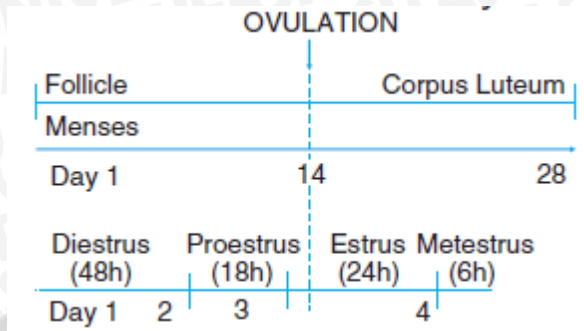
Peran faktor induktor sintesis PG diperankan oleh salah satunya neuropeptida oksitosin. Oksitosin yang disekresikan pada ujung neuron akan berikatan dengan reseptornya (OXTR). Interaksi tersebut menginduksi sintesis COX-2 selain juga menginduksi pelepasan PG. Peran secara tak langsung ini yang mendasari fungsinya dalam induksi persalinan walaupun oksitosin secara langsung juga berperan dalam memicu kontraksi otot polos dengan aktivitasnya pada reseptor dan kanal ion kalsium sebagaimana neuropeptida lain seperti histamin, asetilkolin, dan bradikinin (Ruan *et al.*, 2011).

2.9 Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar

2.9.1 Peran Sebagai Hewan Model Reproduksi Wanita

Penelitian pada bidang reproduksi yang mencakup kehamilan (apalagi jika yang menjadi objek pengamatan adalah fertilisasi, gametogenesis, dan embriologi) dan ginekologi membutuhkan perencanaan waktu yang baik terutama apabila subjek hewan coba yang dipakai berjenis kelamin wanita. Hal ini dikarenakan organ reproduksi pada wanita mengalami dinamika fisiologis yang memengaruhi luaran variabel (Foster dan Gray dalam Klaassen *et al.*, 2008).

Tikus (*Rattus norvegicus*) menjadi salah satu hewan coba yang merepresentasikan aktivitas organ reproduksi manusia karena beberapa persamaan dan memiliki periode periode satu siklus menstruasi yang relatif pendek. Meskipun demikian, tahapan fase di dalam siklus menstruasi tikus analogi dengan manusia (Foster dan Gray dalam Klaassen *et al.*, 2008).



Gambar 2.10 Analogi Siklus Menstruasi Manusia dan Tikus (Foster dan Grray dalam Klaassen, 2008)

Pembagian fase diestrus, proestrus, estrus, dan metestrus pada uterus tikus didasarkan pada histologi *vaginal smear* atau apusan vagina (Westwood, 2008). Fase proliferaatif pada uterus manusia analogi dengan fase diestrus dan proestrus pada tikus, sedangkan fase luteal manusia analogi dengan fase estrus dan metestrus tikus (sesuai gambar 2.10). Ovulasi terjadi di antara fase proestrus dan estrus (Foster dan Gray dalam Klaassen *et al.*, 2008). Aplikasi apusan vagina dapat diterapkan dalam penelitian mengingat perbedaan fase memengaruhi fisiologi uterus.

Tikus betina memiliki kesamaan dalam fisiologi reproduksinya dengan wanita (Foster dan Gray dalam Klaassen *et al.*, 2008), antara lain :

- Memiliki pengatur yang berasal dari hormon-hormon steroid antara lain testosteron yang pada saat aktif direduksi ke dihidrotestosteron, estradiol, dan progesteron
- Diatur oleh sistem neuroendokrin aksis hipotalamus-pituitari-gonad. Skema kerja *gonad releasing hormone (GnRH)* dihasilkan hipotalamus dan memicu pituitari anterior menyekresikan *follicle stimulating hormone (FSH)* dan *luteinizing hormone (LH)*.

- FSH kemudian memicu perkembangan sel gonad. LH pada jumlah tertinggi (*LH surge*) memicu ovulasi.

Tikus memiliki onset puber pada usia 6-12 minggu, durasi satu siklus seksual 4-6 hari, lama waktu pembuahan hingga implantasi pada dinding uterus 5-6 hari, serta masa kehamilan 21-22 hari (Foster dan Gray dalam Klaassen, 2008).

