

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Pemberian Garam *Deoxycorticosterone Acetate* (DOCA) terhadap Tekanan Darah Tikus

Tekanan darah merupakan variabel yang berbanding lurus dengan *cardiac output* dan tahanan perifer. *Cardiac output* menunjukkan kekuatan dan jumlah darah yang dipompa jantung menuju sistemik sedangkan tahanan perifer menunjukkan besarnya tahanan yang didapatkan aliran darah oleh dinding-dinding pembuluh darah (Guyton dan Hall, 2006). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan terjadinya pencegahan kenaikan tekanan darah dengan pemberian vaksin OMP *P.gingivalis* tanpa ajuvan maupun dengan ajuvan (CFA/IFA) pada tikus model hipertensi yang diinduksi garam DOCA. Dari hasil penelitian didapatkan rerata tekanan darah pada tikus kontrol negatif adalah 111/71 mmHg, sedangkan kontrol positif (diberi garam DOCA) didapatkan rerata tekanan darah 169/142 mmHg.

Peningkatan tekanan darah yang signifikan pada kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif disebabkan karena induksi garam DOCA (derivat aldosteron) yang dapat menyebabkan retensi air dan garam (NaCl) sehingga meningkatkan jumlah cairan di dalam pembuluh darah. Peningkatan jumlah cairan di dalam pembuluh darah ini akan meningkatkan besar dari volume sekuncup sehingga akan terjadi peningkatan tekanan darah. Selain itu, peningkatan konsentrasi aldosteron dalam darah dapat mengaktivasi stres oksidatif dengan cara melakukan *up* regulasi NADPH oxidase yang berada di sel endotel, sel otot polos pembuluh darah dan sel fibroblas di tunika adventisia sehingga berkontribusi dalam menyebabkan kerusakan pembuluh darah

(Tomaschitz *et al.*, 2010). Kerusakan pembuluh darah berkontribusi dalam peningkatan tahanan perifer melalui disfungsi endotel yang akan memicu terjadinya sumbatan dan gangguan tonus pembuluh darah. Adanya peningkatan *cardiac output* dan tahanan perifer yang diinduksi oleh garam DOCA merupakan alasan yang kuat dari peningkatan tekanan darah yang signifikan pada kontrol positif apabila dibandingkan dengan kontrol negatif (Iyer *et al.*, 2010)

Hipertensi pada dasarnya disebabkan oleh berbagai faktor seperti aktivasi saraf simpatis, *intake* natrium (garam) tinggi waktu panjang, peningkatan sekresi renin oleh ginjal, dan stress oksidatif yang menyebabkan disfungsi endotel. Mayoritas pasien dengan hipertensi esensial menunjukkan penurunan respon vasodilator terhadap asetil kolin yang menyebabkan relaksasi *endothelial-dependent* menjadi abnormal. Hal ini dikaitkan dengan kerusakan sel endotel sehingga terjadi penurunan sintesis dan pelepasan nitric oxide (NO) (Sargowo, 2003). Hubungan antara disfungsi endotel dan hipertensi belum dapat dijelaskan sepenuhnya apakah hipertensi sebagai penyebab atau akibat dari terjadinya disfungsi endotel namun dapat diketahui bahwa hipertensi dapat menginduksi stres oksidatif pada dinding arteri sehingga dapat mengeksaserbasi pembentukan dan progresifitas atherosklerosis. Hipertensi yang diinduksi oleh oksidasi dapat mengaktifkan mekanisme yang redoks sensitif, sehingga menyebabkan masuknya sel mononuklear (MN) ke dalam dinding arteri (Kubes, 1992)

6.2. Pengaruh Pemberian Outer Membrane Protein (OMP) *Porphyromonas gingivalis* terhadap Tekanan Darah

Reactive Oxygen Species (ROS) memiliki peran penting dalam perkembangan terjadinya penyakit kardiovaskular termasuk hipertensi. Hal ini sebagian besar disebabkan karena ROS menyebabkan peningkatan produksi

senyawa oksidan, penurunan bioavailabilitas vasodilator nitric oxide (NO), dan penurunan kapasitas antioksidan di pembuluh darah dan ginjal (Touyz *et al.*, 2003). 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.*, 2002). Hubungan antara stres oksidatif dan peningkatan tekanan darah telah didemonstrasikan pada banyak percobaan model hipertensi. Peningkatan kadar ROS mendahului perkembangan hipertensi pada hewan coba yang menunjukkan bahwa ROS berperan dalam perkembangan hipertensi (Houston, 2005). Pada penelitian hipertensi, penanda dari stres oksidatif seperti *thiobarbituric acid*, *F_{2α}-isoprostanes*, konsentrasi O_2^- serta H_2O_2 dalam jaringan, aktivitas NADPH oksidase, dan xanthine oksidase diketahui meningkat sedangkan kadar NO dan enzim-enzim antioksidan menurun (Redon *et al.*, 2003). Peningkatan ROS juga diketahui dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang mengakibatkan terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel, antara lain adalah *malondialdehyde* (MDA). Senyawa MDA dapat menyebabkan oksidasi pada LDL sehingga menjadi MDA-LDL (Lee *et al.*, 2003). MDA-LDL yang berada di sirkulasi tubuh manusia juga diketahui menyebabkan gangguan fungsi endotel (Ward *et al.*, 2004). Sehingga dengan adanya molekul MDA-LDL akan memperburuk gangguan tonus dan struktur endotel yang akan mempercepat progresifitas penyakit kardiovaskular.

Bakteri *P.gingivalis* adalah bakteri yang paling sering menyebabkan periodonitis kronis. Faktor virulensi yang sangat penting bagi *P.gingivalis* adalah Rgp dan Kgp. Epitop gingipain (Rgp) *P.gingivalis* diketahui dapat memicu reaksi IgM *natural* terhadap MDA-LDL yang menunjukkan adanya reaksi silang antara Rgp yang merupakan faktor virulensi utama *P.gingivalis* dengan MDA-LDL yang

berkontribusi dalam terjadinya disfungsi endotel. Berdasarkan hasil dari *profiling outer membrane protein* (OMP) *P. gingivalis* menggunakan SDS PAGE, terdapat protein dengan berat molekul 95 kDa (Lihat Gambar 5.1). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Genco *et al* pada tahun 1998, berat molekul Rgp adalah 95 kDa sehingga dapat disimpulkan bahwa di dalam OMP *P.gingivalis* terdapat Rgp. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Damayanti pada tahun 2015 menunjukkan bahwa vaksin OMP *P.gingivalis* dapat mencegah peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) yang merupakan petanda dari stress oksidatif yang mendasari patogenesis terjadinya hipertensi. Adanya pencegahan peningkatan kadar MDA ini menunjukkan bahwa antibodi anti Rgp juga berperan dalam mencegah pembentukan stres oksidatif yang mekanisme secara pastinya masih belum diketahui. Selain memiliki mimikri molekular 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.

Adanya penurunan kadar MDA yang menandai penurunan stres oksidatif berbanding lurus dengan hasil tekanan darah sistolik dan diastolik pada tikus percobaan yang sama. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian vaksin OMP *P.gingivalis* tanpa adjuvan mencegah terjadinya peningkatan tekanan darah tikus model hipertensi. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara tekanan darah sistol/diastol tikus kontrol negatif dengan tikus kelompok perlakuan 1 dan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara rerata tekanan darah sistol/diastol tikus kontrol positif dengan tikus kelompok perlakuan 1. Hasil ini menunjukkan bahwa antibodi antiRgp (ditunjukkan dengan hasil uji dotblot) yang dihasilkan mampu mencegah peningkatan tekanan darah

karena induksi garam DOCA. Mekanisme pasti pencegahan peningkatan tekanan darah masih belum diketahui, namun hasil pencegahan peningkatan kadar MDA yang dijelaskan sebelumnya menunjukkan bahwa antibodi antiRgp dapat mempengaruhi pembentukan ROS yang memiliki kontribusi besar dalam terjadinya hipertensi. .

. Hasil rerata tekanan darah pada kelompok tikus yang diberikan OMP *P.gingivalis* yang dikonjugasikan dengan ajuvan CFA/IFA (perlakuan 2) menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan ($p>0,05$) dengan kontrol positif . Hal ini menunjukkan bahwa vaksin OMP *P.gingivalis* yang dikonjugasikan dengan CFA/IFA tidak berhasil dalam mencegah tekanan darah karena induksi garam DOCA. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai hal seperti ketidakcocokan ajuvan CFA/IFA dengan OMP *P.gingivalis* dalam mencegah peningkatan tekanan darah. CFA/IFA juga diketahui dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan menghasilkan MDA-LDL sehingga juga dapat menginduksi respon inflamasi dan mengakibatkan stres oksidatif yang juga berperan dalam patogenesis terjadinya hipertensi. Selain itu kesalahan metode pembuatan vaksin khususnya pada tahap pencampuran OMP *P.gingivalis* dengan ajuvan CFA/IFA juga nampaknya berkontribusi dalam kegagalan vaksin dalam mencegah peningkatan tekanan darah.

6.3. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu kurangnya mengukur variabel yang berguna untuk mengetahui mekanisme kerja detail dari vaksin OMP *P.gingivalis* dalam menghambat hipertensi, kurangnya mengamati organ-organ yang penting dalam regulasi tekanan darah pada hewan coba, keterbatasan

mendapatkan isolasi Rgp murni dari OMP *P.gingivalis* dan kesalahan dalam memilih ajuvan untuk diberikan bersama OMP *P.gingivalis*.

