

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian *Outer Membrane Protein (OMP) Porphyromonas gingivalis* terhadap Kadar Malondialdehid (MDA)

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan perbandingan kadar malondialdehid (MDA) terhadap pemberian *outer membrane protein (OMP) P. gingivalis* murni dan dengan ajuvan CFA/IFA pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang dipapar dengan garam DOCA. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar MDA pada kelompok kontrol negatif adalah 0,99 ng/100 μ L dengan rerata tekanan darah adalah 111/71 mmHg. Sedangkan kadar MDA kelompok kontrol positif adalah 3,17 ng/100 μ L dengan rerata tekanan darah adalah 176/131 mmHg. Malondialdehid (MDA) dihasilkan dari reaksi rantai peroksidasi lipid oleh *Reactive Oxygen Species (ROS)* (Siswonoto, 2008). Malondialdehid (MDA) akan berikatan dengan derivat lisin dari ApoB yang merupakan komponen utama dari LDL sehingga membentuk *malondialdehyde modified low density lipoprotein (MDA-LDL)* (Tsimika, 2005) Pada kelompok kontrol negatif MDA tetap dihasilkan. Hal ini dikarenakan tikus selalu menghasilkan ROS endogen oleh mitokondria, lisosom dan lain-lain. Berdasarkan penelitian sebelumnya ROS memiliki peran fisiologis dalam menjaga tonus vaskular (Freed dan Gutterman, 2013). Namun apabila terjadi peningkatan ROS maka dapat meningkatkan kadar MDA juga. Ketika tikus dipapar garam DOCA yang mana paparan ini akan meningkatkan ROS maka akan meningkatkan pula kadar MDA.

Stres oksidatif yang disebabkan oleh peningkatan ROS merupakan salah satu faktor prohipertensi yang nantinya akan menyebabkan hipertensi dengan cara

mengubah struktur dan fungsi pembuluh darah. Peningkatan ROS ditandai dengan adanya salah satu biomarker yaitu MDA. Pada penelitian sebelumnya terdapat bukti bahwa kadar MDA pada pasien hipertensi sebelum diberi pengobatan lebih tinggi secara signifikan dari pada pasien kontrol ($p < 0,01$). Namun, setelah diberi pengobatan kadar MDA turun secara signifikan ($p < 0,01$) (Khanna *et al.*, 2008). Selain itu, penurunan antioksidan superoksida dismutase dan aktivitas glutathion peroksidase telah diamati pada subjek hipertensi tidak diobati atau pada subyek yang baru terdiagnosis dimana kadar antioksidan berkorelasi terbalik dengan tekanan darah dibandingkan dengan subyek kontrol (Pedro, 2000).

Hipertensi berkaitan dengan proses inflamasi derajat rendah yang berlangsung kronik. Proses inflamasi ini berkaitan dengan aktivasi sel-sel inflamasi sehingga terjadi peningkatan sitokin-sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6. Pada studi sebelumnya TNF- α dan IL-6 berkorelasi positif dengan tekanan darah pada manusia. Sitokin-sitokin tersebut akan meningkatkan produksi *Reactive oxygen species* (ROS) dengan cara mendestabilisasi mRNA eNOS sehingga menyebabkan ekspresi eNOS menurun. eNOS yang terpapar oleh suasana inflamasi, mengalami kondisi yang disebut sebagai deregulasi atau *uncoupling* eNOS. Pada kondisi tersebut, eNOS tidak lagi berpasangan dengan oksidasi L-Arginin bahkan merangsang pembentukan superoksida anion (O_2^-) serta menurunkan pelepasan *Nitric oxide* (NO) (Bautista *et al.*, 2005; Susanti, 2012).

Peningkatan *Reactive oxygen species* (ROS) dapat menyebabkan disfungsi endotel melalui penurunan bioavailabilitas NO. Kadar NO yang turun akan berpengaruh terhadap relaksasi vaskuler dimana NO berfungsi sebagai vasodilator vaskular. Disfungsi fungsi endotel inilah yang dapat menyebabkan tonus dan struktur vaskular terganggu dan meningkatkan tahanan pembuluh darah

perifer (khususnya jika hal itu terjadi dalam tahanan arteri) sehingga muncul manifestasi berupa hipertensi. Induksi garam DOCA akan meningkatkan produksi ROS sehingga akan menurunkan bioavailabilitas NO melalui aktivasi enzim NADPH oksidase (Dinh *et al.*, 2014)

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri Gram negatif yang paling sering ditemukan pada periodontiitis kronis. Bakteri ini memiliki komponen *outer membrane protein* yang terdiri dari protein gingipain yaitu Rgp dan Kgp. Gingipain memiliki kemiripan dengan MDA-LDL dan menginduksi pembentukan antibodi terhadap MDA-LDL. MDA-LDL yang terbentuk kemudian akan berikatan dengan CD36 makrofag yang selanjutnya akan meningkatkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (Kearney, 2000; Su, 2009). Hasil dari SDS PAGE ekstrak *outer membrane protein* terdapat molekul dengan berat molekul 95 kDa. Berdasarkan penelitian dari Genco *et al.* pada tahun 1998, 95 kDa merupakan berat molekul dari gingipain khususnya Rgp.

Pada data hasil analisis *Kruskal Wallis* didapatkan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian OMP *P. gingivalis* terhadap kadar MDA pada serum tikus model hipertensi. Rerata tekanan darah kelompok yang diberi OMP murni (kelompok perlakuan 1) adalah 123/85 mmHg dengan kadar MDA adalah 1,21 ng/100 μ L. Jika dilakukan uji beda *post hoc Mann Whitney* dengan kelompok kontrol negatif didapatkan signifikansi $p = 0,222$. Hal ini berarti tidak terdapat perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan perlakuan 1. Adapun uji beda *post hoc Mann Whitney* dengan kelompok kontrol positif didapatkan signifikansi $p = 0,008$ atau dengan kata lain terdapat perbedaan antara kelompok kontrol positif dan perlakuan 1.

Sedangkan rerata tekanan darah kelompok yang diberi OMP *P. gingivalis* dengan CFA/IFA (kelompok perlakuan 2) 143/107 mmHg dengan kadar MDA adalah 1, 91 ng/100 μ L. Apabila dilakukan uji post hoc *Mann Whitney* dengan kelompok kontrol negatif didapatkan nilai $p=0,008$. Hal ini berarti terdapat perbedaan antara kelompok kontrol negatif dan perlakuan 2. Sementara itu uji *post hoc Mann Whitney* kelompok perlakuan 2 dengan kelompok kontrol positif didapatkan nilai $p= 0,008$ atau dengan kata lain terdapat perbedaan antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok kontrol positif.

Pada tikus yang diberi CFA/IFA (kelompok perlakuan 3) didapatkan rerata tekanan darah 158/130 mmHg dan kadar MDA yaitu 2, 70 ng/100 μ L. Jika dilakukan uji *post hoc Mann Whitney* dengan kelompok kontrol negatif didapatkan nilai signifikansi $p=0,008$. Adapun uji *post hoc Mann Whitney* dengan kelompok kontrol positif didapatkan nilai signifikansi $p=0,16$. Pemberian *outer membrane protein P. gingivalis* murni dan dengan ajuvan CFA/IFA dapat menurunkan kadar MDA pada tikus model hipertensi. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Vahlevi dkk. (2013) bahwa pemberian gingipain dapat menurunkan kadar MDA-LDL pada tikus model aterosklerosis. Pemberian CFA/IFA ternyata tidak memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap kadar MDA. Hal ini dikarenakan CFA/IFA berbahan lemak sehingga mampu untuk menginduksi terjadinya respon inflamasi lokal yang dapat mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid dan menghasilkan MDA (Binder *et al.*, 2003).

Berdasarkan hasil penelitian di atas didapatkan hasil bahwa kelompok yang diberi OMP murni (perlakuan 1) dan kelompok yang diberi OMP+CFA/IFA (perlakuan 2) menunjukkan hasil pengukuran kadar MDA yang lebih rendah dari pada kontrol positif. Lalu dilakukan uji *post hoc Mann Whitney* pada kelompok

perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p=0,008$). Padahal keduanya terdapat ekstrak kasar OMP *P. gingivalis*. Hal ini dikarenakan bahan CFA/IFA yang berbahan lemak sehingga meskipun terdapat antibodi terhadap MDA-LDL yang menyebabkan penghambatan produksi TNF- α dan IL-6, namun efek ini tidak mampu menghambat efek ROS dalam memperoksidasi lipid eksogen.

6.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan antara lain peneliti tidak melakukan pengukuran kadar MDA-LDL, namun melakukan pengukuran kadar MDA serum total.

