

BAB 4

HASIL PENELITIAN

Seluruh prosedur kerja pada penelitian ini dilakukan bulan Agustus 2008 hingga bulan Juni 2009.

4.1 Pembuatan Homogenat Sampel

Pembuatan homogenat sampel dilakukan di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler pada bulan Agustus 2008. Dari sampel didapatkan homogenat organ jantung dari 25 tikus percobaan yang diuji. Homogenat dinamai kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sesuai dengan perlakuan yang didapat tikus percobaan sebelum pengambilan sampel dilakukan.

4.2 Optimasi Pengukuran

Pengukuran aktivitas spesifik katalase ini menggunakan metode *Mates et al* (1999) yang dioptimasi kembali sehingga pengukuran optimal pada setiap langkah harus ditentukan terlebih dahulu.

4.2.1 Penentuan Absorbansi Pengenceran H₂O₂ yang Optimal

Penentuan absorbansi pengenceran H₂O₂ 30% yang optimal telah dilakukan pada bulan Agustus 2008 di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler. Dari hasil pengukuran tersebut didapatkan kesimpulan bahwa absorbansi H₂O₂ 30% dapat diukur optimal pada pengenceran H₂O₂: PBS = 1:4000.

4.2.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum telah dilakukan pada bulan Agustus 2008 di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler. Dari hasil pengukuran tersebut didapatkan kesimpulan bahwa panjang gelombang terbaik untuk melakukan pengukuran H₂O₂ adalah pada panjang gelombang 210 nm.

4.2.3 Penentuan Kinetik Katalase

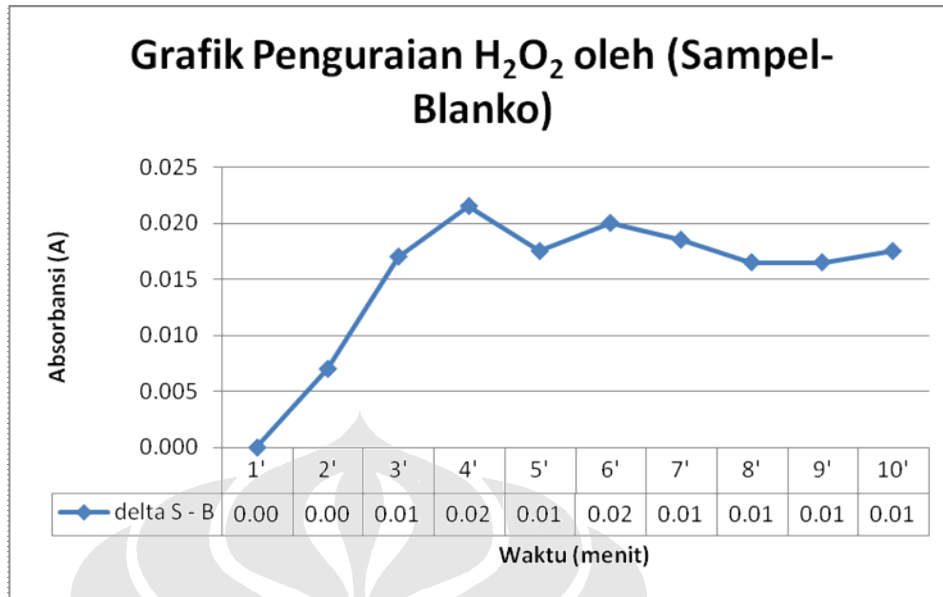
Penentuan kinetik katalase dilakukan pada tanggal 25 Mei 2009 dengan menggunakan sampel kontrol yang diencerkan hingga 1:500. Dari hasil pengukuran tersebut, dihitung selisih waktu terbaik antara t_x dan t_1 . Penguraian terbaik H_2O_2 oleh sampel dicapai pada menit ke-1 hingga menit ke-3, dengan selisih delta absorbansi terbesar yaitu 0.010 Å. Dari penghitungan kecepatan reaksi tiap satuan waktu yang didapat dari perbandingan selisih serapan dengan lama waktu pengukuran sejak menit ke-1 didapatkan kecepatan reaksi terbesar adalah pada menit ke-1 menuju ke menit ke-3, dengan kecepatan 0.0085 Å/menit (gambar 4.2).

Menit ke-1 dijadikan waktu awal (t_0) karena penambahan 50 μ L sampel ke dalam 950 μ L H_2O_2 dilakukan setelah menit ke-0 sehingga pada menit ke-1 absorbansi meningkat karena pengaruh absorbansi sampel. Untuk mengurangi kerancuan selisih serapan akibat penambahan sampel, serapan diukur sejak menit ke-1.

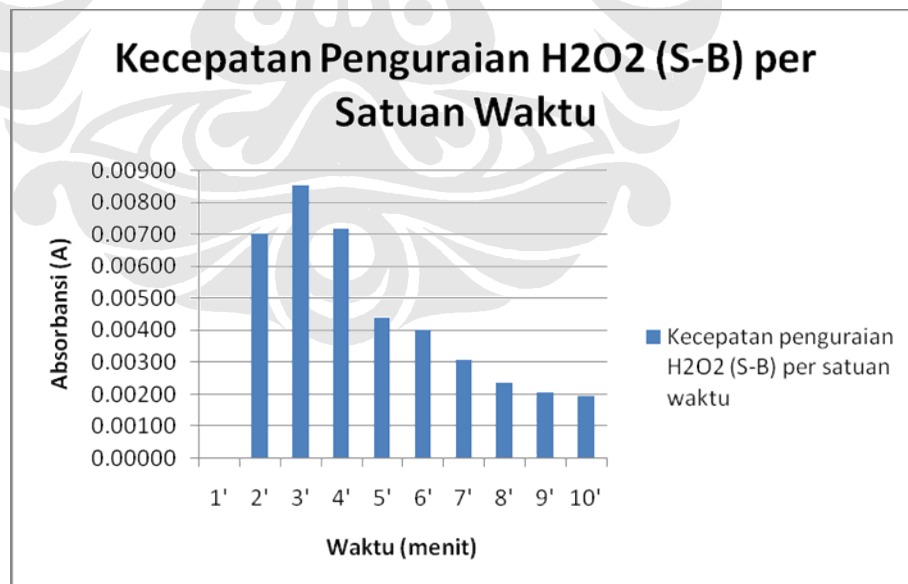
Hasil perhitungan menunjukkan bahwa waktu optimal untuk melakukan pengukuran aktivitas spesifik katalase jantung adalah pada t_1 - t_3 (tabel 4.1 dan gambar 4.1.)

Tabel 4.1. Absorbansi sampel dan kecepatan reaksi per satuan waktu

Waktu	Blanko (Å)		Sampel (Å)				Delta Abs (B) t_1 - t_n	Delta Abs (S) t_1 - t_n	$\Delta S-\Delta B$	Kecepatan reaksi per satuan waktu (Å/menit)
	Rata-rata		Rata-rata		Rata-rata Sampel					
	B1	B2	S1	S2						
1:00	0.378	0.386	0.382	0.391	0.377	0.384	0.000	0.000	0.000	0.00000
2:00	0.376	0.384	0.380	0.383	0.367	0.375	0.002	0.009	0.007	0.00700
3:00	0.378	0.385	0.382	0.370	0.363	0.367	0.001	0.018	0.017	0.00850
4:00	0.376	0.384	0.380	0.363	0.358	0.361	0.002	0.024	0.022	0.00717
5:00	0.367	0.383	0.375	0.361	0.358	0.360	0.007	0.025	0.018	0.00438
6:00	0.379	0.377	0.378	0.361	0.359	0.360	0.004	0.024	0.020	0.00400
7:00	0.379	0.380	0.380	0.361	0.365	0.363	0.003	0.021	0.019	0.00308
8:00	0.377	0.376	0.377	0.364	0.360	0.362	0.006	0.022	0.017	0.00236
9:00	0.376	0.379	0.378	0.365	0.361	0.363	0.005	0.021	0.017	0.00206
10:00	0.374	0.379	0.377	0.362	0.360	0.361	0.006	0.023	0.018	0.00194



Gambar 4.1. Grafik penguraian H₂O₂ oleh (sampel-blanko). Terlihat pada grafik tersebut peningkatan absorbansi paling bermakna (paling curam) adalah pada absorbansi menuju menit ke 3 sehingga kinetik katalase jantung yang digunakan pada pengukuran sampel adalah t₁-t₃.



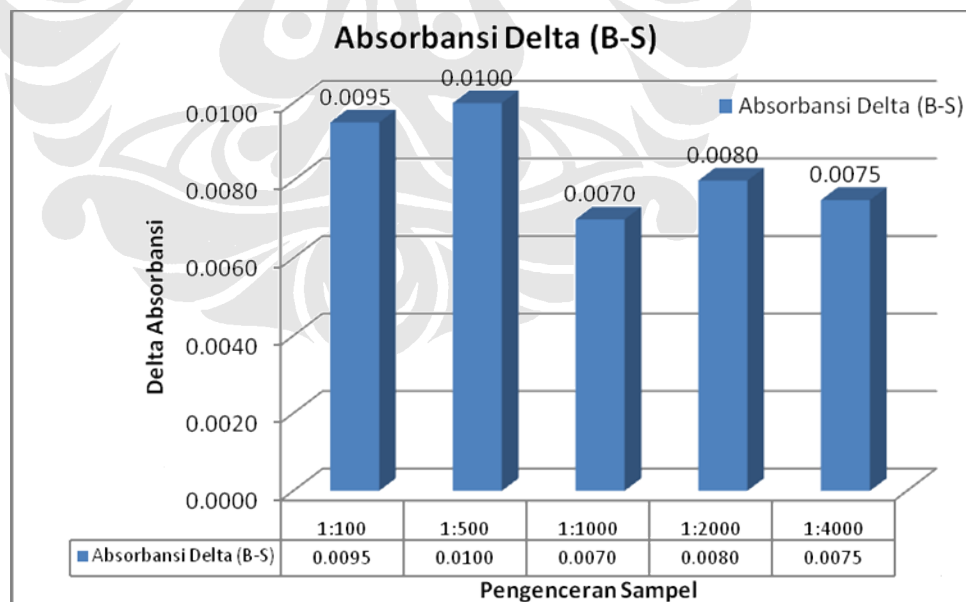
Gambar 4.2. Grafik kecepatan penguraian H₂O₂ (S-B) per satuan waktu.

4.2.4 Penentuan Pengenceran Optimal Sampel Jantung

Pengukuran pengenceran optimal sampel jantung dilakukan pada tanggal 26 Mei 2009. Dari hasil pengukuran tersebut dilakukan perhitungan selisih penguraian oleh sampel dikurangkan dengan selisih penguraian H_2O_2 oleh blanko pada waktu t_3-t_1 . Hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa pengenceran optimal sampel jantung adalah pada pengenceran sampel : PBS = 1 : 500 (tabel 4.2 dan gambar 4.3).

Tabel 4.2. Pengenceran optimal sampel jantung

Pengenceran	Blanko		Sampel		$\Delta B - \Delta S$ (t_3-t_1)
	Rata-rata t_1	Rata-rata t_3	Rata-rata t_1	Rata-rata t_3	
1 : 100	0.376	0.368	0.399	0.401	0.0095
1 : 500	0.376	0.368	0.368	0.369	0.0100
1 : 1000	0.376	0.368	0.374	0.373	0.0070
1 : 2000	0.376	0.368	0.365	0.365	0.0080
1 : 4000	0.376	0.368	0.369	0.369	0.0075



Gambar 4.3. Grafik absorbansi delta (B-S).

Grafik tersebut menunjukkan nilai tertinggi untuk pengenceran optimal sampel jantung adalah pengenceran 1:500.

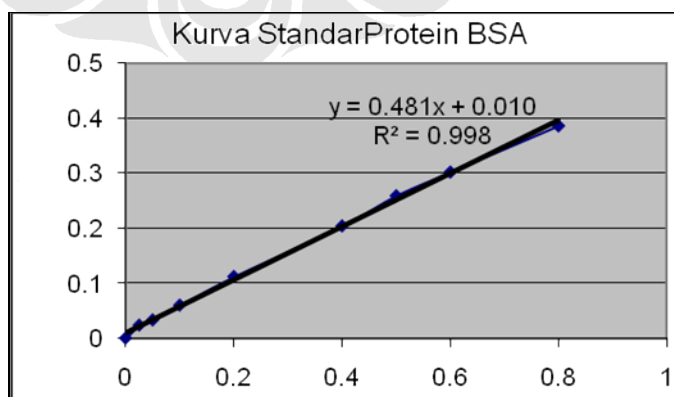
4.3 Penentuan Kadar Protein

4.3.1 Penentuan Kurva Standar Protein

Kurva standar protein dibuat dan dicari nilai R^2 -nya. Nilai R^2 atau koefisien determinasi merupakan angka yang nilainya berkisar dari 0 sampai 1 yang menunjukkan seberapa dekat nilai perkiraan untuk analisis regresi yang mewakili data sebenarnya. Analisis regresi paling dapat dipercaya jika nilai R^2 sama dengan atau mendekati satu. Dari hasil kurva standar protein diperoleh nilai R^2 sebesar 0.998 untuk digunakan dalam perhitungan kadar protein jaringan. Penentuan kurva standar protein (gambar 4.4) ini dilakukan pada tanggal 6 Juni 2009. Hasil pengukuran absorbansi BSA dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Absorbansi BSA berbagai konsentrasi

Konsentrasi (mg/ml)	Absorbansi 280 nm		
	1	2	rata-rata
0	0	0	0
0.025	0.026	0.021	0.0235
0.05	0.033	0.033	0.033
0.1	0.06	0.06	0.06
0.2	0.109	0.115	0.112
0.4	0.2	0.208	0.204
0.5	0.258	0.26	0.259
0.6	0.3	0.304	0.302
0.8	0.382	0.39	0.386



Gambar 4.4. Kurva standar protein

4.3.2 Penentuan Konsentrasi Protein Jantung

Untuk menentukan konsentrasi protein pada jantung, dilakukan pengukuran absorbansi homogenat yang telah diencerkan dengan PBS pada perbandingan 1 :500 pada panjang gelombang 280 nm. Hasil pengukuran dicatat dalam tabel. Konsentrasi protein (mg/mL) jantung kemudian dihitung dengan menggunakan rumus yang didapat dari kurva standar protein. Hasil pengukuran dan penentuan konsentrasi protein jantung (lampiran 2) dilakukan pada tanggal 6 Juni 2009.

4.4 Penentuan Aktivitas Spesifik Katalase Sampel Jantung

Aktivitas enzim dinyatakan dalam satuan U/mL atau nmol per menit per mL. Satu unit berarti jumlah enzim yang mengkatalisis reaksi 1 μ mol substrat per menit. Untuk pengukuran aktivitas katalase sampel, perlu diketahui molaritas larutan H₂O₂. Molaritas H₂O₂ diperoleh melalui perhitungan-perhitungan sebagai berikut:

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 30\%} = 30 \text{ g H}_2\text{O}_2 \text{ dalam 100 mL larutan}$$

$$\text{Berat molekul (BM)} = 34 \text{ g/mol}$$

$$\text{Berat jenis} = 1.11 \text{ g/mL}$$

$$10 \text{ mM} = 10 \text{ mmol/L} = 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume H}_2\text{O}_2 \text{ murni dalam 1 mol larutan H}_2\text{O}_2 \text{ 30\%} &= \frac{34 \text{ g/mol}}{1.11 \text{ g/mL}} \times 30\% \\ &= 9.19 \text{ mL/mol} \end{aligned}$$

Volume H₂O₂ murni dalam larutan H₂O₂ agar molaritasnya 10 mM

$$10 \text{ mM} = 9.19 \text{ mL/mol} \times 10^{-2} \text{ mol/L}$$

$$10 \text{ mmol/L} = 0.092 \text{ mL/L}$$

$$10 \text{ mmol} = 92 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

$$= 92 \text{ }\mu\text{L}$$

$$\text{Larutan H}_2\text{O}_2 \text{ 1:4000} = \frac{1 \text{ mL}}{4000 \text{ mL}} = \frac{1}{4000} = 0.25 \times 10^{-3}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Molaritas larutan H}_2\text{O}_2 \text{ 1:4000} &= \frac{0.00025}{0.092} \times 10 \text{ mM} \\
 &= 2.72 \times 10^{-3} \times 10 \text{ mM} \\
 &= 27.2 \times 10^{-3} \text{ mM} \\
 &= 27.2 \mu\text{M}
 \end{aligned}$$

Diukur absorbansi blanko dengan dipipetkan ke dalam kuvet 950 μL larutan H_2O_2 27.2 μM , kemudian ditambahkan dengan 50 μL pelarut, lalu dilakukan homogenisasi dengan pengocokan manual dan diukur serapannya pada panjang gelombang 210 nm pada menit ke-1 (t_0) dan menit ke-3 (t_1).

Pada pengukuran absorbansi sampel, 50 μL sampel ditambahkan pada 950 μL H_2O_2 27.2 μM , untuk selanjutnya dilakukan prosedur serupa dengan pengukuran blanko. Selanjutnya penguraian H_2O_2 , baik oleh blanko maupun sampel didapat dengan cara mengurangkan absorbansi pada t_1 dengan absorbansi pada t_3 . Selisih penguraian oleh sampel dikurangkan dengan selisih penguraian H_2O_2 oleh blanko ((Δ Absorbansi Uji- Δ Absorbansi Blanko)).

Kemudian dihitung aktivitas katalase dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

Aktivitas katalase (U/mL)

$$= \frac{(\Delta \text{ Absorbansi Uji} - \Delta \text{ Absorbansi Blanko}) / \text{menit}}{(\text{molaritas H}_2\text{O}_2) \times (\text{volume sampel yang diukur})} \times \text{faktor pengenceran}$$

$$= \frac{(\Delta A \text{ Uji} - \Delta A \text{ Blanko}) / \text{menit}}{27.2 \times 0.05} \times 500$$

* 50×10^{-3} didapat dari 50 μL homogenat sampel yang ditambahkan ke dalam 950 μL H_2O_2 27.2 μM hingga tercapai volume 1000 μL untuk pengukuran serapan dengan spektrofotometer.

Hasil-hasil perhitungan di atas digunakan untuk mencari aktivitas spesifik katalase jantung yang diperoleh dari rumus berikut:

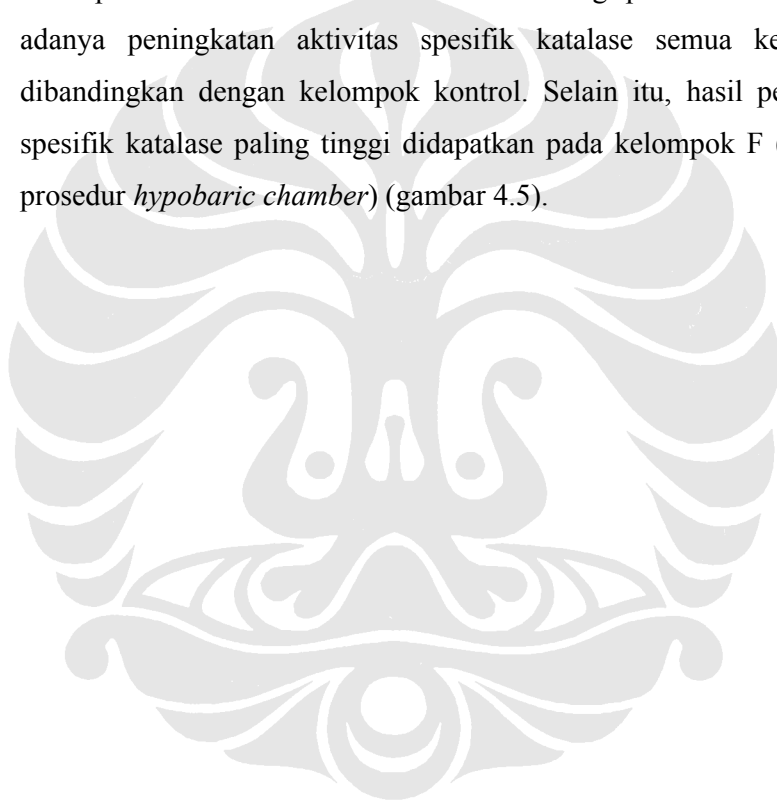
$$\text{Aktivitas spesifik katalase (U/mg)} = \frac{\text{Aktivitas Katalase (U/mL)}}{\text{Kadar Protein dalam Sampel (mg/mL)}}$$

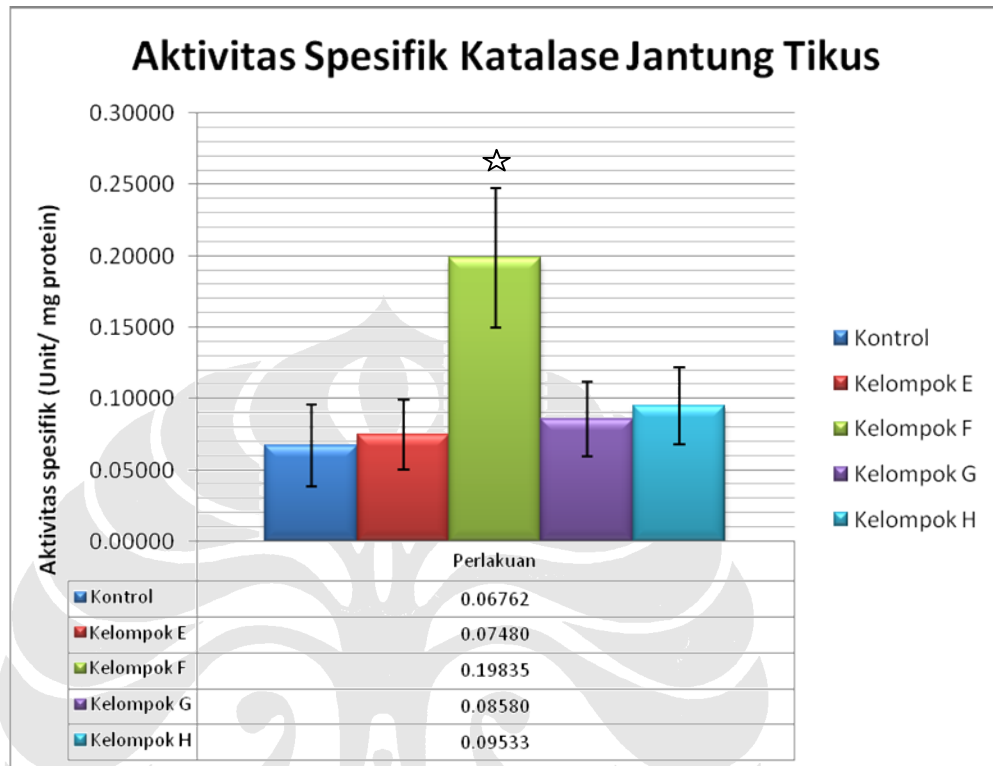
Semua hasil perhitungan di atas dicatat dalam tabel 4.4.

Tabel 4.4. Hasil pengukuran aktivitas spesifik katalase jantung (Unit/ mg protein)

Sampel		Aktivitas spesifik Katalase (Unit/mg protein)
Kontrol	0	0.04042
	0	0.08842
	0	0.10610
	0	0.04421
	0	0.05895
X±SD		0.06762±0.02862
Kelompok E (1x Prosedur)	1	0.03930
	1	0.06275
	1	0.08842
	1	0.10316
	1	0.08038
X±SD		0.07480±0.02463
Kelompok F (2x Prosedur)	2	0.11586
	2	0.23925
	2	0.22105
	2	0.19452
	2	0.22105
X±SD		0.19835±0.04879
Kelompok G (3x Prosedur)	3	0.08842
	3	0.11789
	3	0.05488
	3	0.10268
	3	0.06515
X±SD		0.08580±0.02600
Kelompok H (4x Prosedur)	4	0.07332
	4	0.09263
	4	0.09995
	4	0.13840
	4	0.07234
X±SD		0.09533±0.02691

Pengukuran aktivitas spesifik katalase ini menggunakan sampel total sebanyak dua puluh lima ekor tikus percobaan dimana masing-masing kelompok berjumlah lima ekor tikus percobaan. Data digambarkan sebagai rata-rata \pm standar deviasi. Dari hasil penelitian diperoleh rata-rata aktivitas spesifik katalase sampel jaringan pada kelompok kontrol sebesar 0.06762 ± 0.02862 U/mg protein. Sedangkan rata-rata aktivitas spesifik katalase pada kelompok E sebesar 0.07480 ± 0.02463 U/mg protein, rata-rata pada kelompok F 0.19835 ± 0.04879 U/mg protein, rata-rata kelompok G 0.08580 ± 0.02600 U/mg protein, dan rata-rata kelompok H sebesar 0.09533 ± 0.02691 U/mg protein. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan aktivitas spesifik katalase semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, hasil pengukuran aktivitas spesifik katalase paling tinggi didapatkan pada kelompok F (perlakuan dua kali prosedur *hypobaric chamber*) (gambar 4.5).





Gambar 4.5. Grafik rerata aktivitas spesifik katalase jantung semua kelompok. Grafik tersebut menunjukkan aktivitas spesifik katalase jantung tertinggi pada kelompok F (2x prosedur *hypobaric chamber*). Tanda ☆ menunjukkan kelompok perlakuan yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$).

BAB 5

ANALISIS HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ingin dilihat aktivitas spesifik katalase jaringan jantung tikus dengan menggunakan menggunakan metode spektrofotometri untuk mengukur penguraian H_2O_2 .

Tikus jantan galur Wistar berumur 8 (delapan) minggu dengan berat 150-250 g dibagi ke dalam 2 kelompok, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan mendapat perlakuan mendapat perlakuan hipoksia hipobarik dengan alat simulasi *hypobaric chamber*. Selanjutnya kelompok perlakuan dibagi 4 (empat) kelompok sesuai dengan banyaknya perlakuan hipoksia hipobarik, yaitu kelompok E (terpapar satu kali hipoksia hipobarik, lalu dilakukan pembedahan dan pengambilan organ jantung), kelompok F (terpapar dua kali hipoksia hipobarik, yaitu satu kali seperti kelompok E di atas dan satu kali prosedur hipoksia hipobarik selanjutnya dengan selang waktu 7 (tujuh) hari, kemudian dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ jantung), kelompok G (terpapar tiga kali hipoksia hipobarik, yaitu seperti kelompok F ditambah satu kali prosedur hipoksia hipobarik selanjutnya dengan waktu 7 (tujuh) hari, kemudian dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ jantung), dan kelompok H (terpapar tiga kali hipoksia hipobarik, yaitu seperti kelompok G ditambah satu kali prosedur hipoksia hipobarik selanjutnya dengan waktu 7 (tujuh) hari, kemudian dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ jantung).

Setelah dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ jantung, organ disimpan dalam *dry ice* untuk dibawa ke Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler FKUI untuk disimpan pada lemari pendingin bersuhu $-80^{\circ}C$. Organ jantung tersebut kemudian dijadikan homogenat yang selanjutnya merupakan sampel percobaan untuk mengukur aktivitas spesifik katalase.

Sebelum dilakukan pengukuran aktivitas spesifik katalase, dilakukan optimasi pengukuran terlebih dahulu. Hasil optimasi pengukuran menunjukkan bahwa absorbansi pengenceran H_2O_2 30% yang optimal adalah pada pengenceran 1 :400 ; panjang gelombang terbaik untuk melakukan pengukuran H_2O_2 adalah pada panjang gelombang 210 nm ; kecepatan reaksi tiap satuan waktu didapatkan

kecepatan reaksi terbesar adalah pada menit ke-1 menuju ke menit ke-3; dan pengenceran optimal sampel jantung adalah pada pengenceran 1:500.

Setelah optimasi pengukuran dilakukan, dapat dimulai pengukuran absorbansi aktivitas katalase dalam menguraikan H_2O_2 . Selanjutnya dicari konsentrasi protein sampel jantung berdasarkan kurva standar protein yang telah dibuat dan mencari aktivitas spesifik katalase. Parameter yang diukur dan dihitung dalam penelitian ini adalah aktivitas spesifik katalase jantung tikus.

5.1 Analisis Hasil

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik. Untuk mengetahui apakah kumpulan data pada tiap-tiap kelompok bersifat homogen dan terdistribusi secara normal, maka secara berurutan dilakukan uji homogenitas menurut Levene dan uji kenormalan menurut Saphiro Wilk. Dari hasil uji homogenitas menurut Levene, diketahui bahwa data yang diperoleh yaitu hasil aktivitas spesifik katalase jantung (Unit/ mg protein) tiap kelompok bersifat homogen ($p > 0.05$) (lampiran 3). Dari hasil uji kenormalan menurut Saphiro Wilk diketahui bahwa data yang diperoleh tiap kelompok terdistribusi normal ($p > 0.05$) (lampiran 4).

Data yang diperoleh pada penelitian ini bersifat homogen dan terdistribusi normal sehingga semua syarat untuk melakukan analisis varian (ANOVA) satu arah telah terpenuhi. Uji anova satu arah berguna untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan antar kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna maka dilakukan uji Benferoni. Pada penelitian ini, data diolah menggunakan program SPSS 16.0.

Uji Anova satu arah yang telah dilakukan pada semua kelompok perlakuan pada penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas spesifik katalase jantung yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0.05$) (lampiran 5). Dari uji Benferoni (lampiran 6), diketahui bahwa hanya kelompok yang mendapat perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber* yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol. Selain itu, jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain, hanya kelompok mendapat perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber* yang berbeda bermakna dengan semua kelompok perlakuan percobaan.

5.2 Pembahasan

Pada penelitian ini, didapatkan hasil perbedaan aktivitas spesifik katalase jantung yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0.05$) (lampiran 5). Hanya kelompok yang mendapat perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber* yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol. Selain itu, jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain, hanya kelompok dengan perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber* yang menunjukkan hasil berbeda secara bermakna. Hasil pengukuran aktivitas spesifik katalase paling tinggi didapatkan pada kelompok perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber* yang kemudian menurun kembali pada 3x prosedur dan 4x prosedur.

Pajanan terhadap ketinggian (*High Altitude*) meningkatkan stres oksidatif dalam tubuh terutama pada organ-organ penting seperti jantung dan ginjal yang ditandai dengan meningkatnya peroksida lipid dan kerusakan DNA. Hipoksia yang terjadi di ketinggian dapat meningkatkan kebutuhan metabolik yang dapat memicu produksi radikal bebas termasuk ROS.¹⁷

Adanya peningkatan radikal bebas meningkatkan enzim-enzim antioksidan sebagai *scavenger* radikal bebas tersebut, termasuk peningkatan katalase. Katalase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2).¹⁴ Dieterich et al (2000)⁸ juga mengemukakan adanya peningkatan bermakna ekspresi gen katalase pada jantung akibat iskemik berat yang menimbulkan radikal bebas. Selain itu, penelitian Zhou dan Kang (2000) menunjukkan terjadi peningkatan bermakna katalase yang melindungi jantung dari ROS dan kerusakan jaringan miokardium akibat toksisitas dari doxorubicin.¹⁴

Hasil penelitian ini menggambarkan keadaan stres oksidatif akut yang berulang dimana terjadi peningkatan aktivitas katalase di jaringan jantung tikus dengan puncak aktivitas katalase terjadi pada kelompok perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber*. Hal ini sesuai dengan kepustakaan yang menyatakan adanya peningkatan aktivitas katalase untuk melindungi jantung akibat radikal bebas yang terbentuk akibat stres oksidatif.

Hipoksia intermiten menimbulkan proses adaptasi yang meningkatkan perlindungan jantung dari stres oksidatif. Peningkatan aktivitas katalase pada keadaan hipoksia hipobarik ini memberikan berbagai keuntungan dalam

beberapa hal. Menurut Neubauer (2001), adanya pelatihan hipoksia intermiten telah menunjukkan efek antiaritmia yang bermakna pada *acute myocardial ischemia* pada hewan percobaan sadar dan dapat mencegah aterosklerosis buatan pada kelinci. Perlindungan miokardium tersebut berhubungan dengan akibat hipoksia intermiten dalam meningkatkan vaskularisasi miokardium, aliran pembuluh darah, dan kardiomioglobin, juga dalam meningkatkan ekspresi enzim antioksidan dan protein lainnya.¹⁵

Hasil penelitian ini didapatkan bahwa aktivitas spesifik katalase paling tinggi didapatkan pada kelompok perlakuan 2x prosedur *hypobaric chamber* yang kemudian menurun kembali pada 3x prosedur dan 4x prosedur. Hal ini menunjukkan adanya proses adaptasi terhadap stress oksidatif yang diberikan secara akut berulang pada jantung.

Mekanisme adaptasi yang berbeda pada masing-masing kelompok perlakuan belum diketahui dari kepustakaan maupun dari penelitian-penelitian lain sebelumnya sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut yang dapat membuktikan penyebabnya.

5.3 Aktivitas Spesifik Katalase pada Hati dan Ginjal Tikus yang Diinduksi Hipoksia Hipobarik Akut Berulang

Bersamaan dengan penelitian ini, dilakukan pula penelitian yang mengukur aktivitas katalase pada hati dan ginjal tikus yang diinduksi hipoksia hipobarik akut berulang. Penelitian tersebut juga dilakukan di Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia tahun 2009. Sampel jaringan ginjal dan hati tersebut berasal dari individu tikus yang sama dengan sampel jaringan jantung.

Penelitian tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan secara bermakna aktivitas spesifik katalase semua kelompok perlakuan hipoksia hipobarik akut berulang dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$). Perbedaan reaksi aktivitas spesifik katalase terhadap hipoksia hipobarik pada jaringan hati dibandingkan jantung ini mungkin dikarenakan respon apoptosis jaringan hati terhadap proses inflamasi. Apoptosis merupakan kematian sel terprogram, baik secara fisiologis, adaptif, atau patologik. Pada apoptosis terjadi

pemecahan protein, DNA, atau reaksi fagositik oleh makrofag yang menyebabkan penurunan jumlah sel dan konstituennya, sehingga pada jumlah sel atau kadar suatu zat yang dihasilkan sel tersebut terdeteksi lebih rendah dari jumlah awalnya.¹⁰

Mekanisme lain yang lebih mungkin untuk menjelaskan penurunan aktivitas spesifik katalase ialah autofagi, sistem degradasi intraseluler melalui proses digesti komponen sel oleh lisosom, yang berperan dalam alih (*turnover*) organel-organel sel yang rusak akibat kerusakan sel dan proses *remodelling* pada diferensiasi sel. Terdapat mekanisme degradatif selektif terhadap katalase, khususnya katalase hati, oleh proses autofagia.¹⁰ Hal inilah yang menyebabkan lebih rendahnya aktivitas spesifik katalase hati dibandingkan jantung yang diinduksi hipobarik hipoksia.

Penelitian pada ginjal tikus menunjukkan bahwa terjadi peningkatan secara bermakna aktivitas spesifik katalase semua kelompok perlakuan hipoksia hipobarik akut berulang dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$). Hal ini dapat menggambarkan keadaan stres oksidatif akut yang berulang. Hasil pengukuran aktivitas spesifik katalase paling tinggi didapatkan pada kelompok III (perlakuan tiga kali prosedur *hypobaric chamber*) kemudian sedikit menurun pada kelompok selanjutnya (kelompok IV). Antar kelompok perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan secara bermakna dalam peningkatan aktivitas spesifik katalase ($p > 0.05$).

5.4 Kelebihan dan kekurangan Penelitian

Penelitian mengenai aktivitas spesifik katalase jaringan jantung tikus percobaan pada keadaan hipoksia hipobarik akut secara berulang memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan baik dalam metode maupun dalam pelaksanaannya. Salah satu kelebihan penelitian ini yaitu pemilihan topik aktivitas spesifik katalase jaringan jantung pada keadaan hipoksia hipobarik akut berulang yang belum pernah dilakukan secara eksperimental di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian ini bekerjasama dengan penelitian hipoksia hipobarik serupa di Lakespra Saryanto. Oleh karena itu, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian-penelitian selanjutnya yang

membahas mengenai aktivitas enzim antioksidan lainnya pada keadaan hipoksia hipobarik tersebut.

Penelitian ini menggunakan data primer hasil pengukuran aktivitas spesifik katalase di jaringan jantung tikus percobaan yang dilakukan secara spektrofotometrik. Dalam teknis pelaksanaannya terdapat beberapa kendala yang menjadi kelemahan dalam penelitian ini. Kesalahan yang tidak dapat dihindari, persiapan alat-alat, sulitnya koordinasi dengan peneliti di Lakespra Saryanto serta faktor penggunaan alat spektrofotometri merupakan beberapa kendala teknis yang kerap dijumpai dalam penelitian ini.

