

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian DOCA-salt terhadap Kadar Angiotensin II

Deoxycorticosteron acetate (DOCA) merupakan derivat dari mineralokortikoid/aldosteron yang jika ditambah dengan konsumsi tinggi garam (DOCA-salt) akan menginduksi hipertensi dengan *remodelling* kardiovaskular yang khas pada hipertensi tipe *volume overload* (Iyer *et al.*, 2010). DOCA-salt juga bekerja dalam meningkatkan kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menginduksi disfungsi endotel sehingga memicu pembentukan produk peroksidasi lipid *Low-Density Lipoprotein* (LDL) dan mengalami degradasi menjadi fragmen seperti *Malondialdehid* (MDA) yang akan membentuk ikatan *Malondialdehyde-Modified Low-Density Lipoprotein* (MDA-LDL) (Tsimikas *et al.*, 2008).

Dari hasil penelitian didapatkan peningkatan rerata tekanan darah pada tikus kontrol positif, tikus perlakuan 2, dan tikus perlakuan 3 jika dibandingkan dengan tikus kontrol negatif. Tetapi, hasil ini berkebalikan dengan rerata kadar angiotensinnya. Rerata kadar angiotensin II pada tikus kontrol negatif adalah 270 pmol/l, sedangkan kontrol positif yang diberi DOCA-salt didapatkan rata-rata kadar angiotensin II sebesar 252 pmol/l. Penurunan kadar angiotensin II yang kurang signifikan pada kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif disebabkan karena tikus model hipertensi yang diinduksi dengan DOCA-salt ini termasuk dalam kondisi aldosteronisme primer (produksi aldosteron berlebih dengan supresi kadar renin) yang mensupresi *Renin Angiotensin Aldosterone System* (RAAS) sehingga dikenal sebagai model hipertensi yang bersifat *Angiotensin-independent* dengan penurunan sirkulasi konsentrasi renin plasma (Tomaschitz, A. *et al.*, 2010).

6.2 Pengaruh Pemberian Vaksin OMP *P. gingivalis* terhadap Kadar Angiotensin II

Porphyromonas gingivalis (*P. gingivalis*) adalah salah satu bakteri Gram-negatif anaerob yang berperan penting pada patogenesis periodontitis. Faktor virulensi yang sangat penting bagi *P.gingivalis* dan menjadi kunci dalam menimbulkan gejala-gejala kerusakan jaringan adalah gingipain. Arg-gingipain (Rgp) *P. gingivalis* dapat dikenali oleh IgM alami dan bersifat mimikri molekuler dengan MDA-LDL (Amir *et al.*, 2012). Hal ini menunjukkan adanya reaksi silang antara Rgp yang merupakan faktor virulensi utama *P.gingivalis*, dengan MDA-LDL yang berkontribusi besar dalam disfungsi endotel. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Damayanti (2015) menunjukkan bahwa vaksin OMP *P.gingivalis* dapat mencegah peningkatan kadar *Malondialdehyde* (MDA) yang merupakan *marker* dari stres oksidatif yang mendasari patogenesis terjadinya hipertensi. Adanya pencegahan peningkatan kadar MDA ini menunjukkan bahwa antibodi anti Rgp juga diduga berperan dalam mencegah pembentukan ROS dikarenakan MDA merupakan *marker* dari ROS, sehingga kejadian peroksidasi lipid yang berakibat pada disfungsi endotel berkurang. Selain memiliki mimikri molekuler dengan MDA-LDL, diperkirakan anti Rgp juga mampu menghambat suatu faktor yang berada sebelum pembentukan MDA-LDL karena didapatkan penurunan MDA yang merupakan prekursor dari MDA-LDL.

ROS memiliki peran yang penting dalam perkembangan terjadinya penyakit kardiovaskular termasuk hipertensi. Hal ini sebagian besar dikarenakan adanya peningkatan kadar ROS secara dramatis dan melampaui mekanisme pertahanan antioksidan endogen tubuh dapat menyebabkan kerusakan yang signifikan pada sel dan jaringan (Montezano *et al.*, 2012). ROS juga menyebabkan peningkatan produksi senyawa oksidan, penurunan bioavailabilitas vasodilator *Nitric*

Oxide (NO), dan penurunan kapasitas antioksidan di pembuluh darah dan ginjal (Touyz *et al.*, 2005). Selain itu ROS juga diketahui dapat menyebabkan penebalan sel otot polos pembuluh darah di tunika media sehingga menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah (Higashi *et al.*, 2012). Dalam beberapa penelitian juga dikatakan bahwa peningkatan ROS diketahui dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang mengakibatkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, antara lain adalah MDA. Senyawa MDA dapat menyebabkan oksidasi pada *Low-Density Lipoprotein* (LDL) sehingga menjadi MDA-LDL yang berkontribusi dalam terjadinya disfungsi endotel (Liao *et al.*, 1995).

Telah dijelaskan pada bab-bab sebelumnya bahwa angiotensin II, mediator utama dari RAAS, berperan dalam pengaktifan beberapa subunit dan multikomponen dari NADPH oksidase yang berdampak terhadap pembentukan ROS dan berujung pada peningkatan tekanan darah. Namun, pada beberapa penelitian terakhir juga membuktikan bahwa ROS berperan dalam up-regulasi RAAS di dalam berbagai macam sel dan jaringan. Dalam beberapa keadaan patologis, ROS terbukti meningkatkan aktivasi RAAS, sehingga menciptakan lingkaran setan yang menguatkan jalur persinyalan yang buruk yang dijalankan oleh sistem endokrin ini. Penelitian yang dilakukan oleh Anupama *et al* (2016) membuktikan bahwa induksi hidrogen peroksida (H_2O_2 , radikal non-bebas ROS) dapat meningkatkan ekspresi gen reseptor angiotensin II tipe 1 (AT1R) pada fibroblas jantung.

Pada data hasil analisis *one way ANOVA*, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,644 ($p > 0,05$) sehingga H_1 ditolak. Pada hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tikus perlakuan 1 (DOCA-salt + vaksin OMP *P.gingivalis*) terjadi

sedikit perubahan kadar angiotensin II jika dibandingkan dengan tikus kontrol positif meskipun perbedaannya tidak signifikan. Hal ini kemungkinan dikarenakan vaksin OMP *P.gingivalis* yang diberikan tidak bekerja secara maksimal yang bisa saja disebabkan oleh adanya ketidaksesuaian rute administrasi vaksin yang dilakukan secara intraperitoneal (IP) yang memiliki *onset of action* yang cepat. Prinsip rute pemberian vaksin adalah antigen yang *slow release* agar antibodi dapat terbentuk maksimal (Fox *et al.*, 2013).

Kadar angiotensin II mengalami penurunan pada tikus perlakuan 2 (DOCA-salt + vaksin OMP *P.gingivalis* + Alum) dan tikus perlakuan 3 (DOCA-salt + Alum) jika dibandingkan dengan tikus perlakuan 1 (DOCA-salt + vaksin OMP *P.gingivalis*) meskipun perbedaannya tidak signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kerja Alum yang meningkatkan respon antibodi vaksin sehingga kerjanya bisa lebih maksimal jika dibandingkan dengan hasil tanpa ajuvan Alum.

Alum mampu memprovokasi respon Th2 secara kuat yang selanjutnya merangsang sel B untuk meningkatkan produksi antibodi. Pemberian Alum tanpa antigen juga dapat memberi perlindungan terhadap aterosklerosis (efek *atheroprotective*) melalui mekanisme antigen apoB yang dikeluarkan oleh LDL teroksidasi pada lokasi tempat injeksi. Selanjutnya, antigen tersebut akan dikirimkan melalui APC ke jaringan limfatik perifer dimana akan mengaktivasi *antigen-specific Tregs* untuk memproteksi dari produk LDL teroksidasi sehingga melindungi dinding arteri dari aterosklerosis (Wigren *et al.*, 2009). Kemungkinan besar melalui mekanisme proteksi terhadap pembentukan LDL teroksidasi inilah yang dapat mencegah terjadinya proses peroksidasi lipid dari LDL sehingga

berujung pada hambatan terhadap pembentukan MDA-LDL hingga ROS (Tsimikas *et al.*, 2008).

Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok perlakuan menunjukkan bahwasannya pemberian vaksin OMP *P.gingivalis* tidak berpengaruh terhadap kadar angiotensin II tikus model hipertensi yang diinduksi dengan DOCA-salt. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh ketidaksesuaian *inducer* hipertensi yang digunakan dengan tujuan variabel yang akan diamati yaitu angiotensin II sehingga pengaruh pemberian vaksin terhadap kadar angiotensin II belum bisa dievaluasi dan intervensi apapun yang diberikan hasilnya tidak akan jauh berbeda. Pada tikus model hipertensi yang diinduksi dengan DOCA-salt memiliki RAAS yang rendah sehingga tikus model hipertensi yang diinduksi dengan DOCA-salt dikenal sebagai model hipertensi yang bersifat *angiotensin-independent* (Iyer *et al.*, 2010).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu kesalahan memilih *inducer* hipertensi karena tidak sesuai dengan variabel yang diteliti, dan tidak ada pengujian *pre test* sehingga tidak tahu keadaan tikus sebelum diberi perlakuan,