

Apoptosis Pneumosit Tipe I & II pada Syok Hipovolemik Perdarahan yang Diresusitasi dengan LSBT Studi Eksperimental pada *Rattus Sprague Dawley*

(Apoptosis Pneumocyte Type I & II on LSBT Resuscitated Haemorrhagic Hypovolemic Shock Experimental Study on Rat Sprague Dawley)

Kohar Hari Santoso*, H.R. Eddy Rahardjo*, Harjanto*

ABSTRACT

Commonly used liquid to correct the haemorrhagic hypovolemic shock is Ringer Lactate RL. However the number of lung cell apoptosis in cases resuscitated with RL increased three-fold. Liquid Substitution of Blood Transfusion (LSBT) is one of the alternative fluid that can be given in the pre hospital period with promising advantages. The objective of this research was to verify whether apoptosis of pneumocyte type I and type II cells after resuscitation using LSBT is lower than those resuscitated with RL. True Experimental Design on 30 Sprague Dawley Rat were done. Hemorrhagic shock were induced by needle puncture on canthus medialis and sustained for 30 minutes. Rats were randomized into three groups, 10 subjects each, i.e. Group LSBT received LSBT 4ml/kg body weight as the resuscitation fluid, Group RL received Ringer Lactate 20 ml/kg body weight and Group Bleeding which received no resuscitation fluid. Lung tissue samples were taken three hours after the completion of resuscitation for analysis of Caspase 9, AIF, and MDA using immunohistochemical method. Tunnel method was used to demonstrate apoptosis. Body weight, hemoglobin, natrium, lactate and base deficit of the three groups of rats were homogenous. Both pneumocyte I and pneumocyte II showed significant increased activity of the caspase cascade as measured by the expression caspase 9 and AIF after RL more than LSBT $p = 0.000$. MDA expression among pneumocyte II showed no difference between LSBT and RL groups $p = 0.090$. While significant difference was found among pneumocyte I between LSBT and RL, with higher MDA expression in the RL group $p = 0.000$. Tunnel method to measure the apoptosis rate of pneumocyte I showed significant difference in favor of LSBT $p = 0.000$ but not of pneumocyte II $p = 0.090$. LSBT resuscitation showed significant beneficial result on the lower apoptosis rate, supported by both Caspase Cascade, AIF and MDA expression compared to Ringer Lactate. This new fact may open new opportunity to treat shocked hemorrhagic patients with a new fluid composition to achieve better result with less pulmonary complications.

Key words: pneumocyte I, pneumocyte II, LSBT, hypovolemic shock, apoptosis

PENDAHULUAN

Perdarahan merupakan penyebab kematian dan kecacatan terbesar pada trauma. Perdarahan yang hebat akan menyebabkan syok hipovolemik. Jika tanpa diikuti penanganan awal yang cepat dan tepat akan mengakibatkan terjadinya SIRS dan sepsis yang cepat sehingga memicu komplikasi gagal organ ganda *Multiple Organ Failure* atau MOF. Hal itu merupakan penyebab kematian pada kasus trauma. Berbagai faktor telah dikaitkan dengan kejadian MOF (Kauvar *et al.*, 2005).

Salah satu faktor yang menjadi perhatian utama adalah oksigen. Peran oksigen sangat penting untuk metabolisme tubuh yang berlangsung secara aerobik. Oksigen diperoleh dengan cara menghirup udara melalui pernafasan kemudian

masuk ke dalam paru. Pada saat di alveoli paru, oksigen akan pindah dari alveoli paru ke pembuluh darah pulmonal untuk disebarkan ke seluruh tubuh. Keutuhan sel epitel alveoli pneumosit sangat penting untuk difusi oksigen alveoli ke kapiler. Kerusakan ataupun kematian dari pneumosit akan menyebabkan gangguan oksigenasi yang berakibat kesakitan hingga kematian.

Epitel alveoli terdiri dari dua tipe, pneumosit tipe I dan pneumosit tipe II. Sel tipe II memiliki bentuk kuboid, meliputi 10% dari seluruh permukaan alveolar, dan bersifat lebih tahan terhadap cedera. Peran dari sel tipe II ini antara lain sebagai penghasil surfaktan, pemindahan ion dan dapat berproliferasi menjadi sel tipe I setelah mengalami cedera Sedangkan sel tipe I bentuknya pipih dan melapisi sekitar

* Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

90% permukaan alveolar saat difusi oksigen berlangsung. Tingkat keparahan cedera paru secara klinis dapat dilihat melalui rasio tekanan parsial oksigen di arteri dengan fraksi oksigen yang dihirup. Rasio ≤ 300 dikatakan sebagai ALI *Acute Lung Injury*, sedangkan rasio ≤ 200 sebagai ARDS *Acute Respiratory Distress Syndrome* (Ware et al., 2000).

Penelitian oleh Ayuste tentang syok perdarahan yang dilakukan pada 49 binatang coba, diketahui bahwa jenis cairan yang digunakan untuk resusitasi dapat memengaruhi jumlah sel yang mengalami apoptosis. Jumlah pneumosit yang mengalami apoptosis pada kasus yang diresusitasi dengan RL meningkat tiga kali lipat, sedangkan pada kelompok yang diresusitasi dengan cairan Ringer Keton, HES dan L-isomer RL tidak tampak peningkatan (Ayuste et al., 2006). Sementara saat ini cairan yang umum dipakai untuk mengatasi syok hipovolemik perdarahan adalah *Ringer's Lactate* RL. Pertimbangan dalam menggunakan RL untuk mengatasi hipovolemik antara lain harga yang relatif murah dan mudah didapat. Namun dibutuhkan RL sejumlah dua hingga empat kali dari perkiraan volume perdarahan yang terjadi.

Selain itu juga dilaporkan bahwa RL ternyata dapat menyebabkan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* ROS oleh neutrofil dan berpengaruh pada ekspresi gen leukosit yang terkait dalam inflamasi, migrasi sel, dan apoptosis. Adanya akumulasi neutrofil berimplikasi terjadinya perubahan permeabilitas mikrovaskular sehingga terjadi kebocoran transudat kaya protein ke rongga alveoler. Hal tersebut merupakan tanda patologik yang ditemukan pada *Acute Respiratory Distress Syndrome* ARDS (Ware et al., 2000).

Cairan Pengganti Transfusi Darah LSBT adalah salah satu alternatif cairan yang dapat diberikan pada periode *prae hospital* dengan berbagai keuntungan yang dimilikinya. LSBT telah diteliti penggunaannya untuk mengatasi perdarahan dan terbukti memberikan efek hemodinamik yang lebih baik. Efek pengisian volume dari LSBT juga terbukti mampu menghindarkan dampak penurunan tekanan darah pada anestesi spinal yang relatif hipovolemik karena vasodilatasi (Santoso, 1998). Di samping aspek tersebut, keuntungan yang diperoleh pada penggunaan LSBT adalah jumlah volume yang dibutuhkan relatif lebih sedikit sehingga memudahkan dan menghemat ruang penyimpanan serta dapat diinfuskan dengan waktu yang lebih singkat. Begitu pula pada perdarahan sebanyak 1000 ml cukup menggunakan 250 ml LSBT (Rahardjo, 1995).

Sejauh ini LSBT untuk kasus perdarahan belum digunakan secara klinis luas. Pengaruh pemberian LSBT

terhadap perbaikan klinis pada syok hipovolemik perdarahan telah terbukti. Namun, bagaimanakah dampak LSBT pada syok hipovolemik perdarahan dari aspek biomolekuler belum jelas. Pada penelitian ini mekanisme pengaruh pemberian LSBT pada aspek biomolekuler khususnya kejadian apoptosis pada sel epitel paru pneumosit hendak diteliti. Penelitian ini diarahkan ke sel epitel paru mengingat peran sel epitel paru dalam proses pengambilan oksigen oleh tubuh. Pada kondisi syok maka penyediaan oksigen ke jaringan tidak ada. Kekurangan oksigen dapat menyebabkan kematian sel.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan mekanisme pengaruh pemberian LSBT pada syok hipovolemik perdarahan atas apoptosis pneumosit tipe I dan tipe II.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni *true experimental* yang menggunakan *randomized separated pre test - post test control group design*, dengan subjek penelitian *Rat Sprague Dawley SD*. Kelompok pra resusitasi merupakan kelompok hewan coba yang diberi tindakan perdarahan sehingga syok dan setelah 30 menit syok tidak dilakukan tindakan resusitasi. Selanjutnya kelompok ini disebut sebagai kelompok perdarahan. Data dari kelompok perdarahan dianggap setara dengan kondisi subjek penelitian kelompok pascarekusitasi.

Kelompok pascarekusitasi adalah kelompok yang dilakukan tindakan perdarahan sehingga syok dan setelah 30 menit kemudian diberikan cairan resusitasi. Kelompok pascarekusitasi tersebut terdiri dari dua kelompok yakni kelompok RL dan kelompok LSBT. Kelompok RL adalah kelompok yang dilakukan tindakan resusitasi dengan RL *Ringer's Lactate*. Sedangkan Kelompok LSBT adalah kelompok yang dilakukan resusitasi dengan LSBT Cairan Pengganti Transfusi Darah. Randomisasi dilakukan untuk menentukan subjek penelitian tergolong pada kelompok mana.

Besar sampel dari masing-masing kelompok pada penelitian ini sebanyak 10 menggunakan penghitungan Kuntoro, 2008:

$$\frac{\sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan:

- σ = Standar deviasi populasi
- μ_1 = Rerata kelompok RL
- μ_2 = Rerata kelompok LSBT

α = tingkat signifikansi 1%
 $1-\beta$ = kekuatan uji $\beta = 1\%$

Pra syarat inklusi:

1. Berat badan 200–300 gram
2. Umur produktif
3. Tidak sedang sakit
4. Laki-laki

Pra syarat eksklusi:

1. Dehidrasi
2. Cacat

Data hasil penelitian ini dianalisis dengan uji *Kolmogorov Smirnov* yang bertujuan untuk melihat normalitas distribusi data. Kemudian diuji statistik dengan menggunakan *Anova One Way* yang bertujuan untuk menilai homogenitas data. Selanjutnya data diuji komparasi menggunakan *Multiple Comparison* untuk mengetahui perbandingan tiap kelompok.

HASIL DAN DISKUSI

Dalam penelitian ini sebanyak 30 subjek penelitian yang telah memenuhi kriteria. Subjek penelitian dilakukan randomisasi sehingga terbagi dalam tiga kelompok yakni; kelompok LSBT, kelompok RL dan kelompok Perdarahan. Masing-masing kelompok sebanyak 10 subjek penelitian.

Data awal yang diukur dalam penelitian ini adalah berat badan, hemoglobin, natrium, laktat dan *base deficit*. Uji *Kolmogorov Smirnov* dilakukan untuk melihat normalitas distribusi data. Dari uji pada data data awal tersebut dapat disimpulkan bahwa distrisbusi data awal untuk penelitian ini adalah normal. $p > 0,05$. Kemudian dilakukan uji statistik *Anova One Way* yang bertujuan untuk menilai homogenitas dari ketiga kelompok tikus. Dari uji *Anova One Way* antara tiga kelompok dapat disimpulkan bahwa atas data data awal tersebut homogen $p > 0,05$. Dengan demikian, pengukuran berat badan, hemoglobin, natrium, laktat, dan *base deficit* tiga kelompok ini adalah tidak ada perbedaan yang bermakna.

Pneumosit tipe I dan tipe II akibat syok hipovolemik perdarahan

Pemulasan *Imunohistokimia* paru menggunakan anti *Caspase 9* dilakukan penghitungan *Caspase 9* pada ketiga kelompok dengan hasil sebagaimana *Tabel 2*, berikut:

Tabel 2. Rerata \pm Standar Deviasi *Caspase 9* Pneumosit Tipe I Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascareusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	8,30	2,751	A
RL	17,80	3,425	B
Perdarahan	26,30	3,773	C

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascareusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Tabel 2, tersebut menunjukkan *Caspase 9* pneumosit tipe I kelompok LSBT memiliki rerata \pm standar deviasi sebesar $9,30 \pm 2,214$. Pada kelompok RL *Caspase 9* pneumosit tipe I sebesar $21,0 \pm 2,667$. Sedangkan pada kelompok praesusitasi atau kelompok perdarahan didapatkan rerata \pm standar deviasi *Caspase 9* pada pneumosit tipe I sebesar $27,10 \pm 2,807$.

Berdasarkan uji statistik dengan *Multiple Comparison* terdapat perbedaan yang bermakna $p = 0,000$ antara kelompok yang praesusitasi dibandingkan kelompok yang pascareusitasi. Sedangkan dari uji antara kelompok yang diresusitasi dengan RL dibandingkan kelompok yang diresusitasi dengan LSBT terdapat perbedaan yang bermakna $p = 0,000$ antara kedua kelompok pascareusitasi tersebut. Hal ini berarti bahwa kelompok LSBT menghasilkan *Caspase 9* pneumosit tipe I yang terendah daripada kelompok yang diresusitasi dengan RL.

Tabel 3, menunjukkan rerata \pm standar deviasi *Caspase 9* pneumosit tipe II kelompok pra resusitasi $26,3 \pm 3,772$. Pada kelompok LSBT rerata \pm standar deviasinya sebesar $8,30 \pm 2,751$ dan kelompok RL *Caspase 9* pneumosit tipe II rerata \pm standar deviasinya sebesar $17,8 \pm 3,425$.

Tabel 1. Data Awal Berat Badan, Hemoglobin, Natrium, Laktat, dan *Base Deficit*

Data	Kelompok Perdarahan		Kelompok RL		Kelompok CPTD	
	Rerata	Standar Deviasi	Rerata	Standar Deviasi	Rerata	Standar Deviasi
Berat Badan	262,50	18,08	262,40	24,66	273,20	18,67
Hemoglobin	13,43	0,63	13,17	0,52	13,16	0,61
Natrium	140,90	2,02	141,40	2,27	140,80	2,20
Laktat	5,00	0,81	4,50	0,85	5,00	1,05
<i>Base Deficit</i>	6,20	1,03	6,40	1,57	6,60	1,26

Hasil uji statistik menyatakan bahwa ada perbedaan yang bermakna $p = 0,000$ antara kelompok yang pra resusitasi dibandingkan kelompok yang pascaresusitasi. Sedangkan nilai uji kelompok post resusitasi, yaitu kelompok LSBT dan kelompok RL pada *Caspase 9* pneumosit tipe II menunjukkan ada perbedaan yang bermakna $p = 0,000$. Kelompok LSBT menghasilkan *Caspase 9* pneumosit tipe II yang terendah daripada kelompok RL.

Tabel 3. Rerata \pm Standar Deviasi *Caspase 9* Pneumosit Tipe II Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascaresusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	8,30	2,751	A
RL	17,80	3,425	B
Perdarahan	26,30	3,773	C

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascaresusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Tabel 4. Rerata \pm Standar Deviasi AIF Pneumosit Tipe I Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascaresusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	5,40	1,506	A
RL	13,70	2,214	B
Perdarahan	27,30	2,685	C

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascaresusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Tabel 4, di atas menunjukkan rerata \pm standar deviasi kelompok perdarahan AIF pneumosit tipe I sebesar $27,10 \pm 2,685$. Sedangkan pada kelompok LSBT sebesar $5,40 \pm 1,506$ dan pada kelompok RL, AIF pneumosit tipe I sebesar $13,70 \pm 2,214$.

Tabel 5. Rerata \pm Standar Deviasi AIF Pneumosit Tipe II Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascaresusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	6,00	2,160	A
RL	11,20	3,458	B
Perdarahan	22,80	3,155	C

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascaresusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Tabel 5, di atas tampak AIF pneumosit tipe II nilai rerata \pm standar deviasi kelompok LSBT $6,00 \pm 2,160$. Pada kelompok RL AIF pneumosit tipe II sebesar $11,20 \pm 3,458$. Sedangkan pada kelompok perdarahan atau pada kelompok praesusitasi nilai rerata \pm standar deviasi AIF pneumosit tipe II sebesar $22,80 \pm 3,155$.

Analisis menggunakan uji *Multiple Comparison* antara kelompok praesusitasi dengan kelompok pascaresusitasi pada *tabel 4* dan *tabel 5* didapatkan bahwa ada perbedaan yang bermakna $p = 0,000$ antara kedua kelompok tersebut. Sedangkan pada uji kelompok pasca resusitasi antara kelompok LSBT dengan kelompok RL menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna $p = 0,000$ antara kedua variabel tersebut. Kelompok LSBT menghasilkan AIF pneumosit tipe I dan tipe II yang paling rendah daripada kelompok variabel yang lainnya.

Tabel 6. Rerata \pm Standar Deviasi MDA Pneumosit Tipe I Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascaresusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	9,80	1,751	A
RL	16,30	3,889	B
Perdarahan	29,70	3,401	C

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascaresusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Analisis menggunakan uji *Multiple Comparison* disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna $p = 0,000$ antara kelompok yang praesusitasi dibandingkan dengan kedua kelompok yang diresusitasi. Kelompok perdarahan menghasilkan MDA pneumosit tipe I tertinggi. Sedangkan kelompok yang diresusitasi dengan LSBT menghasilkan MDA pneumosit tipe I terendah. Sedangkan hasil uji statistik antara kelompok pascaresusitasi, yaitu kelompok LSBT dengan kelompok RL, menunjukkan adanya perbedaan $p = 0,000$ antara kedua kelompok tersebut.

Sedangkan uji statistik menggunakan *Multiple Comparison* menunjukkan ada perbedaan bermakna $p = 0,000$ antara kelompok praesusitasi dibandingkan dengan kelompok pascaresusitasi. Sedangkan nilai uji *Multiple Comparison* MDA pneumosit tipe II pada kelompok pascaresusitasi, menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna $p = 0,090$.

Tabel 7. Rerata ± Standar Deviasi dan Nilai Uji *Multiple Comparison* MDA Pneumosit Tipe II Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascareusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	12,40	3,098	A
RL	16,50	3,837	A
Perdarahan	31,00	5,292	B

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascareusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna

Apoptosis

Tabel 8, berikut diketahui nilai rerata ± standar deviasi untuk kelompok praresusitasi sebesar $23,10 \pm 2,183$. Sedangkan pada kelompok Pascareusitasi, nilai rerata ± standar deviasi pada kelompok LSBT apoptosis pneumosit tipe I sebesar $6,50 \pm 1,716$ dan kelompok RL sebesar $15,30 \pm 2,751$.

Sedangkan dari uji statistik antara kelompok praresusitasi dengan kelompok Pascareusitasi menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna $p = 0,000$. Kelompok yang tidak diresusitasi praresusitasi menghasilkan apoptosis pneumosit tipe I tertinggi daripada kelompok Pascareusitasi yang lainnya. Sedangkan hasil uji statistik apoptosis pneumosit tipe I pada kelompok Pascareusitasi didapatkan bahwa ada perbedaan bermakna $p = 0,000$ antara kedua kelompok tersebut.

Kelompok yang diresusitasi dengan LSBT menghasilkan apoptosis pneumosit tipe I yang terendah daripada kelompok yang diresusitasi dengan cairan RL.

Tabel 8. Rerata ± Standar Deviasi Apoptosis Pneumosit Tipe I Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascareusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	6,50	1,716	A
RL	15,30	2,751	B
Perdarahan	23,10	2,183	C

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascareusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

Pada pemeriksaan Apoptosis pneumosit tipe II diperoleh data seperti pada Tabel 5.9 berikut:

Tabel 9. Rerata ± Standar Deviasi Apoptosis Pneumosit Tipe II Kelompok Praresusitasi dan Kelompok Pascareusitasi

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi	Notasi
LSBT	10,00	3,217	A
RL	14,80	3,824	A
Perdarahan	27,30	5,794	B

Keterangan:

Kelompok Praresusitasi Kelompok Perdarahan

Kelompok Pascareusitasi Kelompok LSBT dan RL

Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna

Hasil uji antara kedua variabel, yaitu kelompok praresusitasi dan kelompok Pascareusitasi menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna $p = 0,000$. Sedangkan hasil uji antara kelompok Pascareusitasi, yaitu kelompok LSBT dan kelompok RL menunjukkan tidak berbeda secara bermakna $p = 0,090$ antara kedua kelompok.

Penggunaan uji statistik dengan *Multivariate Test* pada apoptosis pneumosit tipe I dan tipe II secara keseluruhan menunjukkan hasil yang berbeda secara bermakna $p = 0,000$. Uji statistik ini menggambarkan adanya perbedaan peran yang dimiliki oleh kedua apoptosis, sehingga perlakuan dan analisisnya harus dilakukan secara terpisah. Baik itu pada kelompok praresusitasi maupun pada kelompok Pascareusitasi yang diresusitasi dengan RL dan LSBT.

Pemberian cairan adalah upaya resusitasi yang dilakukan pada syok hipovolemik perdarahan. LSBT pada kasus perdarahan belum digunakan secara klinis luas. Mekanisme perbaikan klinis pemberian LSBT pada syok hipovolemik perdarahan dari aspek biomolekuler diperiksa pada penelitian ini khusus kejadian apoptosis pada sel epitel paru.

Pengurangan volume sirkulasi darah pada saat perdarahan berat akan menekan *cardiac output* dan menurunkan tekanan perfusi organ. Perdarahan berat akan mengacaukan penyampaian oksigen dan nutrisi ke jaringan sehingga menyebabkan kondisi syok. Pada penelitian tentang dampak iskemia terhadap sel epitel paru yang dilakukan oleh **Sakuma et al.**, 1999, dilaporkan bahwa iskemia selama dua jam menginduksi cedera pada beberapa bagian paru. Cedera paru yang diakibatkan iskemia dua jam ini pada tingkat sedang namun tidak sampai mematikan. Sedangkan iskemia selama empat jam, akan menyebabkan cedera paru yang parah dengan mortalitas 100%. Lama syok hipovolemik perdarahan pada penelitian ini adalah

30 menit. Waktu tersebut dipilih untuk mensimulasikan dengan kejadian sehari-hari pasien yang membutuhkan waktu kurang lebih 30 menit sebelum mencapai rumah sakit.

Syok hipovolemik karena perdarahan akan berakibat jaringan mengalami iskemia atau penurunan aliran darah. Semua organ, terkecuali jantung akan mengalami penurunan aliran darah ketika terjadi hipovolemik yang parah (**Gutierrez et al.**, 2004). Pada penelitian ini penilaian atas kondisi syok yang terjadi dikonfirmasi dengan memperhatikan kondisi klinik dan parameter hipoperfusi. Parameter perbaikan hemodinamika pada syok hipovolemik perdarahan dapat lebih baik dengan pemberian LSBT (**Rahardjo**, 1995).

Parameter yang diperiksa pada penelitian ini adalah parameter hipoperfusi, yakni kadar laktat dan *base deficit*. Berbagai studi menunjukkan bahwa hutang oksigen dan laktat tampak berperan penting dalam menyatakan *severity* syok hipovolemik perdarahan. Pada penelitian ini syok hipovolemik perdarahan yang terjadi pada ketiga kelompok mencapai *stress level* yang tinggi. Hal tersebut tampak pada pengukuran kadar laktat. Stres level tinggi menurut **Mizock** dalam **Kellum** 2009 memiliki nilai *Blood Lactate* > 3,0 mN dengan nilai konsumsi oksigen sebesar > 180 ml/min/m². Secara statistik pengukuran kadar laktat pada ketiga kelompok tidak terdapat perbedaan yang bermakna $p = 0,381$.

Parameter lain dalam menilai derajat syok yang dicapai dalam penelitian ini adalah *base deficit*. Menurut **Rixen et al.**, 2005, BD dapat dipakai sebagai prediktor tunggal untuk menilai kuantitas derajat keparahan pada syok hipovolemik perdarahan. Pada penelitian ini hasil data BD kelompok praresusitasi sebesar $6,20 \pm 1,03$, sedangkan pascaresusitasi kelompok RL mendapatkan BD sebesar $6,40 \pm 1,57$ dan kelompok LSBT sebesar $6,60 \pm 1,26$. Hasil uji statistik menggunakan *Multiple Comparison* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan $p = 0,794$ BD dalam ketiga kelompok.

Hasil pemeriksaan laktat dan *base deficit* tersebut untuk menilai apakah ketiga kelompok subjek penelitian pada kondisi syok sama. Randomisasi subjek penelitian menjadi tiga kelompok dilakukan tanpa memperhatikan hasil pemeriksaan beberapa parameter syok tersebut. Dengan perlakuan syok hipovolemik perdarahan yang sama dilanjutkan pemeriksaan parameter biomolekuler pada jaringan paru sesuai kerangka operasional pada penelitian ini. Kelompok praresusitasi diamati jaringan parunya tanpa pemberian cairan resusitasi. Sedangkan kelompok

pascaresusitasi dilakukan pemberian cairan resusitasi. Satu kelompok diresusitasi dengan RL dan satu kelompok lagi dengan LSBT.

Pemilihan RL sebagai pembanding LSBT untuk cairan resusitasi pada penelitian ini karena saat ini cairan yang umum dipakai untuk mengatasi syok hipovolemik perdarahan adalah RL. Pertimbangan dalam menggunakan RL untuk mengatasi hipovolemik antara lain harga yang relatif murah dan mudah didapat. Namun dibutuhkan RL sejumlah dua hingga empat kali dari perkiraan volume perdarahan yang terjadi serta dilaporkan jumlah sel paru yang mengalami apoptosis pada kasus yang diresusitasi dengan RL meningkat tiga kali lipat. Cara yang lebih baru dalam melakukan resusitasi cairan pada syok hipovolemik perdarahan adalah dengan menggunakan cairan hipertonik salin. Salah satu varian dari hipertonik salin adalah LSBT. Mekanisme efek perbaikan klinis yang lebih baik dengan LSBT hendak diamati pada penelitian ini dengan memeriksa beberapa parameter terkait apoptosis pada sel epitel paru.

Pada syok hipovolemik perdarahan terjadi hipoksia dikarenakan kurangnya aliran darah iskemia. Pada kondisi iskemia terjadi gangguan pompa natrium-kalium sehingga kadar natrium dalam sel meningkat. Hal tersebut mengakibatkan sel edema. Gangguan pompa natrium-kalium menyebabkan kadar natrium dalam sel meningkat. Tingginya kadar natrium dalam sel mengakibatkan air masuk dalam sel sehingga sel mengalami pembengkakan (**Sudiana**, 2008). **Flores et al.**, 1972 melaporkan studi elektron mikroskopik pada ginjal tikus yang dibuat iskemia menunjukkan semua elemen selular mengalami pembengkakan dan diameter rongga pembuluh darah menjadi terbatas. Penyempitan diameter rongga dalam pembuluh darah menyebabkan adanya gangguan mikrosirkulasi yang semakin mengurangi pengangkutan oksigen sehingga hipoksia semakin parah.

Rahardjo, 1995 membuktikan bahwa pemberian LSBT membawa perbaikan hemodinamika yang lebih baik. Di samping perbaikan hemodinamik sebagai parameter makrosirkulasi, diharapkan juga terjadi perbaikan mikro sirkulasi. Hal tersebut karena resusitasi syok dengan salin hipertonik akan menormalkan volume sel bahkan menguranginya di bawah normal **Kramer and George**, 2002. **Oliveira et al.**, 2002 melaporkan bahwa ada pengurangan volume endotel hingga 20% pada pemberian infuse salin hipertonik, sehingga penampang dalam kapiler menjadi lebih longgar dan dapat meningkatkan perfusi jaringan. Pada penelitian ini tidak diperiksa parameter perfusi jaringan setelah resusitasi, namun pemeriksaan dilakukan atas dampak perfusi jaringan berupa parameter

yang mengarah pada kematian sel apoptosis. Perfusi yang lebih baik berdampak pada penurunan peluang sel mengalami apoptosis. Penelitian ini memeriksa parameter terkait apoptosis epitel alveoli. Epitel alveoli terdiri dari dua tipe, pneumosit tipe I dan pneumosit tipe II.

Secara keseluruhan apoptosis epitel alveoli pada ketiga kelompok menunjukkan hasil yang berbeda secara bermakna Hotelling's Trace, $p = 0,000$. Kelompok LSBT pada penelitian ini terbukti bahwa apoptosisnya terendah. Peran pneumosit I dan pneumosit II secara fisiologi berbeda, sehingga pemeriksaan dan analisis pada penelitian ini dilakukan secara terpisah. Beberapa parameter yang diperiksa pada penelitian ini adalah apoptosis dari jalur *caspase* maupun *non caspase* serta data yang terkait ROS.

Penelitian oleh **Ayuste et al.**, 2006 tentang syok perdarahan yang dilakukan pada 49 binatang coba, diketahui bahwa jenis cairan yang digunakan untuk resusitasi dapat memengaruhi jumlah sel yang mengalami apoptosis. Dilaporkan bahwa jumlah sel epitel paru yang mengalami apoptosis pada kasus yang diresusitasi dengan RL meningkat tiga kali lipat. Ayuste juga menambahkan bahwa jumlah apoptosis yang diresusitasi dengan RL lebih banyak dibandingkan yang tanpa diresusitasi. Namun, hal tersebut berbeda dengan hasil pada penelitian ini, bahwa jumlah apoptosis kelompok RL lebih sedikit dibandingkan kelompok tanpa diresusitasi. Pada pneumosit tipe I didapatkan RL sebesar $15,30 \pm 2,751$, sedangkan kelompok perdarahan menunjukkan hasil sebesar $23,10 \pm 2,183$. Apoptosis pneumosit tipe II yang diresusitasi dengan RL menunjukkan $14,80 \pm 3,824$. Sedangkan pada kelompok perdarahan sebanyak $27,30 \pm 5,794$.

Penelitian ini membuktikan ada perbedaan antara apoptosis pneumosit tipe I maupun tipe II pada resusitasi dengan LSBT untuk syok hipovolemik perdarahan. Resusitasi dengan LSBT pada syok hipovolemik perdarahan menunjukkan di tingkat sel ini dapat memengaruhi hasil.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil pembahasan maka kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut: Kejadian apoptosis pneumosit pada syok hipovolemik perdarahan yang diresusitasi dengan LSBT jumlahnya lebih rendah dibandingkan yang diresusitasi dengan RL. Dalam hal ini juga dapat disimpulkan bahwa Mekanisme pengaruh pemberian LSBT pada syok hipovolemik perdarahan atas apoptosis pneumosit tipe I dan tipe II adalah mengurangi

cedera iskemia-reperfusi dan menghambat jalur *caspase* maupun jalur *non caspase*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka saran yang dapat diberikan yaitu mengingat LSBT sudah diteliti secara klinik maupun biomolekuler maka penggunaan LSBT dalam lingkup terbatas dapat dilakukan. Salah satunya adalah penggunaan LSBT untuk mengatasi perdarahan persalinan. Upaya menyertakan LSBT sebagai kelengkapan "bidan-kit" perlu diusahakan. Begitu juga Penelitian klinik lanjutan menyertai penggunaan LSBT tersebut agar dapat diteliti aspek klinik lainnya. Aspek-aspek tersebut antara lain keluhan pasien pada saat pemberian, kesulitan teknik pemberian, potensial lonjakan kadar natrium, gangguan hematologi bahkan juga kemanfaatan lain untuk menurunkan tekanan *intra cranial*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayuste EC, Huazen-Chen, Elena K, Peter R, Naresh A, Zhang C, C. Robert Valeri, Konstantinos S, Tina M, Hasan BA**, 2006. Hepatic and Pulmonary Apoptosis After Hemorrhagic Shock in Swine can be Reduced Through Modifications of Conventional Ringer's Solution. *The Journal of Trauma*. 60, 52: 63. Doi: 10.1097/01.ta.0000200156.05397.
- Flores, Jorge, DiBona DR, Beck CH, Leaf A**, 1972. The Role of Cell Swelling in Ischemic Renal Damage and The Protective Effect of Hypertonic Solute. *The Journal of Clinical Investigation*. Vol. 51, 1972. Page 118. Departement of Medicine, Harvard Medical School and The Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts 02114.
- Gutierrez, Guillermo, H. David Reines, Marian EW**, 2004. Clinical Review: Hemorrhagic Shock. Pulmonary and Critical Care Medicine Division, Departement of Medicine, The George Washington University Medical Centre. Doi: 10.1186/cc2851.
- Kauvar, David S, Charles EW**, 2005. *The Epidemiology and Modern Management of Traumatic Hemorrhage: US and International Perspectives*. <http://ccforum.com/supplements/9/S5/S1>. Sitasi Tanggal 7 Oktober 2005.
- Kellum, John A and Paul WG Elbers**, 2009. *Stewart's Textbook of Acid-Base*. United States of America by Lulu.com.
- Kramer, George C**, 2002. Hypertonic Resuscitation: Physiologic Mechanism and Recommendations for Trauma Care. *The Journal of Trauma Injury*,

- Infection and Critical Care. Volume 54. Number 5, Page 589-599. The Department of Anesthesiology, Resuscitation Research Laboratories, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas.
- Kuntoro, H**, 2008. Metode Sampling dan Penentuan Besar Sampel. Pustaka Melati: Surabaya
- Oliveira, Rosaline P, Irineu V, Fransisco GS, Gilberto F**, 2002. Clinical Review: Hypertonic Saline Resuscitation In Sepsis. Page 418: 423. Departement of Critical Care Medicine, Sania Casa Hospital, Federal University of Rio Grande do Su, Porto Alegre, Brazil. <http://ccforum.com/content/6/5/418>. Sitasi Tanggal 5 Oktober 2009
- Rahardjo, Eddy**, 1995. Peran Nacl 5%–Dextran 70–6%–10% dalam Mempertahankan Hemodinamika pada Perdarahan Akut. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Rixen, Dieter**, and **John HS**. 2005. Bench-to-Beside Review: Oxygen Debt and its Metabolic Correlates as Quantifier of Severity of Hemorrhagic and Post-Traumatic Shock. Departement of Trauma/ Orthopedic Surgery, University of Witten/Herdecke at Hospital Merheim, Cologne, Germany. www.ccforum.com/content/9/5/441. Sitasi Tanggal 28 September 2009.
- Sakuma, Tsutomu, Keiji Takahashi, Nobuo O, Osamu K, Thomas RM, Kurt H. Albertine, Michael A. Matthay**, 1999. Ischemia-Reperfusion Lung Injury in Rabbits: Mechanisms of Injury and Protection. Departement of respiratory medicine, Kanazawa Medical University, Uchinada, Ishikawa 920-0293, Japan. www.the-aps.org. Sitasi Tanggal 28 September 2009.
- Santoso, Kohar Hari**, 1998. Perbandingan antara Cairan LSBT dengan Ringer Laktat untuk Mengatasi Hipotensi pada Anestesi Spinal. Karya Akhir untuk Mendapatkan Keterangan Keahlian dalam Ilmu Anestesi. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Sudiana, I Ketut**, 2008. Patologi Molekuler Kanker. Salemba Medika: Jakarta.
- Ware, Lorraine B, Michael A and Matthay**, 2000. The Acute Respiratory Distress Syndrome. The New England Journal of Medicine. 342: 1334–1349.