

Peningkatan Ekspresi L-type Calcium Channel dan Calcium Intraseluler pada Miosit Uterus Kelinci New Zealand (Pasca Persalinan Sesar) setelah Dilakukan Penjahitan Kompresi Metode Surabaya sebagai Model Penanganan Perdarahan Pasca Salin

Singgih Sidarta¹, Agus Sulistyono¹, Widjiati²

¹Departemen Obstetri Ginekologi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr. Soetomo Surabaya

²Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

ABSTRAK

Penjahitan kompresi uterus adalah metode bedah untuk mempertahankan fungsi kesuburan. Di Surabaya metode ini dimodifikasi untuk mengontrol perdarahan postpartum. Prosedur ini adalah proses mekanik dengan kompresi pada sistem vaskular. Namun, proses intraseluler yang terjadi setelah penjahitan kompresi sampai timbulnya kontraksi belum diteliti. Tujuan penelitian ini membuktikan peningkatan ekspresi L-type Ca²⁺ Channel dan Ca²⁺ intraseluler pada miosit uterus kelinci New Zealand (pasca persalinan sesar) setelah dilakukan penjahitan kompresi metode Surabaya. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang. Waktu pelaksanaan penelitian September 2010–Mei 2011. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilakukan dengan cara single blind pada kelinci New Zealand sebagai model penanganan perdarahan pasca salin. Pada kelinci New Zealand bunting aterm dilakukan persalinan sesar, pada kelompok kontrol tidak dilakukan penjahitan kompresi uterus metode Surabaya sedangkan pada kelompok perlakuan dilakukan penjahitan kompresi uterus metode Surabaya. Setelah pengamatan ½ jam dan 2 jam dilakukan reseksi pada uterus kelinci untuk mengukur ekspresi L-type Calcium Channel dan densitas Calcium intraseluler. Peneliti membandingkan ekspresi L-type Calcium Channel dan densitas Calcium intraseluler antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Analisis statistik uji t berpasangan menunjukkan ekspresi L-type Calcium Channel kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol ($p = 0,001$ pada pengamatan ½ jam dan $p = 0,001$ pada pengamatan 2 jam), sedangkan densitas Calcium intraseluler kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol ($p = 0,011$ pada pengamatan ½ jam dan $p = 0,002$ pada pengamatan 2 jam). Kesimpulan, Ekspresi L-type Calcium Channels dan kalsium intraseluler meningkat dalam miosit rahim kelinci New Zealand setelah dilakukan penjahitan kompresi uterus metode Surabaya. (MOG 2012;20:94-101)

Kata kunci: Penjahitan kompresi uterus metode Surabaya, ekspresi L-type Calcium Channel, kalsium intraseluler, perdarahan postpartum

ABSTRACT

Uterine compression suturing (B-lynch) is a surgical method that can maintain function in fertility. In Surabaya this method modified to control Postpartum hemorrhage. This procedure is a mechanical process with compression on the vascular system. However, the intracellular processes that occur after compression suturing until the onset of contraction has not been investigated. The objective of this study was to prove the increasing expression of L-type Ca²⁺ ± Channels and intracellular Ca²⁺ in rabbit uterine myocytes New Zealand (after cesarean delivery) after uterine compression suturing Surabaya's methods. This study was an experimental laboratory study conducted by a single-blind in New Zealand rabbits as a model for treatment of Postpartum hemorrhage. Cesarean delivery was performed to New Zealand pregnant rabbits in at term, in the control group performed no uterine compression suturing Surabaya's methods, while in the treated group performed uterine compression suturing Surabaya's methods. After ½ hour and 2 hours of observation, we performed resection in the rabbit uterus to measure the expression of L-type Calcium Channels and intracellular Calcium density. Researchers compared the expression of L-type Calcium Channels and intracellular density between the control and treated groups. In New Zealand pregnant rabbits at term cesarean delivery performed. The mean expression of L-type Calcium Channels in the control group ½ hour observation 3.50 ± 3.68 (number of cells that excited/100 cells/visual field) and 1.47 ± 1.37 at 2-hour observation. The mean density of intracellular Calcium control group observations ½ hours 1620 ± 703.90 (intensity/ μm^2) and 1614.33 ± 620.41 at 2 hours of observation. The treatment group the mean of L-type Calcium Channel at observation 14.01 ± 8.43 at ½ hours observation and 14.45 ± 10.95 at 2 hours observations. The mean density of intracellular Calcium in the treated group at ½ hour observation 2415 ± 441.71 (intensity/ μm^2) and 2213.33 ± 297.33 at 2-hour observation. In conclusion, the expression of L-type Calcium Channels and intracellular Calcium increase in uterine myocytes of New Zealand rabbits after uterine compression using Surabaya's methods. (MOG 2012;20:94-101).

Keywords: Surabaya's methods compression suturing, L-type Calcium Channel expression, intracellular Calcium, postpartum hemorrhage

Correspondence: Departemen Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, RSUD Dr Soetomo, Surabaya, singgih.sidarta@gmail.com/hansinggih@yahoo.com

PENDAHULUAN

Kasus kematian ibu melahirkan di Indonesia masih tergolong cukup tinggi, pada tahun 2002 berdasarkan Survey Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) didapatkan angka 307 per 100.000 kelahiran hidup dan pada tahun 2010 masih mencapai 228 per 100.000 kelahiran hidup (data diambil dari seminar perempuan mendukung *millenium development goal* di Denpasar bulan April 2010). Angka ini 65 kali angka kematian ibu di Singapura, 9,5 kali angka kematian ibu di Malaysia dan 2,5 kali angka kematian ibu di Philipina. Di seluruh dunia diperkirakan terdapat 529.000 kematian maternal karena proses persalinan, 99% terjadi di negara berkembang.¹ dan lebih dari 125.000 kematian maternal (25–33%) disebabkan karena perdarahan pasca persalinan.^{2,3,4,5}

Perdarahan pasca persalinan merupakan kasus kegawat-daruratan obstetri yang dapat terjadi baik pada persalinan pervaginam maupun persalinan sesar. Perdarahan pasca persalinan merupakan penyebab utama morbiditas maternal dan peringkat pertama penyebab kematian maternal pada negara maju maupun negara berkembang meskipun resiko kematian lebih rendah pada negara maju (1:100.000) dibandingkan negara berkembang (1:1000).⁶

Penyebab utama perdarahan pasca persalinan adalah *atonia uteri* (70%), trauma, kelainan koagulasi dan kelainan penempatan plasenta. *Atonia uteri* merupakan kasus yang paling banyak menyebabkan perdarahan pasca persalinan dan proses hemostasis pada persalinan berhubungan dengan separasi plasenta yang tergantung dari kontraksi miometrium.^{7,6}

Perdarahan setelah melahirkan pada umumnya terjadi pada tempat implantasi plasenta, kontraksi dan retraksi miometrium akan menekan pembuluh darah dan menyebabkan pembuntuan lumen pembuluh darah tersebut untuk menghentikan perdarahan. Pada kon-traksi dan retraksi miometrium yang jelek/tidak adekuat akan terjadi perdarahan masif walaupun faktor pembekuan darah normal tetapi jika terdapat gangguan pada faktor pembekuan darah sedangkan fungsi kontraksi dan retraksi uterus masih baik tidak akan terjadi perdarahan yang masif.⁸

Proses kontraksi miometrium diatur oleh mekanisme reseptor dan aktivasi mekanik (*stretch*) protein kontraktil aktin dan myosin. Ion Ca^{2+} terikat pada calmodulin yang mengaktifasi *myosin light chain kinase* (MLCK) dan menginisiasi proses fosforilasi pada myosin sehingga terjadi interaksi molekuler dengan aktin dan terjadilah kontraksi. Ada 2 faktor yang meningkatkan kadar ion Ca^{2+} : masuk melalui *L-type Ca^{2+} Channel*

dan/atau dilepaskan dari sarcoplasmic reticulum. Hal ini menunjukkan bahwa jalur Ca^{2+} -calmodulin-MLCK sangat penting dalam aktifitas mekanik rahim.^{9,10,11}

Pada masa lampau terapi pembedahan pada perdarahan pasca persalinan meliputi *intrauterine pack*, *thrombogenic uterine pack*, ligasi arteri uterine, ligasi arteri iliaka interna, *step wise devascularization* dan *subtotal* atau *total abdominal* histerektomi. Tindakan tersebut membutuhkan keahlian dan ketrampilan serta membutuhkan waktu yang cukup lama. Prosedur yang lebih konservatif yang dikenal dengan teknik penjahitan Brace diperkenalkan oleh B-Lynch pada tahun 1997. Prosedur ini dipergunakan pertama kali pada bulan Nopember 1989 untuk menangani penderita dengan perdarahan pasca persalinan yang masif dan penderita tersebut menolak untuk dilakukan histerektomi. Teknik ini sangat efektif untuk mengatasi perdarahan pasca persalinan, sangat sederhana, lebih cepat dan lebih mudah jika dibandingkan dengan teknik operasi lain seperti ligasi arteri uterine, ligasi arteri hipogastrika maupun histerektomi, keuntungan yang lain adalah dapat mempertahankan fungsi fertilitas.^{12,2,3,13,14,15,16}

Perdarahan pasca persalinan merupakan kasus yang paling banyak masuk *Intensive Care Unit* dan merupakan penyebab kematian maternal yang dapat dicegah. Kejadian perdarahan pasca persalinan diperkirakan sekitar 1–5% dari total persalinan.^{7,6} Di RSUD Dr. Soetomo, Surabaya selama bulan Juli 2007 sampai dengan Agustus 2008 didapatkan 84 kasus perdarahan pasca persalinan dari 2786 persalinan (3%) dengan *atonia uteri* 24 kasus dan 12 diantaranya dilakukan penjahitan kompresi uterus teknik B-Lynch dan modifikasi Surabaya.¹⁷ Selama tahun 2009 didapatkan 42 kasus perdarahan pasca persalinan dengan penyebab *atonia uteri* 15 kasus dan 2 diantaranya dilakukan penjahitan kompresi uterus teknik B-Lynch. Periode Januari–Juli 2010 didapatkan 34 kasus perdarahan pasca persalinan dengan penyebab *atonia uteri* 14 kasus dan 2 diantaranya dilakukan penjahitan kompresi uterus teknik B-Lynch.

RS Dr. Soetomo mengembangkan teknik B-Lynch modifikasi Surabaya dengan teknik penjahitan yang lebih sederhana, mudah dan cepat. Pada periode Juli 2007 sampai dengan Agustus 2008 telah dilakukan penjahitan kompresi uterus dengan teknik B-Lynch dan teknik penjahitan kompresi uterus metode Surabaya pada 12 kasus perdarahan pasca persalinan yang semuanya merupakan kasus perdarahan pasca persalinan primer, 4 kasus dilakukan teknik B-Lynch dan 8 kasus dilakukan teknik penjahitan kompresi uterus metode Surabaya. Angka keberhasilan teknik penjahitan kompresi uterus metode Surabaya 100% (8 dari 8 kasus perdarahan pasca persalinan berhasil dihentikan per-

darahannya) sedangkan teknik B-Lynch 50% (2 dari 4 kasus perdarahan pasca persalinan gagal dihentikan perdarahannya sehingga diperlukan tindakan histerektomi).¹⁷ Berdasarkan hal-hal tersebut di atas maka peneliti ingin meneliti proses intraseluler yang terjadi pada uterus khususnya terhadap perubahan kadar Ca^{2+} dan *L-type Ca^{2+} Channel* setelah dilakukan teknik penjahitan kompresi uterus metode Surabaya, yang berperan dalam meningkatkan kontraksi uterus.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium (*True Experimental*) yang dilakukan dengan cara *single blind* pada hewan kelinci New Zealand sebagai model penanganan perdarahan pasca salin menggantikan manusia untuk penelitian yang lebih invasif yang selama ini terhalang etis pada pelaksanaannya. Pemilihan sampel dilakukan secara acak (randomisasi). Penelitian dilakukan di Laboratorium in vitro dan Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk pemeriksaan imunohistokimia serta LSIH (Laboratorium Sentral Ilmu Hayati) Universitas Brawijaya Malang untuk pemeriksaan *fluoro 3 double staining* dengan mikroskop *confocal laser scanning*. Penelitian dilakukan pada bulan September 2010–Mei 2011. Pada penelitian ini yang menjadi populasi adalah induk kelinci New Zealand bunting pasca persalinan sesar yang dilakukan penjahitan kompresi uterus metode Surabaya yang diperoleh dari peternakan kelinci Utomo di Batu, Malang. Sampel diambil dari induk kelinci New Zealand bunting dengan usia kehamilan aterm, dengan umur induk kelinci bunting lebih dari 6 bulan dan berat badan kelinci bunting sekitar 2000–3500 gram serta dipelihara dengan cara yang sama. Sampel sejumlah 11 ekor.

Kelinci betina dibuntingkan dengan cara diinjeksi dengan hormon *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG) sebanyak 30 IU. Empat puluh jam kemudian diinjeksi dengan *Human Chorionic Gonadotropin* (HCG) sebanyak 30 IU. Setelah injeksi HCG kelinci betina dikawinkan dengan kelinci jantan secara *mono-mating*. Tujuh belas jam kemudian diperiksa adanya sumbat vagina, jika positif adanya sumbat vagina, kelinci dinyatakan bunting hari pertama. Prosedur pembuntingan ini dilakukan secara bertahap dengan tujuan untuk mempermudah pekerjaan, perlakuan dan pengambilan sampel sehingga diharapkan didapatkan hasil yang akurat. Dilakukan pemeriksaan densitas Ca^{2+} intra-seluler dan ekspresi *L-type Ca^{2+} Channel* pada sampel yang didapatkan (kontrol dan perlakuan) dan dilakukan metode pewarnaan imunohistokimia.

Kemudian dilakukan pemeriksaan *Fluoro 3 double staining* dengan proses hampir sama dengan metode ABC pewarnaan imunohistokimia. Mula-mula dibuat suatu sediaan slide/preparat dari miometrium dalam blok parafin, kemudian dilakukan deparafinisasi dan selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan fluoro 3 dan dilakukan double staining dengan HSP 90 yang merupakan petanda khusus (marker) untuk sitoplasma. Selanjutnya dilakukan pembacaan dengan mikroskop *confocal laser scanning* (tipe FV 1000 merk Olympus) dalam waktu kurang dari 2 jam supaya perpendaran warna/cahaya yang dihasilkan tidak hilang. Warna hijau menunjukkan gambaran total *Calcium* intraseluler akibat pengaruh fluoro 3 sedangkan warna merah hanya menunjukkan gambaran *Calcium* sitoplasma akibat pengaruh HSP 90.

Data penelitian ini dicatat dalam formulir pengumpulan data yang dirancang khusus untuk penelitian ini. Karakteristik subyek penelitian (berat induk kelinci dan berat janin kelinci) digambarkan dalam bentuk statistik deskriptif. Pengukuran ekspresi *L-type Ca^{2+} Channel* akan dilakukan pengamatan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia sedangkan untuk pengamatan densitas *calcium* intraseluler menggunakan *fluoro 3 double staining* dan diamati dengan mikroskop *confocal laser scanning* (tipe FV 1000 merk Olympus). Pengujian ekspresi *L-type Ca^{2+} Channel* dan Ca^{2+} intraseluler menggunakan uji normalitas Kolmogorov Smirnov 1 sampel. Bila berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji t berpasangan, bila tidak berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji beda menggunakan *Wilcoxon signed rank test*. Tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 95% atau $\alpha = 0,05$. Untuk mempermudah penghitungan statistik peneliti menggunakan alat bantu perangkat lunak SPSS. Kelayakan etik didapatkan dari komisi etik untuk penelitian ilmu dasar/klinik di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga (*Animal Care and Use Committee/ACUC*) no: 112-KE.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kontraksi rahim merupakan suatu mekanisme yang terjadi karena suatu perubahan aktivitas elektrik pada sel miometrium. Aktivitas elektrik pada miometrium terjadi karena perbedaan potensial elektrik yang terjadi di antara membran plasma (potensial membran), hal ini disebabkan distribusi ion yang tidak sama di dalam sel dan di luar sel.¹⁸

Stimulasi saraf, stimulasi hormon, regangan/kompresi pada serat otot (stimulasi mekanik) atau perubahan biokimia pada serat otot dapat menyebabkan perubahan potensial aksi. Pada fase puncak depolarisasi potensial

aksi, terjadi pembukaan *L-type Ca²⁺ Channel* pada membran plasma, hal ini akan diikuti oleh masuknya ion Ca^{2+} ke dalam intraseluler karena konsentrasi Ca^{2+} di luar sel lebih besar daripada di dalam sel. Peningkatan Ca^{2+} intraseluler akan menginisiasi rangsangan pada sebagian besar kontraksi otot polos. Pada saat yang bersamaan terikatnya *inositol 1,4,5 triphosphat* (IP3) dengan reseptor pada *sarcoplasmic reticulum* melepaskan Ca^{2+} *transient* ke dalam sitoplasma (penyimpanan intraseluler).^{10, 9,19,18,20}

Ion Ca^{2+} masuk ke dalam sitoplasma melalui 2 jalur yaitu dilepaskan dari penyimpanan intraseluler dari *sarcoplasmic reticulum* karena aksi dari IP3 atau masuk melalui membran plasma dengan terbukanya kanal Ca^{2+} . Pada sel miosit uterus jalur utama pemasukan Ca^{2+} melalui *L-type Ca²⁺ Channel*. Jalur yang sensitif terhadap potensial aksi ini disediakan oleh dihydropyridine reseptor.^{21,20}

Otot polos mempunyai protein yang disebut calmodulin, yang berfungsi seperti troponin pada otot rangka. Pada miometrium, seperti juga pada otot polos yang lain, efek dari peningkatan Ca^{2+} intraseluler dimediasi oleh suatu Ca^{2+} binding protein *Calmodulin* (CAM). Kompleks Ca^{2+} -CAM berikatan dan meningkatkan aktivitas dari *myosin light chain kinase* (MLCK) dengan suatu mekanisme yang menurunkan aliran autoinhibitory region dari kinase tersebut. MLCK memfosforilasi myosin 20 kD *light chain* pada suatu residu serine yang spesifik di dekat terminal N. Fosforilasi myosin berhubungan dengan suatu peningkatan aktivitas aktomyosin ATP-ase dan memfasilitasi interaksi aktin-myosin dengan meningkatkan fleksibilitas pada myosin head. Setiap rantai ringan dari masing-masing myosin head disebut *regulatory chain*. *Regulatory chain* setelah mengalami fosforilasi sebagai respon dari myosin kinase akan mempunyai kemampuan untuk berikatan dengan filamen aktin. Fosforilasi MLC memicu *cross bridge cycling* di sepanjang filamen tipis aktin dan menimbulkan kontraksi.^{10,9,19,18,20}

Kelinci bunting yang dipakai adalah kelinci bunting aterm yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Kebuntingan aterm pada kelinci sesuai dengan usia kehamilan 28–31 hari. Pada penelitian ini untuk mendapatkan sampel kelinci yang homogen dilakukan pemilihan kelinci yang seragam baik usia maupun berat badan kemudian dilakukan proses sinkronisasi birahi dan perkawinan mono mating, hari pertama kebuntingan didiagnosa pada saat ditemukan *copulatory plug* pada vagina kelinci betina yang dikawinkan.^{22,23}

Sebanyak dua puluh satu ekor kelinci bunting diikutsertakan pada penelitian ini, tiga ekor diantaranya dilakukan eksklusi karena tidak memenuhi persyaratan

yaitu sebanyak dua ekor kelinci mempunyai berat badan anak yang kurang dari 25 gram dan satu ekor kelinci yang mengalami kelainan pada kehamilannya (*abdominal pregnancy*—anak kelinci ditemukan telah meninggal dalam kavum abdomen). Sisa delapan belas ekor kelinci bunting aterm yang memenuhi kriteria eksklusi dan inklusi, setelah pengambilan dan pemeriksaan sampel didapatkan sebanyak lima sampel/preparat yang rusak baik selama penyimpanan maupun saat pengecatan sehingga harus dilakukan *drop out* pada keempat kelompok (kontrol dan perlakuan pada pengamatan ½ jam dan 2 jam) yang sesuai dengan nomor dari kelima sampel yang rusak, sehingga total 20 sampel uterus dilakukan *drop out*).

Berat badan anak kelinci pada uterus sebelah kiri rata-rata $34,92 \pm 9,00$ gram sedangkan pada uterus sebelah kanan rata-rata $33,02 \pm 8,43$ gram. Analisa statistik dengan menggunakan uji t berpasangan pada karakteristik kelinci bunting berdasarkan berat badan anak mendapatkan data $p > 0,05$ yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara berat badan anak kelinci pada uterus sebelah kiri dengan sebelah kanan.

Panjang badan anak kelinci pada uterus sebelah kiri rata-rata $8,536 \pm 1,33$ cm sedangkan pada uterus sebelah kanan rata-rata $8,36 \pm 1,35$ cm. Analisa statistik dengan menggunakan uji t berpasangan pada karakteristik kelinci bunting berdasarkan panjang badan anak mendapatkan data $p > 0,05$ yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara panjang badan anak kelinci pada uterus sebelah kanan dengan sebelah kiri.

Pada pengamatan selama ½ jam didapatkan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada kelompok kontrol rata-rata $3,68 \pm 3,50$ dan pada kelompok perlakuan rata-rata $14,01 \pm 8,43$ sedangkan pengamatan selama 2 jam didapatkan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada kelompok kontrol rata-rata $1,47 \pm 1,37$ dan pada kelompok perlakuan rata-rata $14,45 \pm 10,95$. Nilai standar deviasi yang besar menunjukkan adanya variasi yang luas dari sampel yang diukur atau menunjukkan diversitas/heterogenitas dari nilai sampel tersebut sehingga sebelum dilakukan pengujian statistika diperlukan suatu uji normalitas untuk menentukan distribusi data tersebut normal atau tidak. Pada pengujian dengan uji normalitas Kolmogorov Smirnov didapatkan hasil $p > 0,05$ yang berarti data setiap kelompok tersebut berdistribusi normal.

Pada pengujian statistik t berpasangan didapatkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$ (pada pengamatan selama ½ jam didapatkan nilai $p = 0,001$ sedangkan pada pengamatan selama 2 jam didapatkan nilai $p = 0,001$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan ekspresi *L-type Calcium Channel*

pada miosit uterus setelah dilakukan penjahitan kompresi metode Surabaya (sebagai efek mekanis yang menyebabkan aktivitas terbukanya *L-type Calcium Channel*) baik pada pengamatan selama ½ jam maupun 2 jam.

Peningkatan ekspresi setelah dilakukan penjahitan kompresi sesuai dengan hipotesa peneliti yaitu terdapat peningkatan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada miosit uterus setelah dilakukan penjahitan kompresi metode Surabaya. Hal ini sesuai dengan studi kepustakaan bahwa kompresi pada uterus (sebagai efek mekanis selain regangan) akan menyebabkan perubahan pada aktivitas listrik pada miosit uterus. Pada saat itu akan terjadi perubahan potensial membran, yaitu potensial membran semakin negatif sehingga akhirnya terjadi depolarisasi potensial aksi. Proses depolarisasi ini akan menyebabkan *L-type Calcium Channel* terbuka.^{10,19,18}

Pada proses depolarisasi potensial aksi, *gap junction* memegang peranan yang cukup penting. *Gap junction* (Connexin 43) adalah suatu kanal intraseluler yang memfasilitasi komunikasi elektrik dan metabolik antar sel-sel miometrium. Pada kehamilan aterm didapatkan jumlah *gap junction* yang meningkat dan membuat suatu hubungan elektrik yang diperlukan untuk koordinasi sel miometrium sehingga terjadi suatu kontraksi yang efektif. *Gap junction* terdiri dari protein connexin yang mempunyai resistensi elektrik yang rendah sehingga terdapat jalur konduksi potensial aksi yang efisien antar sel. Membran sel-sel otot polos berhubungan melalui *gap junction* sehingga ion-ion dapat mengalir secara bebas dari satu sel otot ke sel otot yang lain. Resistensi elektrik yang rendah menyebabkan potensial aksi yang minimal ataupun aliran ion spontan yang mengalir tanpa potensial aksi dapat mengalir dari satu serat otot ke serat otot yang lain dan menyebabkan serat-serat otot dapat berkontraksi bersama-sama. Hal inilah yang menyebabkan pada penjahitan kompresi uterus akan lebih mudah terjadi depolarisasi potensial aksi yang cukup besar karena komunikasi elektrik antar sel lebih efektif dan sel lebih mudah tereksitasi.^{19,18}

Pada pengamatan selama ½ jam didapatkan densitas *Calcium* intraseluler pada kelompok kontrol rata-rata $1620,89 \pm 703,90$ dan pada kelompok perlakuan rata-rata $2415,39 \pm 441,74$ sedangkan pengamatan selama 2 jam didapatkan densitas *Calcium* intraseluler pada kelompok kontrol rata-rata $1614,33 \pm 620,41$ dan pada kelompok perlakuan rata-rata $2213,33 \pm 297,33$.

Pada pengujian statistik t berpasangan didapatkan perbedaan yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$ (pada pengamatan selama ½ jam didapatkan nilai $p = 0,011$ dan pada pengamatan selama 2 jam didapatkan nilai $p = 0,002$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa terjadi

peningkatan densitas *Calcium* intraseluler pada miosit uterus setelah dilakukan penjahitan kompresi metode Surabaya baik pada pengamatan selama ½ jam maupun 2 jam.

Peningkatan densitas *Calcium* intraseluler setelah dilakukan penjahitan kompresi sesuai dengan hipotesa peneliti yaitu terdapat peningkatan densitas *Calcium* intraseluler pada miosit uterus setelah dilakukan penjahitan kompresi metode Surabaya. Hal ini sesuai dengan studi kepustakaan bahwa kompresi pada uterus akan menyebabkan perubahan pada potensial membran, yaitu potensial membran semakin negatif sehingga akhirnya terjadi depolarisasi potensial aksi. Proses depolarisasi ini akan menyebabkan terbukanya *L-type Calcium Channel*.^{10,19,18}

Konsentrasi *Calcium* di ekstraseluler lebih besar daripada di intraseluler sehingga *L-type Calcium Channel* yang terbuka akan menyebabkan masuknya *Calcium* dari ekstraseluler ke dalam intraseluler (terutama ke dalam sitoplasma). Pada sel otot polos, jalur utama masuknya *Calcium* ke dalam sitoplasma adalah melalui *L-type Calcium Channel*. *Calcium* dalam sitoplasma ini berperan penting dalam suatu proses kontraksi otot polos.^{24,25}

Pada studi kepustakaan lain juga didapatkan bahwa adanya aktivitas mekanik pada uterus (regangan atau kompresi) dapat meningkatkan pembentukan *gap junction*, mengaktifasi jalur transduksi sinyal yang meliputi *tyrosine kinase*, *mitogen activated protein kinase* (MAPK), protein kinase C (PKC), *phospholipase C*, *phospholipase D* dan *inositol 1,4,5-triphosphate* yang akan menyebabkan fosforilasi pada rantai ringan myosin sehingga proses kontraksi lebih mudah terjadi.²⁶

Penelitian oleh Chen dkk juga menyatakan bahwa aktivitas mekanis pada uterus menyebabkan peningkatan ekspresi dari sebuah kaset pengkodean gen *contraction associated proteins* (CAPs) yaitu *oxytocin receptor messenger ribonucleic acid* (OTR mRNA) selama kehamilan. Reseptor ini menyebabkan uterus lebih peka terhadap stimulasi mekanik.²⁷

Penelitian tentang kontraksi uterus yang dilakukan oleh Oldenhof dkk menyebutkan bahwa stimulasi mekanik uterus menyebabkan peningkatan ekspresi *contraction associated proteins* (CAPs), meliputi *gap junction* (Connexin 43), reseptor oksitosin (OTR) dan reseptor prostaglandin F2 (PGF2). Penelitian in vitro kultur sel miosit menunjukkan bahwa stimulasi mekanik pada miosit juga menyebabkan induksi ekspresi c-fos mRNA pada miosit uterus, *phospholipase C*, protein kinase C (PKC), cAMP protein kinase A (PKA), *the Janus kinase signal transducers and activators of transcription* (JAK-

STAT) pathways, phosphatidylinositol 3-kinase, protein G, GTP-ase, reseptor tyrosin kinase dan mitogen activated protein kinase (MAPK). Proses transduksi mekanik ini akan menyebabkan terjadinya proses kontraksi.²⁸

Pada pengamatan selama ½ jam didapatkan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada kelompok kontrol rata-rata $3,68 \pm 3,50$ dan pada pengamatan selama 2 jam didapatkan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada kelompok kontrol rata-rata $1,47 \pm 1,37$. Pada pengujian statistik t berpasangan didapatkan nilai $p < 0,05$ (nilai $p = 0,027$). Hal ini berarti ada perbedaan yang bermakna pada ekspresi *L-type Calcium Channel* pada pengamatan selama ½ jam maupun 2 jam pada kelompok kontrol secara statistik.

Pada pengamatan selama ½ jam didapatkan densitas *Calcium* intraseluler pada kelompok kontrol rata-rata $1620,89 \pm 703,90$ dan pada pengamatan selama 2 jam didapatkan densitas *Calcium* intraseluler pada kelompok kontrol rata-rata $1614,33 \pm 620,41$. Pada pengujian statistik t berpasangan didapatkan nilai $p > 0,05$ (nilai $p = 0,982$). Hal ini berarti tidak ada perbedaan yang bermakna pada densitas *Calcium* intraseluler (sitoplasma) pada pengamatan selama ½ jam maupun 2 jam pada kelompok kontrol secara statistik.

Pada kelompok kontrol dari pengamatan selama ½ jam didapatkan penurunan ekspresi *L-type Calcium Channel* yang bermakna secara statistika setelah pengamatan selama 2 jam hal ini diduga menyebabkan penurunan densitas *Calcium* intraseluler pada pengamatan ½ jam ke pengamatan 2 jam meskipun jika dianalisa secara statistik tidak bermakna.

Pada pengamatan selama ½ jam didapatkan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada kelompok perlakuan rata-rata $14,01 \pm 8,43$ dan pada pengamatan selama 2 jam didapatkan ekspresi *L-type Calcium Channel* pada kelompok perlakuan rata-rata $14,45 \pm 10,95$. Pada pengujian statistik t berpasangan didapatkan nilai $p > 0,05$ (nilai $p = 0,898$). Hal ini berarti tidak ada perbedaan yang bermakna pada ekspresi *L-type Calcium Channel* pada pengamatan selama ½ jam maupun 2 jam pada kelompok perlakuan secara statistik.

Pada pengamatan selama ½ jam didapatkan densitas *Calcium* intraseluler pada kelompok perlakuan rata-rata $2415,39 \pm 441,74$ dan pada pengamatan selama 2 jam didapatkan densitas *Calcium* intraseluler pada kelompok perlakuan rata-rata $2213,33 \pm 297,33$. Pada pengujian statistik t berpasangan didapatkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan nilai $p > 0,05$ (nilai $p = 0,228$). Hal ini berarti tidak ada perbedaan yang bermakna pada densitas *Calcium* intraseluler (sitoplasma) pada

pengamatan selama ½ jam maupun 2 jam pada kelompok perlakuan secara statistik.

Perbedaan nilai densitas *Calcium* intraseluler kelompok perlakuan yang tidak bermakna antara pengamatan selama ½ jam dan 2 jam diduga karena “kadar” *Calcium* yang dibutuhkan untuk terjadinya kontraksi sudah tercapai. Kekurangan pada penelitian ini adalah pengukuran kadar *Calcium* direpresentasikan dengan pengukuran densitas *Calcium* intraseluler dengan satuan intensitas/ μm^2 yang tidak dapat dikonversi menjadi satuan mol/L.

Pada kelompok perlakuan dengan adanya kompresi pada uterus dari pengamatan selama ½ jam tetap didapatkan peningkatan ekspresi *L-type Calcium Channel* setelah pengamatan selama 2 jam meskipun tidak bermakna secara statistika dan didapatkan penurunan densitas *Calcium* intraseluler yang tidak bermakna jika dianalisa secara statistika.

Pengaruh/akibat yang ditimbulkan oleh penjahitan kompresi pada uterus tidak berbeda pada pengamatan selama ½ jam dan 2 jam terhadap ekspresi *L-type Calcium Channel* dan densitas *Calcium* intraseluler. Ada baiknya bila sebelum diputuskan melakukan penjahitan kompresi uterus pada penanganan perdarahan pasca salin dicoba terlebih dahulu dengan kompresi bimanual selama ½ jam.

Shynlova dkk menyebutkan dalam penelitiannya bahwa miosit uterus mempunyai respon secara langsung terhadap aktivitas mekanik melalui peningkatan c-fos mRNA. Akumulasi c-fos mRNA ini terdeteksi setelah 15 menit dari regangan miosit dan mencapai puncak dalam 30 menit (penelitian in vitro dengan kultur sel). Ekspresi c-fos mRNA ini mempunyai korelasi positif dengan *contractions associated proteins* (CAPs). Periode minimal yang dibutuhkan pada stimulasi mekanik untuk mengaktifkan gen c-fos mRNA adalah 30 menit dan mencapai puncaknya setelah 2 jam. Penelitian ini juga menyatakan sel otot polos akan melakukan *maintenance* pada sinyal yang diinisiasi stimulasi mekanik meskipun stimulus dihentikan jika c-fos mRNA sudah terinduksi.²⁹

Penelitian Sooranna dkk menyatakan bahwa aktivitas mekanik pada uterus (tikus, domba dan wallaby) menyebabkan peningkatan mRNA untuk reseptor oksitosin, COX-2 dan connexin 43 serta ekspresi *contraction associated proteins*. Peningkatan COX-2 akan meningkatkan sintesis prostaglandin yang penting untuk proses kontraksi, peningkatan COX-2 ini terjadi setelah 1 jam stimulus pada uterus.³⁰ Hal ini juga menjadi dasar dari penelitian kami untuk menentukan

waktu pengamatan penjahitan kompresi 30 menit dan 120 menit.

KESIMPULAN

Ekspresi *L-type Calcium Channels* dan kalsium intraseluler meningkat dalam miosit rahim kelinci New Zealand setelah dilakukan penjahitan kompresi uterus metode Surabaya

DAFTAR PUSTAKA

- Geller SE, Adams MG. A continuum of care model for postpartum hemorrhage. *Int J fertile*. 2007; 52(2-3): 97–105
- Yasmin S. “B-lynch” brace suture as an alternative to hysterectomy for severe PPH. *Pakistan journal medical*. 2003; 42(3)
- Hamamy EE, Lynch CB. A worldwide review of the uses of the uterine compression suture techniques as alternative to hysterectomy in the management of severe post-partum haemorrhage. *Journal of obstetrics and gynaecology*. 2005; 25(2): 143–149
- Miller S, Lester F. Prevention and treatment of postpartum hemorrhage: new advances for low-resource settings. *Journal of midwifery and women’s health*. 2004; 49: 283–292
- Khadem N, Sharaphy A. Comparing the efficacy of dates and oxytocin in the management of postpartum hemorrhage. *Shiraz–Medical Journal*. 2007; 8(2): 62–71
- Jacobs AJ, Lockwood CJ. Overview of postpartum hemorrhage. Up to date online, 18(2). 2010. Available from: ecapp0504p.uptd.com-222.124.156.242-127D622DFC-5
- Anderson JM, Etches D. Prevention and management of postpartum hemorrhage. *American academy of family physicians*. 2007; 75: 875–882
- Cunningham FG, Leveno KJ. Obstetrical hemorrhage. *William Obstetrics*. The McGraw-Hill Companies Inc. 2005; 35: 619–670, 22nd Ed
- Webb RC. Smooth muscle contraction and relaxation. *The American physiological society*. 2003; 27(4): 201–206
- Maul H, Maner WL. The physiology of uterine contractions. *Clinics in perinatology*. 2003; 30: 665–676
- Wray S. Insight into the uterus. *Experimental physiology*. 2007; 92(4): 621–631
- B-Lynch C. Surgical technique for the control of massive postpartum haemorrhage: an alternative to hysterectomy? Five cases reported. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 104. 1997; pp: 372—375.
- B-Lynch C. Conservative Surgical management. In *A Text Book of Postpartum Hemorrhage* 1st ed. UK: Sapiens. 2006; pp: 287–298.
- Vachhani M and Virkud A. Prophylactic B-Lynch suture during emergency caesarean section in women at high risk of uterine atony: a pilot study. *The internet journal of gynecology and obstetrics*. 2007; 7(1)
- Ghodake VB, Pandit SN. Role of modified B-Lynch suture in modern day management of atonic postpartum haemorrhage. *Bombay hospital journal*. 2008; 50(2): 205–211
- Koh E, Devendra K. B-Lynch suture for the treatment of uterine atony. *Singapore medical journal*. 2009; 50(7): 693–697
- Sulistiyono A, Gultom ES. Manajemen bedah konservatif pada perdarahan pasca persalinan dengan menggunakan metode Surabaya (jahitan kompresi modifikasi B-Lynch). *Majalah Obstetri dan Ginekologi Indonesia*. 2010; 34(3): 108–113
- Garfield RE, Maner WL, 2007. Physiology and electrical activity of uterine contractions. *Semin Cell Dev Biol*, 18(3): 289–295
- Guyton AC, Hall JE. Contraction and excitation of smooth muscle. *Textbook of medical physiology*. Elsevier Saunders Inc. 2006; 8: 92–100, 11th Ed
- Wray S. Insight into the uterus. *Experimental physiology*. 2007; 92(4): 621–631
- Nowycky MC, Thomas PA. Intracellular *Calcium* signaling. *Journal of cell science*. 2002; 115: 3715–7716
- Praag Ev. Reproductive tract of the female rabbit. *Urogenital disease*. 2003. Available from: <http://medirabbit.com>
- Wissman MA. Rabbit Anatomy. 2006. Available from: <http://www.exoticpetvet.net>.
- Nowycky MC, Thomas PA. Intracellular *Calcium* signaling. *Journal of cell science*. 2002; 115: 3715–7716.
- Barrow SL, Sherwood MW. Movement of *Calcium* signals and *Calcium* binding proteins: firewalls, traps and tunnels. *Biochemical society transactions*. 2006; 34(3): 381–384.
- Ou CW dan Orsino A. Expression of Connexin-43 and Connexin-26 in the Rat Myometrium during Pregnancy and Labor Is Differentially Regulated by Mechanical and Hormonal Signals. *Endocrinology*. 1997; 138(12): 5398–5407
- Ou CW dan Chen ZQ. Increased Expression of the Rat Myometrial Oxytocin Receptor Messenger Ribonucleic Acid during Labor Requires Both Mechanical and Hormonal Signals. *Biology of Reproduction*. 1998; 59: 1055–1061
- Oldenhof AD dan Shynlova OP. Mitogen-activated protein kinases mediate stretch-induced. 2002.

28. Shynlova OP and Oldenhof AD. Regulation of c-fos expression by static stretch in rat myometrial smooth muscle cells. American Journal of Obstetrics and Gynecology-Volume 186. 2002; Issue 6: 1-11
29. Sooranna SR dan Lee Y. Mechanical stretch activates type 2 cyclooxygenase via activator protein-1 transcription factor in human myometrial cells. Molecular human reproduction. 2004; 10(2): 109-113