

MEDICINUS

SCIENTIFIC JOURNAL OF PHARMACEUTICAL DEVELOPMENT AND MEDICAL APPLICATION

Operasi Laparoskopi



3 Penggunaan Barrier Adhesi pada Operasi Laparoskopi

13 Penatalaksanaan Mual-Muntah Pasca Bedah (PONV): Peran Granisetron

16 *Proliferation Inhibition by DLBS1425 on Various Cancer Cells*

Eclid

acarbose

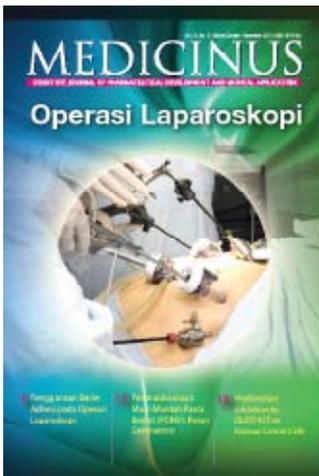


Represents for reducing
postprandial hyperglycemia

contents

MEDICINUS

Chief Editor Dr. Raymond R. Tjandrawinata
Executive Editor Dwi Nofriany, Pharm., Msc.
Editorial Staff dr. Della Manik Worowerdi
Cintakaweni, dr. Lydia Fransisca Hermina
Tiurmauli Tambunan, Liana W Susanto,
M biomed., dr. Lubbi Ilmiawan, dr. Novita
Pangindo Manoppo, dr. Prihatini, Puji
Rahayu, Apt., dr. Ratna Kumalasari, Tri Galih
Arviyani, SKom.
Peer Review Prof. Arini Setiawati, Ph.D,
Jan Sudir Purba, M.D., Ph.D, Prof. Dr. Med.
Puruhito, M.D., F.I.C.S., F.C.T.S, Prof. DR. Dr.
Rianto Setiabudy, SpFK
Editorial Office Titan Center, Lantai 5, Jalan
Boulevard Bintaro B7/B1 No. 05, Bintaro
Jaya Sektor 7, Tangerang 15224, Indonesia,
Tel. +62 21 7454 111, Fax. +62 21 7453111,
Email: medical@dexa-medica.com, Website:
www.dexa-medica.com



Ralat:

Pada artikel berjudul *Pengaruh Suplementasi Besi pada Tuberculosis Paru dengan Anemia Defisiensi Besi*, MEDICINUS Edisi Juni- Agustus 2010, tertulis:
Himawan Sanusi, John MF Adam, Fachrudin Benyamin*
Sub-Bagian Endokrin dan Metabolik, *Sub-Bagian Hematologi, Bagian Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar

- 1 *Content*
- 2 *Perspective*
Leading article
- 3 **Penggunaan Barrier Adhesi pada Operasi Laparoskopi**
- 13 **Penatalaksanaan Mual-Muntah Pasca Bedah (PONV): Peran Granisetron**
Original Article (Research)
- 16 **Proliferasi Inhibition by DLBS1425 on Various Cancer Cells**
- 20 **Analisis Ekspresi Gen Mannose Specific Adhesin yang Berkaitan dengan Adhesi Probiotik di epitel Usus pada Isolat Probiotik Lactobacillus sp. dan Leuconostoc sp. dengan Menggunakan Metode Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction**
Original Article (Case Report)
- 23 **Demam Berdarah Dengue dengan Perubahan Profil Lemak**
- 27 **Anemia pada Gagal Jantung Paradigma Baru dalam Etiologi dan Tatalaksanaannya**
Technology
- 32 **Produksi Nanosuspensi Ibuprofen dengan Menggunakan Metode Homogenisasi Tekanan Tinggi (High Pressure Homogenization-HPH)**
- 43 **Emulsi dan Teori-Teori Terkait**
Medical review
- 46 **Karakteristik Aliran Darah pada Kanker Serviks dengan Menggunakan Doppler Sonografi**
- 54 **Meet the Expert: Prof. dr. Endy Muhardin Moegni, SpOG(K)**
- 56 *Medical News*
- 58 *Tips*

Seharusnya:

Djoko Trihadi Lukmono Subagyo
Bagian Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro,
Semarang

Kepada pihak-pihak yang bersangkutan redaksi menyampaikan permohonan maaf. Terimakasih

Sejarah kedokteran menunjukkan bahwa penggunaan obat berasal dari bahan alam sudah dilakukan sejak jaman dahulu. Berbagai macam bukti telah menjelaskan kenyataan ini. Kita tidak dapat menyangkal bahwa ratusan tahun sebelum ilmu kedokteran alopatik ditemukan, dokter sudah memberikan terapi natural berupa herbal kepada pasien. Ilmu herbal yang pada jaman dahulu diajarkan turun temurun oleh pengobat kepada generasi berikutnya disusun secara sistematis dan dalam suatu sistem kedokteran yang tertata rapi di berbagai budaya. Di beberapa negara Eropa dan Asia, pengobatan herbal bahkan menjadi suatu disiplin ilmu. Di negara Cina, misalnya, pengobatan herbal tercakup dalam *Traditional Chinese Medicine*, di Jepang menjadi *Kampo Medicine*, di India menjadi *Ayurvedic Medicine*. Di banyak negara maju, misalnya di Taiwan, pengobatan oriental menggunakan herbal bahkan dapat diklaim kepada asuransi. Dalam suatu publikasi ilmiah akhir-akhir ini (*BMC Health Services Research* 2008, 8:170), Chang dkk menyimpulkan bahwa penggunaan pengobatan di Cina yang ditanggung oleh asuransi kesehatan nasional naik setiap tahun. Sebagian besar (90%) adalah servis yang diberikan oleh klinik pengobatan dan kebanyakan 70% pengobatan yang digunakan adalah dalam bentuk herbal. Tren pengobatan herbal ini terus naik karena dibayarkan oleh asuransi kesehatan nasional. Di negara-negara baratpun sistem kedokteran berbasis herbal berkembang pada masa-masa itu, misalnya di Inggris, Jerman dan Perancis, herbal dipakai sebagai obat dan sampai sekarang hal ini menjadi bagian dari penatalaksanaan kesehatan formal. Di Jerman, terdapat buku formularium asuransi kesehatan nasional yang kita kenal dengan nama "Rotte Liste" di mana produk herbal termasuk di dalamnya.

Di Indonesia sendiri, tradisi penggunaan jamu sudah dikenal oleh masyarakat luas. Namun, jamu masih merupakan pengobatan berbasis empiris yang diberikan secara turun temurun dari satu generasi ke generasi berikutnya. Secara ilmiah, pembuktian dan uji klinik untuk pengobatan menggunakan jamu susah untuk dilakukan. Hal ini terutama terkait dengan bentuk sediaan jamu itu sendiri, di mana kebanyakan jamu mengandung banyak campuran simplisia herbal yang masing-masing komponen zat aktifnya juga masih sulit dikuantifikasi. Hal demikianlah yang membuat banyak dokter enggan memakai jamu dalam tatanan pengobatan formal. Inisiatif dari Menkes Dr. dr. Endang Rahayu untuk mensaintifikasi jamu tampaknya mulai bergulir di berbagai departemen. Bahkan pemerintah sudah meyiapkan 12 Rumah Sakit untuk menjalankan kebijakan ini. Kita akan melihat hasilnya di kemudian hari. Di dalam peraturan registrasi obat bahan alam di Indonesia oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tertulis bahwa ada tiga tingkatan obat herbal yaitu Jamu, Obat Herbal Terstandar (OHT) dan Fitofarmaka (FF). OHT mempersyaratkan adanya data praklinis (*in vitro/in vivo* pada hewan coba) serta standarisasi komponen suatu sediaan herbal. Fitofarmaka harus memiliki uji klinik acak terkontrol dan tersamar ganda, sehingga baik pengujian maupun pengguna tidak tahu mana obat herbal uji dan plasebo. Tentunya kita mengharapkan kebijakan tata laksana ini meningkatkan citra herbal Indonesia di dalam negeri maupun di luar negeri, melalui tersedianya data-data ilmiah yang bisa dipertanggung-jawabkan.

Indonesia dikenal sebagai negara yang mempunyai biodiversitas kedua terbanyak di seluruh dunia. Sudah selayaknya kita menaruh banyak perhatian pada obat herbal di negara kita sendiri, dan secara nalar seharusnya kita sudah mempunyai banyak OHT dan FF sejak peraturan tersebut dikeluarkan. Namun kenyataan yang terjadi berbeda dengan nalar. Sejak kebijakan itu diberlakukan pada tahun 2005, Indonesia baru mempunyai 5 fitofarmaka dan belum bertambah hingga saat ini. Nampaknya walaupun hampir pada setiap seminar dide-

ngungkan tentang biodiversitas yang maha kaya, banyak perusahaan tidak memakai kesempatan ini untuk memperkaya khasanah OHT dan FF. Mengapa? Karena proses registrasi OHT dan FF tidak mudah. Bukti ilmiah yang berlapis-lapis diperlukan oleh BPOM dengan meminta pendapat dari para ahli farmakologi yang tergabung dalam Komite Nasional untuk memastikan keilmiahannya bukti bahwa produk tersebut layak disebut sebagai OHT ataupun FF. Dengan demikian, wajar bila para dokter dan pelaku kesehatan enggan meresepkan obat herbal sebagai bagian dari pengobatan formal karena bukti ilmiahnya kurang memadai. Obat adalah produk kesehatan yang menyangkut hidup dan kualitas hidup pasien dan penggunaannya. Sudah selayaknya penyedia produk memberikan tanggung jawab ilmiah atas produk yang dipasarkannya, karena produk tersebut terkait erat dengan kesehatan pasien.

Oleh karena itu, terhadap obat herbal harus diberlakukan standar minimal setingkat OHT dengan data pre-klinis. Hal ini sudah memenuhi aturan *evidence-based medicine*; di mana obat harus dilakukan uji secara ilmiah dan mempunyai *power* statistika yang dapat dipertanggung-jawabkan. Derajat obat herbal tersebut akan lebih tinggi apabila sudah dilakukan uji klinik secara acak tersamar berganda. Inilah yang mendasari mengapa obat herbal dipakai secara formal klinis di negara-negara Eropa. Indonesia yang tidak mempunyai sistem kesehatan seperti di Cina di mana *Traditional Chinese Medicine* mempunyai cara diagnosa dan terapi yang terpadu yang memiliki dasar teori-teori yang sah, serta harus menggunakan paradigma farmasi modern dalam mengembangkan obat-obat herbal non-jamu. Dalam hal ini tidak hanya diperlukan kepastian mutu bahan baku simplisia, namun juga standarisasi bahan bioaktif, serta pengetahuan mengenai cara kerja bahan bioaktif tersebut di dalam sel atau jaringan, dan kepastian tentang toksisitas/keamanan obat herbal tersebut setelah diabsorpsi, dimetabolisme dan diekskresikan oleh tubuh. Pengembangan obat herbal tanpa mengikuti kaidah farmakologi modern akan mengkerdilkan potensi bahan alam kita selamanya.

Para dokter masih menunggu OHT dan FF lainnya yang berasal dari herbal asli Indonesia. Hampir semua bahan alam yang digunakan oleh para dokter Indonesia saat ini adalah produk impor. Indonesia memang negara pengimpor, bahkan bahan baku dan obat jadi. Fakta inilah yang mengharuskan kita berpikir dan melihat keluar terlepas dariacamata sendiri bahwa kita memang kurang jeli melihat peluang. Dengan demikian, peningkatan derajat bahan herbal dari jamu sampai obat herbal memang memerlukan investasi yang tidak kecil. Tanpa investasi dan komitmen yang jelas dari penyedia produk, tidak banyak obat herbal baru yang akan dilahirkan. Namun pemikiran strategis secara nasional perlu dilakukan secara lugas dari hulu sampai hilir. Program nasional kemandirian bahan baku obat memerlukan pemikiran besar strategis harus dinyatakan dalam bentuk strategi jangka pendek, menengah dan panjang yang konsisten dan terukur agar cita-cita peningkatan derajat produk herbal serta kemandirian bahan baku dapat dicapai oleh Indonesia. Insentif untuk melakukan riset, serta pemberian motivasi oleh pemerintah akan membantu penciptaan produk-produk baru dari bahan alam. Sebelum semua ini terjadi, Indonesia akan tetap merupakan ajang bagi para pemasar luar negeri untuk memasarkan produknya di negara ini. Sudah selayaknya kekayaan alam Indonesia secara nyata menghasilkan produk bagi kemajuan dunia kedokteran Indonesia; tidak hanya terdengar sangat indah dan mendayudayu di media massa dan seminar-seminar saja.

Raymond R. Tjandrawinata, Ph.D., M.S., M.B.A., Farmakologi Molekular dan *Chief Editor* Jurnal Medicinus

Penggunaan Barrier Adhesi pada Operasi Laparoskopi

Relly Y Primariawan

Konsultan Fertilitas Endokrinologi Reproduksi dan Endoskopi Ginekologi
Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga - RSUD Dr. Soetomo, Surabaya

ABSTRAK

Perlekatan intra-abdomen pada pascaoperasi di daerah abdomen merupakan salah satu komplikasi yang dapat terjadi. Perlekatan ini dapat menimbulkan nyeri, obstruksi usus dan gangguan kesuburan. Status nutrisi, adanya penyakit lain seperti diabetes melitus (DM) dan infeksi, faktor usia, jumlah prosedur operasi laparotomi sebelumnya, tipe dan kompleksitas operasi merupakan hal-hal yang dapat mempengaruhi timbulnya perlekatan pascaoperasi. Usaha untuk mengurangi perlekatan dilakukan dengan penggunaan teknik operasi yang baik termasuk dengan metode laparoskopi dan bahan-bahan kimia/farmakologik yang digunakan baik secara sistemik maupun lokal pada daerah operasi yang dilakukan.

Penggunaan 'barier adhesi' sebagai adjuvan yang diberikan secara lokal telah banyak dilakukan untuk pencegahan perlekatan pascaoperasi. 'Barier' ini digunakan sebagai separasi mekanik permukaan peritoneum dengan organ pelvis selama hari-hari pertama proses penyembuhan luka pascaoperasi. Ada beberapa macam bentuk 'barier adhesi', secara garis besar 'barier' ini diinstalasikan ke rongga peritoneum dapat dalam bentuk cair maupun padat. Saat ini di Indonesia 'barier adhesi' yang beredar ada yang berbentuk cair berupa kombinasi 'hyaluronic acid' dan 'carboxymethylcellulose' (Guardix®) dan yang berbentuk padat berupa 'oxidized regenerated cellulose' (Interceed®). Masing-masing bentuk barier tersebut mempunyai keuntungan dan kerugian.

Kesimpulan: Dengan menggunakan teknik pembedahan yang baik dan penggunaan bahan-bahan pencegahan perlekatan yang aman dan efektif pada saat pembedahan akan mengurangi risiko terjadinya perlekatan pascaoperasi.

Kata kunci: perlekatan, laparoskopi, 'adhesion barrier'

Postoperative intra-abdominal adhesions in the abdominal area is one of the complications that can occur. Intra-abdominal adhesion formation can cause pain, ileus obstruction and subfertility. The influence factors for adhesion formation are; nutritional state, other diseases i.e. diabetes mellitus and infection, age, number of previous laparotomies, type and complexity of operation. Adhesion prevention could be approached by good operation techniques, including laparoscopy methods, chemical and pharmacological material which is used in systemic or local operation fields. Using adhesion barriers as adjuvant locally have served to avoid adhesion formation after operations. These barriers are used to separate the peritoneal surface from pelvic organs mechanically during the first days of the healing process of postoperative procedures. Generally adhesion barriers have two types i.e. solution and solid/membrane adhesion barriers as both of them could be installed into the cavum peritoneal. There are only two kinds of adhesion barriers found on the Indonesian market, i.e. a solution type that is a combination of hyaluronic acid and carboxymethylcellulose (Guardix®) and a solid/membrane type that is oxidized regenerated cellulose (Interceed®). Each barrier has its own respective strengths and weaknesses.

Conclusion: Good operative technique and use of safe and effective adhesion barriers during surgery will reduce the risk of adhesion formation afterwards.

Key word: adhesion formation, laparoscopy, adhesion barrier

PENDAHULUAN

Salah satu komplikasi yang dapat terjadi pada operasi di daerah abdomen adalah timbulnya perlekatan intraabdomen pascaoperasi. Adanya perlekatan ini dapat menimbulkan nyeri, obstruksi usus dan bahkan dapat terjadi gangguan kesuburan/subfertil jika perlekatan tersebut melibatkan perlekatan di adneksa parametrium. Usaha-usaha untuk menurunkan kejadian timbulnya perlekatan ini telah banyak dilakukan baik mengenai teknik-teknik pembedahannya sendiri maupun penggunaan bahan-bahan tertentu untuk mencegah perlekatan.

Kejadian perlekatan pascaoperasi terbuka

(laparotomi) ginekologi sekitar 60-90% pada wanita yang menjalani prosedur operasi ginekologi mayor.¹⁻³ Pada penelitian lain, Lower dkk (2000) di Scotland mendapatkan bahwa wanita yang awalnya menjalani operasi laparotomi ginekologi 5% diantaranya akan menjalani perawatan ulang di rumah sakit (*rehospitalization*) karena perlekatan dalam 10 tahun kemudian. Secara total kasus pembedahan maka perlekatan memberikan kontribusi sekitar 20% pasien yang mengalami perawatan ulang di rumah sakit. Jika hal ini terjadi akan menurunkan kualitas hidup pasien, menambah prosedur pembedahan yang lebih kompleks dan meningkatkan biaya perawatan di Rumah Sakit (RS) bagi

pasien.⁴

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi timbulnya perlekatan pascaoperasi yaitu status nutrisi, status penyakit lain seperti diabetes melitus dan adanya proses infeksi yang sedang berlangsung di mana menghambat fungsi leukosit dan fibroblas sehingga berpotensi meningkatkan terbentuknya perlekatan.^{3,5} Faktor usia, jumlah prosedur operasi laparotomi sebelumnya dan tipe serta kompleksitas operasi yang dilakukan juga mempengaruhi peningkatan kejadian perlekatan pascaoperasi.⁶

LAPAROTOMI VERSUS LAPAROSKOPI

Sejak diperkenalkan pertama kali pada tahun 1986 sebagai salah satu prosedur pembedahan ginekologi, laparoskopi dianggap sebagai prosedur pembedahan yang dapat mengurangi perlekatan pascaoperasi⁷⁻¹² dan komplikasi operasi lainnya dibandingkan dengan operasi tradisional lainnya.¹³

Pada tabel 1 menunjukkan perbandingan terjadinya perlekatan antara laparoskopi dengan laparotomi. Sebagian besar peneliti menyimpulkan bahwa prosedur laparoskopi dapat menurunkan angka kejadian perlekatan dibandingkan laparotomi.¹⁴⁻²¹

Berdasarkan tabel tersebut, penelitian epide-

pokan sebagai “low risk” (1 dari 500 kasus) yang secara langsung menyebabkan perawatan ulang di Rumah Sakit (RS) karena perlekatan dalam setahun pascaoperasi. Sedangkan kelompok prosedur laparoskopi “high risk” (laparoskopi adhesiolisis dan “drainage” cairan kista) dan “medium risk” (tindakan intervensi lainnya selain kelompok-kelompok di atas) didapatkan data bahwa risiko terjadinya perawatan ulang di RS karena perlekatan menunjukkan masing-masing 1 dari 80; dan 1 dari 70 kasus dan hal ini lebih tinggi angkanya dibandingkan operasi konvensional (1 dari 170 kasus).²³

Dengan demikian, hal ini menunjukkan bahwa dalam tindakan laparoskopi masih ada kemungkinan terjadinya perlekatan pascaoperasi, untuk itulah masih pada tempatnya diperlukan usaha-usaha lain untuk pencegahan perlekatan pascaproedur laparoskopi.

STRATEGI PENCEGAHAN PERLEKATAN PASCAOPERASI

Ada beberapa macam usaha untuk mengurangi timbulnya perlekatan pascaoperasi yaitu penggunaan teknik operasi yang baik dan bahan-bahan kimia/farmakologik yang digunakan baik secara sistemik maupun lokal pada lapang operasi yang

Tabel 1. Perbandingan terjadinya perlekatan antara laparoskopi dengan laparotomi²²

| Author | Year | Subjects (n) | Type of intervention | Results |
|------------------|------|---------------|--|--------------------------------|
| Filmar et al. | 1987 | Rat (61) | Uterine injury | = |
| Luciano et al. | 1989 | Rabbit (20) | Standardized laser uterine + peritoneal injury | Ovarian conservative surgery = |
| Marana et al. | 1994 | Rabbit (28) | Ovarian conservative surgery | I |
| Chen et al. | 1998 | Pig (50) | Pelvic and paraaortic lymphadenectomy | I |
| Lundorff et al. | 1991 | Human (73) | Surgery for tubal pregnancy | I |
| Bullet ti et al. | 1996 | Human (32) | Myomectomy | I |
| Milingos et al. | 2000 | Human (21) | Periadnexal adhesiolysis for infertility | L |
| Mettler | 2003 | Human (465) | Myomectomy | I |
| Lower et al. | 2004 | Human (24064) | Different gynaecological surgical procedures divided into: Low-risk (Fallopian tube sterilization) Medium-risk (therapeutic and diagnostic procedures not otherwise categorized) High-risk (adhesiolysis and cyst drainage) | I L/= L |

I, less adhesions in laparoscopic group; L, less adhesions in laparotomy group; =, same adhesions in both laparotomy and laparoscopy groups.

miologi yang dilakukan oleh Lower dkk (2004) pada 24.046 pasien yang menjalani operasi ginekologi baik laparoskopi maupun laparotomi didapatkan hasil yang bertolak belakang dengan peneliti-peneliti lain sebelumnya. Dari data tersebut, laparoskopi lebih sedikit menimbulkan perlekatan dibandingkan laparotomi pada kasus-kasus yang dilakukan laparoskopi sterilisasi saja yang dikelom-

lakukan.

Konsep tradisional, teknik operasi yang baik sangat diperlukan untuk pencegahan perlekatan pascaoperasi. Prinsip dasar pembedahan untuk pencegahan perlekatan yaitu penanganan jaringan (*tissue handling*) yang baik dengan melakukan trauma jaringan seminimal mungkin dengan hemostasis yang cermat dan tepat, meminimalkan iskemia

dan desikasi (*desiccation*) jaringan dan pencegahan infeksi serta tanpa meninggalkan benda asing (*foreign body*) pada jaringan/lapangan operasi.

Teknik operasi (*surgical technique*) dengan laparoskopi lebih menguntungkan dalam hal mengurangi timbulnya perlekatan pascaoperasi dibandingkan dengan laparotomi. Hal ini karena dengan laparoskopi, pertama tidak menyebabkan kerusakan peritoneum yang luas. Menghindari irisan pada jaringan yang mempunyai vaskularisasi yang banyak dan meminimalisasi trauma jaringan adalah dua prinsip untuk menghindari timbulnya perlekatan. Kedua, dengan laparoskopi terhindar dari kontaminasi udara luar atau partikel asing sehingga reaksi inflamasi dan atau kontaminasi bakteri pada peritoneum dapat dihindari. Oleh karena itu laparoskopi lebih menguntungkan dibandingkan laparotomi.

Pemakaian obat-obatan farmakologik sebagai adjuvan juga telah banyak dilakukan untuk usaha-usaha pencegahan perlekatan pascaoperasi. Obat-obatan tersebut diantaranya golongan antiinflamasi steroid dan nonsteroid, antihistamin, progestagen, agonis GnRH, fibrinolitik dan antikoagulan telah banyak dilakukan penelitian untuk pencegahan perlekatan pada operasi laparotomi namun hingga sekarang belum jelas keuntungan pemakaian obat-obatan tersebut.²²

"Barrier" adhesi digunakan sebagai separasi mekanik permukaan peritoneum dengan organ pelvis selama hari-hari pertama proses penyembuhan luka pascaoperasi sebagai cara untuk pencegahan perlekatan pascaoperasi. Proses separasi mekanik ini dapat dilakukan dengan menginstilasi "barrier" berbentuk cair ke intraabdomen atau yang berbentuk padat.

Selain itu ada usaha-usaha lain untuk pencegahan perlekatan yaitu melakukan irigasi dengan menggunakan cairan kristaloid, *dextran* (merupakan cairan yang punya berat molekul yang tinggi), heparin dan penggunaan obat-obatan antiinflamasi (NSAID). Penggunaan cairan kristaloid dikenal juga sebagai metode "*hydrofloatation*" dengan cara meninggalkan cairan kristaloid pada kavum pelvis di akhir tindakan operasi hal ini menimbulkan efek terapung (*floating effect*) di antara jaringan di kavum pelvis sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya perlekatan. Namun penelitian meta-analisa terhadap penggunaan metode ini tidak memberikan hasil yang memuaskan. Hasil studi meta-analisa pada 259 laporan penelitian (1966-1996) menunjukkan hasil bahwa penggunaan cairan kristaloid tidak mengurangi terbentuknya perlekatan pasca operasi.²⁴ Peneliti lain melakukan cara dengan penambahan heparin ke dalam cairan kristaloid di

mana konsep dasar cara ini adalah heparin mencegah terjadinya deposisi bekuan darah dan fibrin. Namun sayangnya pada penelitian uji klinik secara acak (RCT) yang besar menunjukkan hasil bahwa penggunaan metode ini tidak menguntungkan dalam pencegahan perlekatan.²⁵

Penggunaan cairan *dextran*, dengan berat molekul tinggi, digunakan juga sebagai salah satu cairan dalam metode "*hydrofloatation*" karena cairan ini mempunyai waktu paruh yang lebih lama dibandingkan cairan kristaloid. Namun yang menjadi perhatian utama adalah jika penggunaan cairan ini terlalu berlebihan karena viskositasnya yang tinggi dan waktu paruh yang relatif lama di dalam kavum peritoneum maka hal ini dapat mengakibatkan gangguan sistem kardiovaskular pada pasien. Hasil penelitian uji klinik prospektif menunjukkan efektifitas pemakaian *dextran* ini masih kontroversi.

Adept® merupakan cairan pencegah perlekatan yang diproduksi oleh Innovata plc, Surrey, UK. Adept® merupakan cairan yg mengandung 4% *icodextrin* yang terbuat dari polimer glukosa α (1-4) yang digunakan dengan metode "*hydrofloatation*". Meskipun efektifitas penggunaan bahan ini masih terbatas, namun beberapa bukti penelitian sedikit lebih baik dibandingkan penggunaan cairan *ringer's lactat* dalam pencegahan penelitian. Efek samping yang dapat ditimbulkan pada Adept® ini yaitu adanya oedema berlebihan pada labia, vulva, dan vagina.

BARIER ADHESI ATAU MEKANIS PADA PENCEGAHAN PERLEKATAN

Suatu "barrier adhesi" yang ideal adalah dapat memisahkan jaringan secara efektif, mempunyai waktu paruh yang lama sehingga tetap aktif dalam 7 hari periode penyembuhan luka peritoneum, diabsorpsi dan dimetabolise tanpa menimbulkan respons proinflamasi jaringan, tetap aktif dan efektif meskipun ada perdarahan, tidak mengganggu proses penyembuhan luka dan yang terakhir tidak merangsang pertumbuhan bakteri.²⁶

Ada beberapa "barrier adhesi" yang dikenal dan telah ada di pasar komersial yaitu;

- **'Barrier' berbasis *dextran*, Hyskon®**

Dextran adalah suatu polisakarida yang awalnya digunakan sebagai cairan pengganti darah (*blood expander*). Hyskon® merupakan suatu cairan *dextran* 32% (70.000 BM). Cairan ini melindungi dan memisahkan membran serosa dengan jaringan yang mengalami cedera melalui mekanisme mengapung (*hydrofloatation*). Hyskon® ini mudah diaplikasikan, diserap dalam 5-7 hari dan memiliki efek antikoagulan.

Efek samping yang terjadi berupa nyeri abdomen, reaksi alergi, infeksi, kegagalan hemostasis, edema dan gangguan keseimbangan cairan karena osmolaritasnya tinggi. Hyskon[®] ini cepat ditransportasikan ke luar rongga peritoneum dan *dextran* lambat dimetabolise oleh tubuh.

Penelitian pencegahan perlekatan pascaoperasi yang menggunakan cairan *dextran* menghasilkan kontroversi. Sejumlah penelitian preklinik dan percobaan klinik yang menggunakan *dextran* untuk pencegahan perlekatan telah memberikan hasil yang berbeda-beda. Pada umumnya cairan *dextran* tidak banyak digunakan dalam pencegahan perlekatan karena efek sampingnya dan efisiensi penggunaannya tidak dapat disimpulkan berdasarkan penelitian-penelitian yang ada.²⁷

- **Barier berbasis CMC (Carboxymethylcellulose)**

Sodium CMC merupakan polisakarida dengan berat molekul (BM) yang tinggi, larut dalam air, biokompatibel dan nonimunogenik. CMC ini digunakan sebagai pencegahan perlekatan dalam bentuk cairan, lembaran lipofilik atau kombinasi dengan bahan-bahan lain membentuk selaput 'barier' (*barrier membranes*). CMC tersedia dalam berbagai macam berat molekul dan diformulasikan dalam campuran cairan dengan rentang viskositas tertentu. Cairan ini berfungsi sebagai pelumasan sehingga terjadi 'hydrofloatation'. Cairan CMC ini mudah ditransportasikan keluar rongga peritoneal sehingga secara *in vivo* waktu bertahan di rongga tersebut pendek.

Barrier membranes berbasis CMC telah dikembangkan untuk mengatasi kerugian-kerugian yang ditimbulkan pada bentuk yang cair. CMC berbentuk busa (*sponge*) telah dikembangkan oleh Ryan dan Sax, ternyata efektif untuk mengurangi perlekatan pada percobaan menggunakan tikus namun masih perlu penelitian lebih lanjut.

Oxiplex[®] merupakan suatu gel yang terdiri dari polietilen glikol (PEG), CMC dan CaCl₂. CMC dan PEG dapat dikombinasikan dan distabilisasi oleh CaCl₂ membentuk gel yang biokompatibel, nonimunogenik dan dapat diserap tubuh sehingga memisahkan lapisan-lapisan jaringan yang mengalami trauma. Oxiplex[®] ini telah mendapatkan legalisasi dari FDA untuk pembedahan spinal.

Oxidized regenerated cellulose, Interceed[®]. Bahan ini salah satu *barrier membranes* yang paling banyak diteliti. Interceed[®] ini terbuat dari *oxidized regenerated cellulose* dan membentuk suatu massa gelatin yang menutup dan

memisahkan permukaan yang luka dengan jaringan sekitarnya. Bahan ini telah mendapatkan legalisasi dari FDA, memiliki sifat biokompatibel, nonimunogenik, diserap (dalam waktu 28 hari), lambat dihancurkan, mudah diaplikasikan dan memiliki antibakteri. Namun bahan ini tidak efektif jika daerah yang akan dilindungi masih terdapat darah.

Icodextrin 4%, ADEPT[®]. *Icodextrin* adalah suatu polimer α-1,4-glukosa yang dihasilkan dari hidrolisis tepung jagung (kanji) dan digunakan sebagai cairan 4% dalam pencegahan perlekatan. Bahan ini telah mendapatkan legalisasi dari FDA untuk pencegahan perlekatan, mudah diserap (pada umumnya bertahan 3-5 hari di dalam rongga peritoneum) dan dimetabolisme oleh enzim amilase menjadi oligosakarida.

- **Barier berbasis hyaluronic acid**

Hyaluronic acid (HA) merupakan suatu polisakarida linier dengan pengulangan unit disakarida yang terdiri dari *D-glucuronic acid* dan *N-acetyl-D-glucosamine*. Secara alamiah glikosaminoglikan ini merupakan suatu komponen kulit, cairan sendi dan jaringan ikat interstisial. Bahan ini mempunyai peranan dalam perlindungan dan pelumasan sel dan mempertahankan integritas struktur jaringan.

HA digunakan dalam berbagai macam bentuk desain material untuk pencegahan perlekatan, seperti dalam suatu bentuk cairan yang encerkan (Incert[®] atau Sepracoat[®]), *cross-linked hydrogel* (Intergel[®]) atau kombinasi dengan CMC dalam bentuk lembaran (Seprafilm[®]).

Incert[®]/Sepracoat[®] adalah suatu cairan yang mengandung 0,4% HA. Cairan ini mempunyai waktu bertahan di rongga peritoneum hanya 24 jam dan tidak efektif mengurangi perlekatan pada jaringan yang terluka. Incert[®] saat ini tidak digunakan lagi untuk pencegahan perlekatan, tidak mendapatkan legalisasi dari FDA di AS dan telah ditarik dari pasaran di Eropa.

Seprafilm[®] (HA+CMC) merupakan bahan yang mengandung HA dan CMC dalam bentuk membran. Saat ini telah mendapatkan legalisasi dari FDA dan paling banyak digunakan untuk pencegahan perlekatan. Bahan ini mempunyai sifat biokompatibel, nonimunogenik, melekat pada permukaan jaringan. Perlindungan permukaan jaringan terjadi melalui pembentukan gel gelatin yang kental dan terabsorpsi seluruhnya dalam 28 hari.

Guardix-so[®] (HA+CMC) merupakan bahan yang mengandung HA dan CMC dalam bentuk cair. Bahan ini mempunyai biokompatibilitas, nonimunogenik, dapat diserap dan mudah diapli-

kasikan.

Intergel® (Fe/HA) dibentuk dengan cara ikatan silang ion cairan HA dengan ferri klorida untuk membentuk suatu gel. Pasien-pasien yang diberikan Intergel ini mengalami morbiditas yang cukup serius sehingga penelitian lanjutan dihentikan. Intergel ini sudah tidak tersedia di pasaran komersial untuk penggunaan pencegahan perlekatan pascaoperasi.

Hyaloglide® merupakan turunan dari *hyluronan*. Bahan ini suatu gel dengan viskositas yang tinggi dibentuk oleh ikatan silang otomatis dari grup fungsional hyaluronan. Material ini memiliki biokompatibilitas, dapat diserap dan mudah diaplikasikan. Hyaloglide® ini efektif mengurangi pembentukan perlekatan baik pada penelitian preklinik maupun klinik.

- **'Barrier' Berbasis PEG (Polietilen Glikol)**

PEG ini merupakan bahan polimer yang *inert*, biokompatibilitas dan nonimunogenik yang dapat diekskresikan melalui ginjal dari tubuh. Bahan ini banyak digunakan sebagai biomaterial dan dilegalisasi oleh FDA untuk digunakan pada manusia. Telah banyak dilakukan penelitian dengan bermacam formula untuk pencegahan perlekatan pascaoperasi.

Spraygel®, bahan ini terdiri dari dua macam cairan PEG yang terpisah yang melakukan ikatan silang untuk membentuk gel pada daerah yang diaplikasikan. Gel ini bertindak sebagai barrier secara fisik dan memisahkan permukaan yang terluka dengan jaringan sekitarnya. Bahan ini memiliki sifat biokompatibel, nonimunogenik dan mudah diaplikasikan serta mengalami lisis dalam bentuk rantai PEG yang larut dalam air selama 5-6 hari.

- **Barrier lainnya**

Gore-Tex® (*Politetrafluoroetilen*) merupakan suatu barrier yang *inert*, fleksibel dan mudah diaplikasikan dan mampu mencegah penetrasi seluler karena mempunyai ukuran pori-pori yang kecil (<1µm). Pada penggunaan bahan ini dibutuhkan penjahitan pada daerah yang akan dilindungi yang dapat menstimulasi trauma lebih banyak lagi dan dibutuhkan operasi kedua untuk mengeluarkan bahan ini karena bahan ini tidak diserap. Gore-Tex® saat ini sudah tidak digunakan sebagai pencegahan perlekatan dan ditarik dari pasaran.

SurgiWrap® (*polylactic acid-based films*) bahan

ini juga membutuhkan penjahitan pada tempat yang akan dilindungi dari perlekatan namun tidak perlu dilakukan operasi kedua untuk mengambil bahan ini karena bahan ini dapat diserap oleh tubuh.²⁷

Barrier adhesi yang beredar di Indonesia saat ini ada 2 macam yaitu Interceed® dan Guardix-sol®. Kedua bahan ini dapat diaplikasikan pada saat dilakukan operasi laparoskopi maupun laparotomi. Masing-masing bahan ini mempunyai keuntungan dan kerugian. Interceed® dapat bertahan lebih lama di rongga peritoneum karena bahan ini dalam bentuk padat/membran namun bahan ini kurang efektif jika diaplikasikan di area operasi yang sempit serta area yang masih mengandung darah.

Guardix-sol® adalah barrier adhesi yang berbentuk cair mudah diaplikasikan terutama jika dilakukan operasi laparoskopi. Selain itu juga tidak sulit diaplikasikan pada area operasi yang sempit sehingga sangat mudah dijangkau dengan bahan ini tetapi kemampuan bertahan di rongga peritoneum lebih pendek daripada bahan yang berbentuk padat/membran.

KESIMPULAN

Salah satu efek yang tidak diinginkan pada pembedahan baik itu laparotomi ataupun laparoskopi adalah terjadinya perlekatan pascaoperasi yang dapat mengakibatkan morbiditas bahkan mortalitas pada penderita. Dengan menggunakan teknik pembedahan yang baik serta penggunaan bahan-bahan pencegahan perlekatan yang aman dan efektif pada saat pembedahan akan mengurangi risiko terjadinya perlekatan pascaoperasi.

Penggunaan teknik pembedahan yang baik seperti penanganan jaringan lunak, hindari kontaminasi isi usus pada daerah operasi, penggunaan irigasi untuk menghindari pemanasan yang berlebihan pada jaringan, hindari iskemik jaringan berlebihan dan lain-lain akan membantu mengurangi terjadinya perlekatan pascaoperasi.

Ada beberapa bahan 'barrier' pencegahan perlekatan yang telah beredar dipasaran/dikomersialkan. Jika bahan-bahan tersebut aman dan efektifitas harganya dapat terjangkau, maka hal ini dapat membantu mengurangi terjadinya perlekatan pascaoperasi abdomen terutama pada tindakan-tindakan operasi yang berisiko terjadinya perlekatan.

Daftar Pustaka

1. Monk JB, Berman ML, Montz FJ. Adhesions after extensive gynaecologic surgery: clinical significance, etiology, and prevention. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170:1396-403
2. Metwally M, Watson A, Lilford R, Vanderkerchove P. Fluid and pharmacological agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. Issue 2. Art No.: CD001298.pub3
3. Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Dervenis C, Young RL. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. *Dig Surg* 2001; 18:260-73
4. Lower AM, Hawthorn RJ, Ellis H, O'Brien F, Buchan S, Crowe AM. The impact of adhesions on hospital readmissions over ten years after 8849 open gynaecological operations: an assessment from the Surgical and Clinical Adhesions Research Study. *BJOG* 2000; 107:855-62
5. Month FJ, Shimanuki T, diZerega GS. Postsurgical mesothelial remesothelialization. In: de Cherney AH, Polan ML (eds). *Reproductive Surgery*: Chicago, IL: Year Book, Medical Publishers; 1986.p.31-47
6. De Cherney AH, diZerega GS. Clinical problem of intraperitoneal postsurgical adhesion formation following general surgery and the use of adhesion prevention barriers. *Surg Clin North Am* 1997; 77:671-88
7. Hasson HM, Rotman C, Rana N. Laparoscopic myomectomy. *Obstet Gynecol* 1992; 80:884-8
8. Dubuisson JB, Fauconnier A, Chapron C, Kreiker G, Nørgaard C. Second look after laparoscopic myomectomy. *Hum Reprod* 1998; 13:2102-6
9. Garrard CL, Clements RH, Nanney L, Davidson JM, Richards WO. Adhesion formation is reduced after laparoscopic surgery. *Surg Endosc* 1999; 13:10-3
10. Miller CE. Myomectomy. Comparison of open and laparoscopic techniques. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2000; 27:407-20
11. Kavic M. Adhesions and adhesiolysis: the role of laparoscopy. *JSLs* 2002; 6:99-109
12. Schafer M, Krahenbhl L, Buchler MW. Comparison of adhesion formation in open and laparoscopic surgery. *Dig Surg* 1998; 15:148-52
13. Tulandi T, Murray C, Guralnick M. Adhesion formation and reproductive outcome after myomectomy and second-look laparoscopy. *Obstet Gynecol* 1993; 82:213-5
14. Filmar S, Gornel V, McComb PF. Operative laparoscopy versus open abdominal surgery: a comparative study on post-operative adhesion formation in the rat model. *Fertil Steril* 1987; 48:486-9
15. Luciano AA, Maier DB, Koch EI, Nulsen JC, Whitman GF. A comparative study of post-operative adhesions following laser surgery by laparoscopy versus laparotomy in the rabbit model. *Obstet Gynecol* 1989; 74:220-4
16. Lunderoff P, Hahlin M, Källfelt B, Thorburn J, Lindblom B. Adhesion formation after laparoscopic surgery in tubal pregnancy: a randomized trial versus laparotomy. *Fertil Steril* 1991; 55:911-5
17. Marana R, Luciano AA, Muzii L, Marendino VE, Mancuso S. Laparoscopy versus laparotomy for ovarian cystectomy: a randomized trial in the rabbit model. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:861-4
18. Bulletti C, Polli V, Negrini V, Giacomucci E, Flamigni C. Adhesion formation after laparoscopic myomectomy. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1996; 3:533-6
19. Chen MD, Teigen GA, Reynolds HT, Johnson PR, Fowler JM. Laparoscopy versus laparotomy: aevaluation of adhesion formation after pelvic and paraortic lymphadenectomy in a porcine model. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178:499-503
20. Milingos S, Kallipolitis G, Loutradis D, Liapi A, Mavrommatis K, Drakakis P, et al. Adhesions: laparoscopic surgery versus laparotomy. *Ann NY Acad Sci* 2000; 900:272-85
21. Mettler L. Pelvic adhesions: laparoscopic approach. *Ann NY Acad Sci* 2003; 997:255-68
22. Nappi C, Sardo ADS, Greco E, Guida M, Bettocchi S, Bifulco G. Prevention of adhesions in gynecological endoscopy. *Hum Rep Update* 2007; 13(4):379-94
23. Lower AM, Hawthorn RJ, Clark D, Boyd JH, Finlayson AR, Knight AD, Crowe AM; Surgical and Clinical Research (SCAR) Group. Adhesion-related readmissions following gynaecological laparoscopy or laparotomy in Scotland: an epidemiological study of 24,046 patients. *Hum Reprod* 2004; 19:1877-85
24. Wiseman DM, Trout JR, Diamond MP. The rates of adhesion development and the effects of crystalloid solutions on adhesion development in pelvic surgery. *Fertil Steril* 1998; 70:702-11
25. Jansen RP. Failure of peritoneal irrigation with heparin during pelvic operations upon young women to reduce adhesions. *Surg Gynecol Obstet* 1988; 166:154-60
26. Quintero VH, Pachano FEC. Preventing Adhesions in Obstetric and Gynecologic Surgical Procedures. *Rev Obstet Gynecol*. 2009; 2(1):38-45
27. Zawaneh PN, Putnam D. Materials in surgery: A review of biomaterials in postsurgical tissue adhesion and seroma prevention. *Tissue Engineering: Part B* 2008; 14(4):377-91

Contribution

Medicinus Editors accept participation in form of writings, photographs and other materials in accordance with the mission of this journal. Editors reserve the right to edit or modify the writings, particularly redactionally without changing the content of the published articles, if necessary.

MEDICINUS Editors receive original papers/articles of literature review, research or case reports with original photographs in the field of Medicine and Pharmacy.

1. The article that is sent to the Editor are any papers/articles that have not been published elsewhere in print. Authenticity and accuracy of the information to be the responsibility of the author(s).
2. The paper should be type in MS Word program and sent to our editorial staff via e-mail: medical@dexamedica.com
3. Should be type with Times New Roman font, 12 point, double space on quarto size paper (A4) and should not

two side of printing.

4. The paper should be min. 6 pages.
5. All type of articles should be completed with abstract and keyword. Abstract should not exceed 200 words.
6. The title does not exceed 16 words, if more please make it into sub title.
7. The author's name should be completed with correct address.
8. Please avoid using abbreviations, acronyms.
9. Writing system using a reference number (Vancouver style)
10. If there are tables or images please be given a title and description.
11. The papers that have been edited if necessary will be consulted to the peer reviewer.
12. The papers should be given with data of the authors / curriculum vitae, and the email address (if any), telephone number / fax that can be contacted directly.

Antiadhesion

Guardix-sol.5g

“One Solution for All”



Sekilas tentang GUARDIX

Adhesi peritoneal sering terjadi setelah operasi abdomen dan *pelvic*, di mana keduanya merupakan sumber dari morbiditas. Kejadian adhesi intraperitoneal sekitar 67-93% setelah bedah umum dan mencapai 97% pada operasi ginekologi. Adhesi antara luka dan momentum terjadi pada 80% pasien dan sekitar 50% melibatkan adhesi usus. Akibat yang paling serius adalah obstruksi usus kecil. Di Amerika Serikat, sampai 70% dari obstruksi usus kecil adalah karena adhesi.¹

Perlengketan pascaoperasi sejauh ini merupakan masalah yang penting dan belum dapat dicegah. Dua metode utama untuk mencegah adhesi adalah dengan meminimalkan trauma bedah selama operasi dan dengan menggunakan material khusus. Kebanyakan obat antiadhesi diperlukan pada kondisi di mana mengalami kesulitan dalam hal penyembuhan.²

Pembentukan adhesi pascaoperasi juga merupakan masalah serius pada operasi peritoneal khususnya pada operasi ginekologi. Pencegahan adhesi sangatlah penting dengan menjaga kondisi area operasi selalu tetap basah dengan menggunakan larutan Ringer atau larutan garam fisiologis, serta menghindari kontak dengan benda asing selama operasi. Namun, meskipun menggunakan teknik-teknik bedah mikro, >50% pasien diperkirakan berpotensi terjadinya perlengketan pascaoperasi.³

Adhesi intrauterine dianggap sebagai penyebab utama amenorea, infertilitas, kegagalan aborsi, keguguran berulang, *accrete placenta* dan lain-lain. *Adhesi intrauterine* diamati terjadi sebanyak 13% dari 79 pasien infertilitas yang didiagnosis dengan histeroskopi, *adhesi intrauterine* dianggap penyebab terjadinya ketidaksuburan. *Adhesi intrauterine* meningkat pada kasus aborsi, dilasi dan kuretase pada aborsi yang gagal, serta operasi seperti *myomectomy hysteroscopic* yang menyebabkan trauma *intrauterine*. Frekuensi *adhesi intrauterine* karena dilasi dan kuret mencapai 20%, dilasi dan kuret adalah penyebab paling umum terjadinya *adhesi intrauterine*. Di Korea, penggunaan kontrasepsi oral sangat jarang, sedangkan frekuensi pemutusan kehamilan

oleh aborsi relatif tinggi. Oleh karena itu, kejadian *adhesi intrauterine* juga dianggap tinggi. Terdapat berbagai uji coba untuk mencegah pembentukan *adhesi intrauterine* setelah operasi *intrauterine*, misalnya metode seperti penyisipan alat *intrauterine* (IUD) atau pediatrik kateter Foley untuk pemisahan endometrium buatan dan pemberian estrogen atau campuran suplemen estrogen dan progestin untuk memacu pertumbuhan jaringan endometrium. Pada saat ini, telah banyak laporan yang membuktikan efektivitas barrier adhesi berbentuk gel. Studi melaporkan bahwa pembentukan *adhesi intrauterine* berkurang ketika asam hialuronat, yang terkandung dalam matriks ekstraseluler tubuh manusia, diberikan setelah operasi *intrauterine*.⁴

Perlekatan pascaoperasi terjadi juga karena pasien pernah mengalami *myomectomy* laparoskopis, yang dapat mengarah pada kasus infertilitas, nyeri panggul kronis dan obstruksi usus, serta kesulitan dalam operasi ulang. Jadi, meskipun saat ini untuk mengurangi pembentukan adhesi pascaoperasi biasanya berupa meningkatkan teknik bedah (minimal *invasive*, bedah trauma, perdarahan dan iskemia), pencegahan adhesi menggunakan tambahan material akan menjadi lebih efektif dan mempunyai manfaat yang luar biasa. Beberapa alternatif untuk mengurangi kejadian adhesi pascaoperasi adalah menggunakan agen farmakologis, termasuk steroid, antihistamin dan heparin. Tersedia pencegahan adhesi dengan menggunakan membran, akan tetapi menggunakan membran akan menimbulkan masalah pada prosedur laparoskopis. Sehingga dikembangkan barrier adhesi dalam bentuk gel yang lebih memudahkan untuk operasi laparoskopis ginekologi, maupun mengurangi adhesi pascaoperasi laparoskopis *myomectomy*.⁵

Guardix mempunyai komposisi asam hialuronat (HA) dan karboksimetilselulosa (CMC) dan berfungsi sebagai suatu barrier adhesi dalam bentuk gel yang transparan dengan tingkat kekentalan yang cukup tinggi dan mempunyai sediaan 5 gram dalam 5 cc yang langsung dikemas dalam bentuk spuit. Mempunyai sifat biokompatibel dan *biodegradable*, tidak toksik dan tidak menyebabkan reaksi imun.

Jadi cukup aman digunakan untuk organ tubuh bagian dalam pada tempat operasi, di mana tidak diinginkan terjadinya adhesi.⁶

Berikut Beberapa Penelitian Mengenai Penggunaan HA + CMC, Antara Lain:

Sebanyak 62 pasien dengan aborsi, submukosa mioma, septate uterus yang menjalani operasi *intrauterine*. Secara acak dibagi menjadi dua kelompok. Grup A (32 pasien) dilakukan operasi *intrauterine* dengan menggunakan HA + CMC dan Grup B (30 pasien) dilakukan operasi *intrauterine* dengan menggunakan normal *saline* (10 ml). Setiap kelompok diamati dengan histeroskopi diagnostik 4 minggu setelah operasi untuk mengamati tingkat keparahan pembentukan adhesi yang terjadi. Di Grup A (32 pasien), 4 pasien (13%) diklasifikasikan sebagai IUAs (*intrauterine adhesion*) ringan dan kelompok B (30 pasien) 4 pasien (13%) diklasifikasikan sebagai IUAs ringan, 2 pasien (6%) IUAs moderat, 2 pasien (6%) diklasifikasikan sebagai IUAs parah.

Perbedaan yang signifikan antara tingkat perlekatan pascaoperasi *intrauterine*, di mana tingkat perlekatan grup HA + CMC gel (4 dari 32 pasien) lebih rendah dibandingkan grup normal *saline* (8 dari 30 pasien).⁴

Sebanyak 132 pasien dengan pembedahan untuk perbaikan luka *intrauterine*, secara acak dibagi menjadi 2 kelompok: kelompok A menjalani operasi histeroskopi dengan diaplikasikannya HA (10 ml), sedangkan kelompok B menjalani operasi histeroskopi saja (kelompok kontrol). Tingkat pembentukan adhesi diukur pada setiap kelompok setelah 3 bulan pascaoperasi.

Hasilnya kelompok A menunjukkan pengurangan tingkat kejadian dan keparahan adhesi yang signifikan dibandingkan dengan kelompok B setelah operasi histeroskopi.⁷

KESIMPULAN

Adhesi intraperitoneal mempunyai angka kejadian cukup tinggi terutama pada operasi ginekologi (97%).

Adhesi *intrauterine* dapat terjadi karena tindakan aborsi, dilasi dan kuretase pada aborsi yang gagal,

serta operasi seperti *myomectomy hysteroscopic*, yang dapat mengakibatkan ketidaksuburan.

Antiadhesi yang paling efektif saat ini adalah barrier adhesi yang berbentuk gel, karena lebih fleksibel dalam hal penggunaannya terutama untuk kasus laparoskopi

Guardix adalah satu-satunya barrier adhesi yang berbentuk gel dengan kandungan asam hialuronat (HA) dan karboksimetilselulosa (CMC), yang sangat aman digunakan karena sesuai dengan cairan fisiologis tubuh dan terbukti bisa mengurangi adhesi intraperitoneal.

Daftar Pustaka

1. Cheung JP, Tsang HH, Cheung JJ, Yu HH, Leung GK, Law WL, et al. Adjuvant therapy for the reduction of postoperative intra-abdominal adhesion formation. *Asian Journal of Surgery* 2009; 32;3
2. Kamer E, Unalp H, Tarcan E, Diniz G, Atahan K, Ortac R, et al. Effect of hyaluronic acid – carboxymethylcellulose adhesion barrier on wound healing: an experimental study. Department of Surgery; lamir Ataturk Training and Research Hospital, Izmir. Turkey; 2008
3. Sawada T, Hasegawa K, Tsukada K and Kawakami S. Adhesion preventive effect of hyaluronic acid after intraperitoneal surgery in mice. *Human Reproduction* 1999; 14; 6: 1470-2
4. Do JW. The effectiveness of hyaluronic acid + sodium carboxymethylcellulose in the prevention of intrauterine adhesion after intrauterine surgery. *J. of Korean gynecologic endoscopy and minimally invasive surgery* 2005; 17:2
5. Mais V. Reduction of postoperative adhesions with an auto-crosslinked hyaluronan gel in gynaecological laparoscopic surgery: a blinded, controlled, randomized, multicentre study. *Human Reproduction* 2006; 21(5):1248-54
6. Guardix. Package Insert. Daewoong, Biorane Co., Ltd
7. Guida M. Effectiveness of auto-crosslinked hyaluronic acid gel in the prevention of intrauterine adhesions after hysteroscopic surgery: a prospective, randomized, controlled study. *Human Reproduction* 2004; 19; 6: 1461-4

Sekilas tentang GRANON

Mual dan muntah dapat dicetuskan oleh banyak sebab, salah satunya adalah mual dan muntah pascaoperasi yang dikenal dengan PONV (*Post Operative Nausea and Vomiting*). PONV sendiri masih menjadi masalah dalam bidang anestesi, dengan insiden pada pasien risiko tinggi sampai dengan 75%.¹ PONV yang sering di sebut sebagai “*big little problem*”, dapat mengakibatkan konsekuensi baik dari sisi pasien, hasil pembedahan, sampai biaya tambahan yang dikeluarkan akibat perawatan yang lebih lama di rumah sakit. Menariknya hasil suatu survey di *Stanford University Medical Center* yang melibatkan 101 pasien dewasa, ternyata emesis/muntah adalah efek yang paling tidak diinginkan oleh pasien pascaoperasi. Dan ini lebih tinggi dibandingkan dengan nyeri insisi yang hanya berada di peringkat 3.²

Obat-obatan antiemetik termasuk untuk PONV ini bisa dikategorikan menjadi 2 golongan, yaitu antiemetik tradisional/konvensional (*metoclopramide, droperidol, dexamethazone*) dan yang terkini yaitu golongan *5-HT₃ receptor antagonist/setrons* (*ondansetron, granisetron, tropisetron, dolasetron, ramosetron*).

Pada dasarnya semua *5-HT₃ receptor antagonist* memiliki mekanisme kerja yang sama yaitu memblokir reseptor serotonin *5-HT₃ (5-hydroxytryptamine)* untuk berikatan dengan serotonin baik yang terdapat di perifer yaitu pada terminal nervus vagus di saluran cerna maupun di sentral yaitu di CTZ (*chemoreceptor trigger zone*) sehingga rangsangan mual/muntah yang muncul karena ikatan serotonin dan reseptornya tidak terjadi, sehingga tidak mengaktifkan *vomiting center* untuk mencetuskan mual maupun muntah.

Namun walaupun mempunyai mekanisme kerja yang sama dalam mengatasi mual/muntah, masing-masing *5-HT₃ receptor antagonist* memiliki profil farmakokinetik yang berbeda, sehingga menghasilkan efek yang berbeda juga terhadap pasien. Misalnya dalam hal waktu paruh dan durasi kerja, ondansetron mempunyai waktu paruh sekitar 4 jam dan durasi kerja 9 jam, sedangkan granisetron mempunyai waktu paruh 9 jam dengan durasi kerja 24 jam. Sehingga pemberian ondansetron dalam sehari bisa 2-3 kali, sebaliknya granisetron cukup di berikan 1 kali sehari saja. Afinitas granisetron terhadap reseptor *5-HT₃* juga lebih tinggi dibandingkan ondansetron, dan ini juga mempengaruhi durasi kerja granisetron yang lebih panjang dibandingkan ondansetron.⁴

Granisetron merupakan *5-HT₃ receptor antagonist*

yang poten dengan selektifitas yang sangat tinggi, yang tidak mempunyai/sedikit afinitas terhadap reseptor serotonin lainnya. Karakteristik ini di prediksi mempunyai pengaruh terhadap profil keamanannya yang sangat baik. Hal ini berbeda dengan ondansetron yang masih mempengaruhi reseptor serotonin lainnya (*5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, α -adrenergic*, dan *μ -opioid*).⁴

Keamanan dan tolerabilitas granisetron juga sudah pernah dibandingkan dengan ondansetron. Beberapa efek samping yang umum terjadi seperti *headache, asthenia, constipation* dan lain sebagainya, frekuensinya serupa di antara ke 2 golongan. Tetapi frekuensi *dizziness* dan *abnormal vision* di temukan lebih sering terjadi pada golongan ondansetron dibanding granisetron.⁴

Dalam hal efikasi juga beberapa penelitian membuktikan bahwa granisetron lebih superior dibandingkan ondansetron baik bila di gunakan secara tunggal maupun bila di kombinasi dengan *dexamethazone*.⁵

Banyak keunikan dari golongan granisetron ini, selain efikasi yang sangat memuaskan dan profil keamanan yang sangat baik, juga praktis karena pemberian *single dose* 1 mg saja dapat mengontrol mual dan muntah selama 24 jam.^{4,6}

Daftar Pustaka

1. Loewen PS, Marra CA, Zed PJ. *5-HT₃ receptor antagonists vs traditional agents for the prophylaxis of postoperative nausea and vomiting*. *Can J Anaesth* 2000 Oct; 47(10):1008-18
2. Macario A, Weinger M, Carney S and Kim A. Which clinical anesthesia outcomes are important to avoid? The perspective of patients. *Anesth Analg*. 1999; 89:652-58
3. KY Ho and JW Chiu. Multimodal antiemetic therapy and emetic risk profiling. *Ann Acad Med Singapore* 2005;34:196-205
4. Aapro M. Granisetron: an update on its clinical use in the management of nausea and vomiting. *The oncologist* 2004; 9:673-86
5. Chakraborty A, Bhattacharya P, Kushwaha BB, Agarwal J, Malick A, Bhushan S. Comparative study of granisetron and ondansetron alone and their combination with dexamethazone, for prevention of PONV in the middle ear surgery. *The Internet Journal of Anesthesiology* 2007; 13:2
6. Wilson AJ, Diemunsch P, Lindeque BG, Scheinin H, Helbo-Hansen HS, Kroeks MV, Kong KL. Single-dose i.v. granisetron in the prevention of postoperative nausea and vomiting. *British Journal of Anaesthesia* 1996; 76:515-8

Penatalaksanaan Mual-Muntah Pasca Bedah (PONV): Peran Granisetron

Eddy Harijanto

Departemen Anestesiologi
FKUI/RSUPN Cipto Mangunkusumo, Jakarta

PENDAHULUAN^{1,2}

Tenaga kesehatan semakin meningkat kesadarannya bahwa PONV (*Post Operative Nausea Vomiting*) merupakan suatu masalah secara klinis. Seperti diketahui, di masa lalu PONV dianggap merupakan suatu keadaan klinis yang tidak bermasalah karena memiliki karakter dapat sembuh/pulih sendiri, dan tidak pernah menjadi kronik dan hampir tidak menyebabkan mortalitas. Tetapi pada tahun 1998 suatu survei menunjukkan; walaupun dengan teknik anestesi modern kekerapan terjadinya PONV sekitar 30% pada pasien yang menjalani pembedahan.^{1,2}

Kejadian PONV lebih sering menyebabkan ketidaknyamanan pasien dibandingkan nyeri pasca bedah. Mual (*Nausea*) menyebabkan pasien tidak nyaman dan muntah (*Vomiting*) menyebabkan meningkatnya risiko aspirasi, dan berhubungan dengan terbukanya jahitan, ruptur esophagus, empiema subkutis dan *pneumothoraks* bilateral. PONV seringkali menyebabkan memanjangnya waktu pasien keluar dari ruang pulih dan menjadi penyebab utama pasien bedah rawat jalan harus dirawat inap di rumah sakit. Oleh sebab itu pencegahan PONV akan menyebabkan meningkatnya kepuasan pasien bedah.^{1,2}

Kekerapan kejadian PONV bervariasi antara 10% hingga 80%, hal tersebut disebabkan karena besarnya perbedaan secara individual dan faktor risiko anestesi. Walaupun PONV seringkali tidak digolongkan sebagai masalah medik murni, akan tetapi memiliki pengaruh ekonomi terhadap pelayanan kesehatan dan sangat kuat pengaruhnya terhadap kepuasan pasien.^{1,2}

FISILOGI PONV^{1,2}

Patofisiologi dari muntah bersifat kompleks dan melibatkan beberapa organ. Pusat muntah bilateral terletak di medulla oblongata, dekat dengan traktus solitarius setinggi nukleus motoris dorsalis dari vagus. Serabut afferent dari saluran gastrointestinal (terutama serotoninergik), *pharynx*, mediatinum, pusat visual, bagian *vestibular nervus cranial* ke-8 (terutama histaminergik) dan dari "trigger zone" khemoreseptor (dopaminergik) dapat merangsang pusat muntah. Impuls motorik dihantarkan dari pusat muntah melalui *nervus cranialis* ke saluran pencernaan bagian atas, dan melalui syaraf spinal ke

diafragma dan otot-otot abdominal. "Trigger zone" khemoreseptor pada ventrikel ke 4 memiliki peran khusus untuk mengawali muntah.^{1,2}

Mekanisme pasti yang menyebabkan mual dan atau muntah tidak diketahui. Muntah pada dini selama kemoterapi diinduksi dengan meningkatnya pelepasan serotonin intestinal (merangsang reseptor 5HT₃), kemudian merangsang pusat muntah melalui afferat vagal. Mekanisme tersebut dapat menjelaskan keefektifan antagonis reseptor 5HT₃ untuk terapi pada periode awal, tetapi tidak efektif pada periode lanjut. Muntah setelah pemberian morfin atau apomorfina dimediasi oleh "trigger zone" kemoreseptor pada ventrikel ke 4.^{1,2}

FAKTOR RISIKO DARI PONV^{1,2}

Faktor risiko pada PONV seringkali dibagi menjadi faktor risiko non-anestetik (individual), faktor risiko anestetik dan faktor risiko yang berhubungan dengan pembedahan. Faktor-faktor risiko pada PONV seringkali menjadi topik penelitian. Penelitian-penelitian tersebut mengkonfirmasi faktor-faktor risiko pada PONV yaitu jenis kelamin wanita, pemakaian opioid, riwayat PONV, bukan perokok memiliki risiko PONV lebih besar dibandingkan perokok.^{1,2}

Pasien wanita memiliki risiko PONV tiga kali dibandingkan pasien pria, sehingga wanita menjadi faktor risiko individual yang penting. Risiko tersebut meningkat pada saat pubertas. Tetapi siklus menstruasi tidak memiliki dampak terhadap kejadian PONV. Pasien bukan perokok memiliki risiko PONV dua kali dibandingkan para perokok. Hal ini kemungkinan disebabkan nikotin meningkatkan konsentrasi synaps dari dopamin dengan cara menghambat jalur GABAergik. Riwayat PONV terdahulu atau riwayat "motion sickness" merupakan faktor risiko PONV.^{1,2}

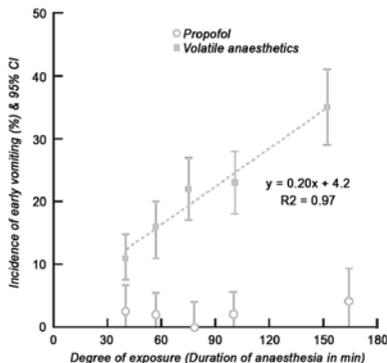
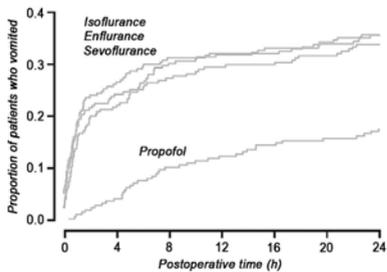
Anestesi umum merupakan faktor risiko penting untuk terjadinya PONV dibandingkan anestesi regional. Lama tindakan anestesi juga merupakan faktor risiko penting. Kekerapan PONV lebih sering terjadi pada pemakaian obat anestesi inhalasi dibandingkan dengan propofol. Obat anestesi inhalasi terbukti bertanggung jawab terhadap induksi PONV, tidak digunakannya anestesi inhalasi akan menurunkan kekerapan PONV sebesar 19%. Faktor

risiko penting lainnya dari PONV adalah pemberian opioid pada pascabedah. Beberapa jenis pembedahan dihubungkan dengan tingginya kekerapan PONV yaitu: bedah strabismus, bedah ginekologi, bedah tiroid atau paratiroid. Sehingga ada anggapan bahwa jenis pembedahan merupakan faktor risiko utama terjadinya PONV, akan tetapi kesimpulan tersebut masih kontroversial. Beberapa analisa berpendapat bahwa jenis pembedahan sendiri, tidak memiliki efek langsung terhadap terjadinya PONV, akan tetapi populasi pasien dan faktor anestesinya yang berperan.^{1,2}

Meningkatnya "Body Mass Index" (BMI) bukan merupakan faktor risiko PONV. Ventilasi melalui sungkup, kecemasan dan nyeri kemungkinan merupakan faktor resiko PONV.^{1,2}

DAMPAK EMETOGENIK OBAT ANESTESIA INHALASI²

Suatu penelitian melaporkan kekerapan terjadinya muntah (PONV) setelah pemeliharaan anestesia dengan isofluran sebesar 34%, enfluran sebesar 33%, sevofluran sebesar 33% dan propofol sebesar 18%. Analisa dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa meningkatnya lama anestesi inhalasi berhubungan dengan meningkatnya kekerapan muntah (PONV) secara signifikan, tetapi hal tersebut tidak terjadi pada penelitian anestesi dengan propofol. Hubungan dosis respons obat anestesi inhalasi dan PONV, menguatkan anggapan adanya efek "pro-emetik" dari obat anestesi inhalasi.³



PENCEGAHAN DAN PENGOBATAN PONV^{1,2}

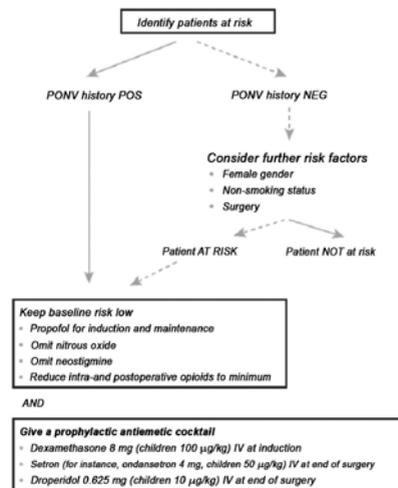
Topik yang menjadi perdebatan pada PONV adalah mana yang lebih "cost effective" pemberian antiemetik untuk pencegahan atau menunggu pasien muntah kemudian memberi antiemetik. Untuk memberi jawaban atas pertanyaan pencegahan atau pengobatan, keunggulan kedua strategi tersebut harus dibandingkan. Hal tersebut memerlukan analisa terhadap efisiensi, risiko dan biaya. Terdapat tiga kelompok molekul yang memiliki sifat antiemetik yaitu: steroid (*dexamethasone*), antagonist reseptor serotonin 5HT₃ (setrons) dan antagonist reseptor dopamin D2 (droperidol).

Terdapat tiga kelompok molekul yang memiliki sifat antiemetik yaitu: steroid (*dexamethasone*), antagonist reseptor serotonin 5HT₃ (setrons) dan antagonist reseptor dopamin D2 (droperidol).³

Beberapa penelitian menunjukkan kortikoid diduga efektif pada mual-muntah karena anestesia. Suatu penelitian multisenter di Eropa (*Impact*) menemukan bukti kuat *dexamethasone* dengan dosis 4 mg merupakan dosis yang efektif pada PONV. Pemberian pada saat induksi anestesia memberi pencegahan yang lebih efektif terhadap PONV dibandingkan pada pemberian di akhir pembedahan.³

Kelompok antagonist reseptor serotonin terdiri dari ondansetron, tropisetron, dolastron dan granisetron. Obat-obat antiemetik golongan setron lebih efektif mencegah PONV jika diberikan di akhir pembedahan.³

Pemberian obat antiemetik sebagai pencegahan pada pasien dengan faktor risiko PONV yang rendah adalah tidak bijaksana. Pemberian obat antiemetik pada pasien dengan faktor risiko PONV yang tinggi memerlukan pendekatan multimodal (kombinasi obat antiemetik). Pendekatan untuk membuat faktor risiko terhadap PONV rendah antara lain dengan pemilihan teknik anestesi dengan cara meng-



Gambar 1. Decision tree for PONV prophylaxis in adults

hindari obat-obat anestesia yang memiliki sifat emetogenik, mengurangi pemakaian opioid intra-operatif atau memilih teknik anestesia regional.³

GRANISETRON

Granisetron merupakan antagonis reseptor 5HT₃ yang kuat dan sangat selektif, tidak atau sedikit memiliki hubungan dengan reseptor 5HT lainnya, atau dopaminergik, adrenergik, *benzodiazepine*, histamin atau reseptor opioid. Berbeda dengan antagonis reseptor 5HT₃ lainnya yang memiliki hubungan dengan berbagai reseptor. Sebagai contoh ondansetron diketahui memiliki hubungan dengan reseptor 5HT_{1B}, 5HT_{1C}, α 1 adrenergik dan reseptor opioid μ . Sifat tersebut menyebabkan granisetron memiliki profil keamanan yang baik dan efek samping yang kecil.³

Keamanan dari granisetron yang diberi secara oral dan intravena telah diteliti, memperlihatkan granisetron memiliki toleransi yang baik, dengan efek samping yang ringan dan sementara. Efek samping yang terjadi pada pemberian granisetron IV antara lain sakit kepala, *asthenia*, *somnolent*, diare dan konstipasi, tidak pernah dilaporkan terjadinya efek ekstra piramidal. Pada sukarelawan yang sehat pemberian granisetron IV, tidak menyebabkan perubahan klinis kardiovaskular yang penting (frekuensi nadi, tekanan darah, EKG, interval QTc).³

Candiotti dkk, melakukan penelitian membandingkan pemberian granisetron dan ondansetron sebagai pengobatan "rescue" pada "breakthrough PONV" yang terjadi setelah pemberian pencegahan dengan ondansetron. Hasil penelitian Candiotti dkk memperlihatkan hasil yang tidak signifikan, baik pada pemberian pengobatan "rescue" ondansetron maupun granisetron. Hasil tersebut mendukung konsep bahwa pengobatan "rescue" pada pasien dengan "breakthrough PONV" tidak dapat dengan pengobatan *rescue* mempergunakan obat pada kelompok yang sama dengan obat pencegahan.⁴

Gan dkk, melakukan penelitian bahwa kombinasi granisetron 0,1 mg + *dexamethasone* 8 mg sama efektifnya dengan kombinasi ondansetron 4 mg + *dexamethasone* 8 mg sebagai kombinasi antiemetik pencegahan. Keuntungan dari terapi kombinasi adalah dapat mempergunakan obat-obat yang memiliki cara kerja yang berbeda terhadap respon emetik sehingga dapat meningkatkan efikasi, memperpanjang durasi dari efek antiemetik, kemampuan untuk mengkombinasi obat dengan efek utama antinausea dengan obat dengan efek utama antiemetik, dan memiliki kemungkinan untuk memberikan obat dengan dosis lebih kecil dibandingkan dengan monoterapi.⁵

White dkk, melakukan penelitian bahwa pemberian granisetron 1 mg oral dibandingkan dengan ondansetron 4 mg IV sebagai antiemetik pencegah-

an pada pasien bedah laparoskopi dengan anestesi umum, sama efektifnya dalam mencegah PONV dan *post discharge nausea and vomiting* (PDNV) dan kualitas pemulihan tidak berbeda secara klinis.⁶

Penelitian menyimpulkan bahwa pemberian granisetron IV dengan dosis 1 mg dapat memfasilitasi cepatnya pemulihan dari blok sensoris pada anestesia *subarachnoid* dengan bupivacain. Granisetron memiliki efek mengendalikan *shivering* lebih baik dibandingkan plasebo pada pasien dengan anestesia regional. Granisetron dan ondansetron memiliki efek untuk mengurangi kekerapan pruritus pada anestesia *subarachnoid* dengan morfin dibandingkan dengan plasebo.⁷⁻⁹

KESIMPULAN

1. PONV berhubungan dengan tingkat kenyamanan pasien pasca bedah.
2. Patofisiologi PONV bersifat kompleks.
3. Faktor risiko PONV dibagi menjadi: faktor risiko non-anestetik (individual), faktor risiko anestetik dan faktor risiko yang berhubungan dengan bedah.
4. Obat anestesi inhalasi memiliki sifat emetogenik.
5. Obat anti emetik terdapat tiga kelompok yaitu: Steroid (*dexamethasone*), antagonis reseptor serotonin 5HT₃ (setron), antagonist reseptor dopamin D2 (droperidol).
6. Penatalaksanaan PONV meliputi: pencegahan, pengobatan dan pendekatan untuk membuat faktor risiko PONV rendah.
7. Granisetron merupakan antagonist reseptor 5HT₃ yang kuat dan selektif.

Daftar Pustaka

1. Tramer MR. Strategies for post operative nausea and vomiting. *Best Practice and Research Clinical Anaesthesiology* 2004; 18(4):693-701
2. Apfel CC. PONV: A problem of inhalational anaesthesia? *Best Practice and Research Clinical Anaesthesiology* 2005; 19(3):485-500
3. Aapro M. Granisetron: An update on its clinical use in the management of nausea and vomiting. *The Oncologist* 2004; 9:673-86
4. Candiotti KA, Nhuch F, Kamat A, Deepika K, Arheart KL, Birnbach, DJ, et al. Granisetron versus ondansetron treatment for breakthrough postoperative nausea and vomiting after prophylactic ondansetron failure: A pilot study. *Anesthesia & Analgesia* 2007; 104(6):1370-3
5. Gan TJ, Coop A, Philip BK, and the Kytril Study Group. A randomized, double-blind study of granisetron plus dexamethasone versus ondansetron plus dexamethasone to prevent postoperative nausea and vomiting in patients undergoing abdominal hysterectomy. *Anesthesia & Analgesia* 2005;101:1323-9
6. White PF, Tang J, Hamza MA, Ogunnaike B, Lo M, Wender RH, et al. The use of oral granisetron versus intravenous ondansetron for antiemetic prophylaxis in patients undergoing laparoscopic surgery: The effect on emetic symptoms and quality of recovery. *Anesthesia & Analgesia* 2006;102:1387-93
7. Mowafi HA, Arab SA, Ismail SA, Al-Ghamdi A, et al. The effects of intravenous granisetron on the sensory and motor blockade produced by intrathecal bupivacaine. *Anesthesia & Analgesia* 2008;106:1322-5
8. Sagir O, Gulhas N, Toprak H, Yucel A, Begec Z, Ersoy O. Control of shivering during regional anaesthesia: prophylactic ketamine and granisetron. *Acta Anaesthesiol Scand* 2007; 51:44-9
9. Siddik-Sayid SM, Aouad MT, Taha SK, Azar MS, Hakk MA, Kaddoum RN, et al. Does ondansetron or granisetron prevent subarachnoid morphine-induced pruritus after cesarean delivery. *Anesthesia & Analgesia* 2007;104:421-4.

Proliferation Inhibition by DLBS1425 on Various Cancer Cells

Poppy F. Arifin and Raymond R. Tjandrawinata

Dexa Laboratories of Biomolecular Sciences
PT Dexa Medica

ABSTRACT

DLBS1425, a standardized extract of flesh fruit of *Phaleria macrocarpa* is hypothesized to have anti-cancer activities. Antiproliferative effect and DNA fragmentation conferred by DLBS1425 on various cancer cells, HGS, HCT116, PC3, HepG2 cells, were investigated. Cell proliferation was measured by colorimetric method to determine the number of viable cells. The result shows that there was an inhibition in proliferation in various cancer cell lines after treated with the DLBS1425. Induction of apoptosis was also observed showing by DNA fragmentation and Bcl-2 expression in these cancer cells. These findings support DLBS1425 as a prevention or treatment for several cancer diseases.

INTRODUCTION

Cancer arises by an uncontrolled growth of cells. In normal cells there is a finely controlled balance between growth promoting and growth restraining signals such that proliferation occurs only when required. Loss of integrity of these signaling pathways due to mutations can result in a hyper-proliferative state of cells, manifested as cancer.¹

Fruit extracts of *Phaleria macrocarpa* has been believed to have anticancer activity. Particularly, it showed an alpha-glucosidase inhibitory activity and hypoglycemic effect. Compound from fruits of *Phaleria macrocarpa* demonstrated a significant inhibition of cell proliferation in a series of cancer cell lines. It also showed cytotoxicity effect against myeloma cell line. It has been reported that *Phaleria macrocarpa* fruit rich in alkaloid, saponin and flavonoid.²⁻⁴

Recently, stomach cancer, colon cancer, prostate cancer and liver cancer are commonly diagnosed in cancer patients and lead to a life-threatening condition to the patients. Therefore, a further research should be immediately investigated to overcome this problem. The use of herbal drugs in cancer treatment is very promising. In this study, we used DLBS1425, a standardized compound extract of flesh fruit of *Phaleria macrocarpa*, to investigate its anti-cancer activities, particularly in antiproliferative action and its effect to induce apoptosis observed on DNA fragmentation of various cancer cells including stomach, colon, prostate and liver cancer cells.

MATERIALS AND METHOD

Materials

DLBS1425 was obtained from compound extract of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl which was characterized using Thin Layer Chromatography (TLC). Materials used for this analysis were silica gel, aluminium plate, Chloroform GR and Methanol GR. Sulphate acid 5% (v/v) solution was used for TLC visualization.

PC3 (prostate cancer colon), HepG2 (liver cancer cells), AGS (stomach cancer cells), and HCT116 (colon cancer cells) cell lines were obtained from ECACC, UK. Fetal Calf Serum, MEM media, F12, McCoy, RPMI1640, and penicillin-streptomycin were purchased from Gibco. For cell viability assay (MTT Test), cell titer 96 Aqueous Assay (Promega, Madison, WI) was used. DNA fragmentation assay was detected by DNA Apoptosis Ladder Kit (Roche Applied Science, Mannheim, Germany). All other chemicals used were in the purest form available commercially.

Instruments used were Rotavapor Buchi R-200, heat-gun Hakko, disk-mill, ultra violet beam lamp Camag 254 nm and 366 nm. The absorbance was measured using a microplate reader type 680 (Bio-rad, Hercules, CA).

Cell Culture

Growth medium for RPMI medium for PC3 cells, MEM for HepG2 cells, AGS cells was F12 medium and McCoy's medium for HCT116 cells. Each medium was added with 10% Fetal Calf Serum and 1% antibiotic penicillin-streptomycin. The cells were incubated in CO₂ 5% at 37°C. Cell media were changed every 2-3 days. Subconfluent monolayer of cells were em-

ployed in all experiments. The plant extracts were dissolved in DMSO and given to cell in a range of 25-100 µg/mL. The final concentration of solvent in cell culture was 0.2%.

Cell Viability Assay

Cancer cells were subcultured in 96 well plate with 1×10^4 cells/well in 100 µl medium. After 24 h incubation at 37°C, medium in each well was discarded and replaced with serum-free medium. The cells were incubated for another 24 h before treated with DLBS1425 (10, 25, 50, 75, and 100 µg/mL) and incubated for 24 h. DMSO was used to dilute the extract and the final concentration of each well should not exceed 0.2%. After treatment with DLBS1425, the number of viable cells was determined using Cell titer 96 Aqueous Assay. This assay was performed according to the manufacturer's protocol. The absorbance was measured at 490 nm with a microplate reader type 680 (Biorad, Hercules, CA). Each experiment was performed in quadruplicate.

Then, the percentage of living cells in each treatment can be calculated by using this equation:

$$\% \text{ Living cells} = B/A \times 100\%$$

A: Living cells in control

B: Living cells with treatment

The IC50s were calculated assuming that the survival rate of untreated cells was 100%. The statistical analysis method was carried out in BioStat.

DNA Fragmentation Analysis

Cancer cells were seeded onto 10 cm plate (2.4×10^6 cells/plate) and incubated for 24 h at 37°C in culture medium containing 10% Fetal Calf Serum. After that, medium in each plate was discarded and replaced with non-serum medium. For another 24 h, the medium was incubated before treated with DLBS1425 in concentration 50 µg/mL and incubated for another day. After treated with DLBS1425, DNA fragmentation assay was detected by DNA Apoptosis Ladder Kit. This assay was performed according to the manufacturer's protocol. The formation of DNA fragments was examined by agarose gel electrophoresis.

RNA Isolation and Reverse Transcription-PCR

Total RNA was extracted from HCT116 cell treated with 10, 25, 50, and 100 µg/mL using a Trizol Reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA) according to the

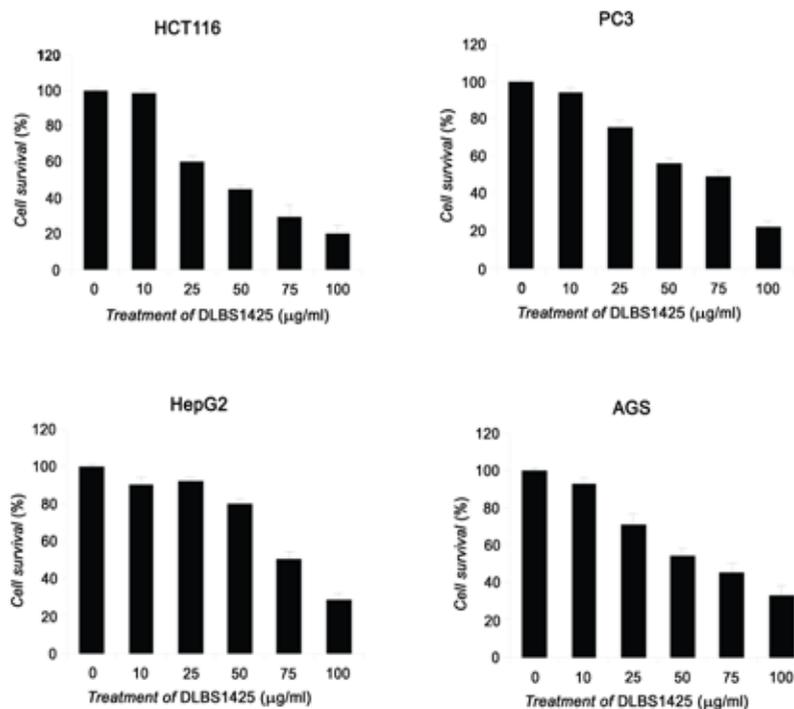


Figure 1. Growth inhibition effect on HCT116, PC3, HepG2, and AGS cells. Cells were treated with DLBS1425 in concentration ranging from 10-100 (µg/mL) for 24 h.

manufacturer's instructions. RNA concentration and purity were calculated using spectrophotometer at 260 and 280 nm. Before reverse transcription (RT) reaction, RNA was incubated at 65°C for 10 minutes. One µg aliquot of total RNA was reverse transcribed with 20 U RNasin, 25 mM dNTP mix, 0.5 ng Oligo dT, and 5 U AMV RT. All reagents were purchased from Promega, Madison, WI. The reaction mix was incubated at 30°C for 10 minutes, 45°C for 45 minutes, 99°C for 5 minutes, and 6°C for 5 minutes. PCR was performed using specific primers for Bcl-2 with sequences:

Sense : 5' GGT GCC ACC TGT GGT CCA CCT 3'

Antisense : 5' CTT CAC TTG TGG CCC AGA TAG G 3'

PCR products (459 bp) were visualized by ethidium bromide staining after agarose gel electrophoresis. PCR products were analyzed and semiquantified in Chemidoc (BioRad, Hercules, CA).

RESULTS

Proliferation inhibition of DLBS1425

Effect of DLBS1425 on cell proliferation was observed on several cancer cell lines. The results showed that DLBS1425 conferred a dose-dependent decrease in those cell numbers. Cells treated with various concentrations of DLBS1425 ranging from 10-100 µg/mL even only in 1 day of DLBS1425 treatment, showed suppression of cell proliferation (Fig. 1).

In particular, In particular, figure 2 shows the picture of HCT116 cells treated with DLBS1425 in various concentration where the proliferation of cell was evidently inhibited. The IC50 value of HCT116, PC3, HepG2, and AGS cells were shown in Table 1.

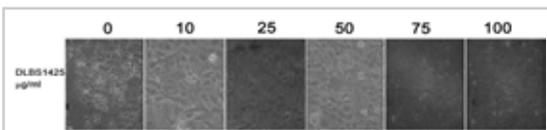


Figure 2. Cell proliferation of HCT116 cell. HCT116 cell were treated with DLBS1425 in the range concentration of 10-100 10, 25, 50, and 100 µg/mL

Table 1. IC50 value for every cancer cell line

| Cell lines | IC50 (µg/ml) |
|-----------------------------|--------------|
| PC3 (prostate cancer cells) | 58.33 |
| HepG2 (liver cancer cells) | 74.08 |
| AGS (gastric cancer cells) | 50.06 |
| HCT116 (colon cancer cells) | 35.64 |

Effect of DLBS1425 on DNA fragmentation and expression of Bcl-2

In this experiment PC3, HepG2, AGS and HCT116 cells were treated with DLBS1425 extract at concentration 50 µg/mL for 24 h. DNA fragmentation

was seen in every cell, clearly seen in HCT116 cell which has the lowest IC50 among others (Fig. 3). Moreover, in mitochondrial apoptotic pathway, we found that treatment of 10, 25, 50, and 100 µg/mL of DLBS1425 to HCT116 cell decreased level of Bcl-2 mRNA expression in that cell, showing that the cell experienced apoptotic event (Fig. 4). Figure 3. DNA fragmentation in various cancer cells. PC3, HepG2, AGS and HCT116 cells were treated with DLBS1425 50 µg/mL for 24 h.

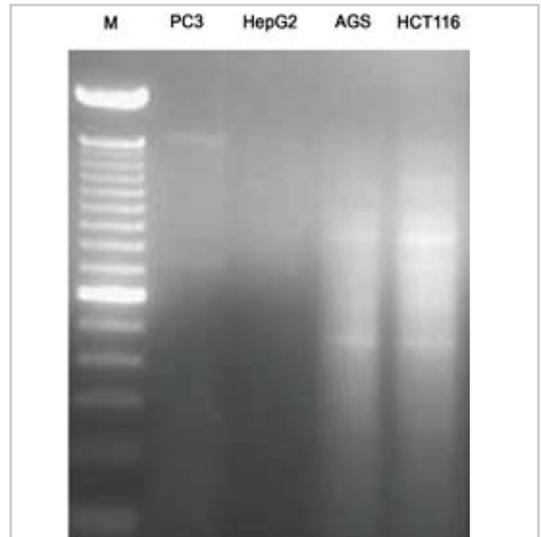


Figure 3. DNA fragmentation in various cancer cells. PC3, HepG2, AGS and HCT116 cells were treated with DLBS1425 50 µg/mL for 24 h.

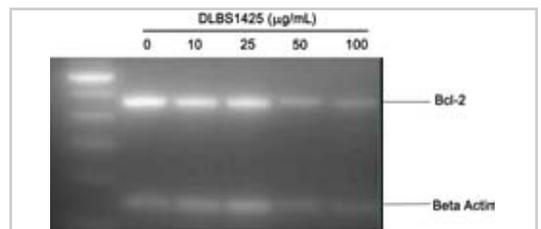


Figure 4. Bcl-2 expression in HCT116 cell. HCT116 cells were treated with DLBS1425 in various concentration and Bcl-2 expression was analyzed using RT-PCR.

DISCUSSION

This present study was undertaken to investigate antiproliferative effect conferred by DLBS1425 on various human cancer cell lines. The antiproliferative effect of DLBS1425 was observed after 24 h incubation. It was shown that the growth of PC3, HepG2, AGS and HCT116 cells was down-regulated after treated with DLBS1425 (Fig. 1 and Fig 2). Control of cell proliferation is important for cancer prevention

since it plays an essential role in carcinogenesis including the process of initiation and promotion. It is expected that the antiproliferative agent can work effectively to inhibit signal transduction of cell and also the cell cycle which therefore inhibit the cell proliferation. This antiproliferative agent supposedly could be administered with small risk to human and could be used as an effective agent to treat diseases. Cell proliferation has long been suspected of enhancing the frequency of tumor initiation in chemical carcinogenesis and is considered to play an important role in the exertion of tumor promoters or non-genotoxic carcinogens.⁵ Therefore, inhibiting the cell proliferation is one of critical way to prevent the development of cancer. In this case, this result strongly suggests that DLBS1425 is an effective agent in inhibiting the proliferation of cells wherein uncontrolled condition could lead to a rapid spread of the cancer disease.

According to Meyer (1982), a material is said to be active and possess strong anticancer activity if it has $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$.⁶ In this study, PC3, HepG2, AGS and HCT116 cells were shown to give different responses to DLBS1425 treatment. This effect might be due to the sensitivity of those cell lines to the nature of active compounds present in the extract and could represent a tissue-specific response.⁷ In addition, cells have different ability to survive and therefore, their ability to be resistant to antiproliferative agent is also different. This condition can be observed from the IC_{50} value obtained for each cell. DLBS1425 showed a significant growth inhibitory level on HCT116 cells which has IC_{50} of $35.64 \mu\text{g/mL}$, the lowest among others. In other hand, HepG2 cells which derived from HCC (Hepatocellular carcinoma) an aggressive and often fatal neoplasm,⁸ possessed the highest IC_{50} value which was $74.08 \mu\text{g/mL}$. Taken together, according to the IC_{50} value obtained in treatment for various cancer cell lines, DLBS1425 can be presumed to be active in the range to exert its activity in inhibiting the growth of cells in a dose-dependent manner. Nevertheless, certain types of cancer cells need particular effective dose to be treated.

The growth inhibition of the cells occurs by mechanism of apoptosis was further demonstrated by appearance of typical DNA fragment. Apoptosis, programmed cell death, is a process of self destruction with distinctive morphological features. It is essential for the normal function of organisms and therefore variety of diseases including autoimmunity and cancer result from any defect in this physiological process.⁹ After HepG2, PC3, AGS and HCT116 cells were treated with DLBS1425, the chromosomal DNA degraded into small internucleo-

somal fragments, as shown in 2% agarose gels (Fig. 3). Moreover, the apoptotic event was also shown in Bcl-2 mRNA expression. Bcl-2 family proteins are central regulators of apoptosis and act as checkpoints through which survival and death signals pass before they determine the fate of the cell.¹⁰ Treatment of DLBS1425 decreased the level of Bcl-2 mRNA expression in HCT-116 cells. The Bcl-2 family proteins control the outer mitochondrial membrane permeability and subsequent release of several proapoptogenic factors like cytochrome c, Smac, etc.¹¹ This study suggests that DLBS1425 possess potent proapoptotic characteristics on several human cancer cells. This study also suggests that DLBS1425 to be of significant potential in cancer therapy.

CONCLUSION

DLBS1425, a standardized *Phaleria macrocarpa* compound extract, is effective in conferring its antiproliferative effect on AGS, PC3, HCT116 and HepG2 cancer cells. The lowest IC_{50} obtained was $35.64 \mu\text{g/mL}$ for HCT116 cell whereas, the highest value obtained was $74.08 \mu\text{g/mL}$ for HepG2. In addition, the extract shows antiproliferative effect through induction of apoptosis. Our results suggest that DLBS1425 to be of significant potential in various cancer therapy.

References

1. Faried A, Kurnita D, Faried LS, Usman N, Miyazaki T, Kato H, Kuwano H. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] on human cancer cell lines. *Int J Oncol* 2007; 30:605-613
2. Sumastuti, R & Solinmar. 2005. Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan Daun Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] terhadap sel HeLa. *Farmakologi Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta*; 2005
3. Oshimi S, Zaima K, Matsuno Y, Hirasawa Y, Iizuka T, Studiawan H, et al. Studies on the constituents from the fruits of *Phaleria macrocarpa*. *J. Nat. Med* 2008; 62: 207-10
4. Sa G and Das T. Anti cancer effects of curcumin: cycle of life and death. *Cell Division* 2008; 3:14
5. Mori H, Sugie S, Yoshimi N, Hara A and Tanaka T. Control of cell proliferation in cancer prevention. *Mutat Res-Fund Mol M* 1999; 428:291-8
6. Meyer BN, Ferrigni NR, Putman JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Med* 1982; 45:31-4
7. Kirana C, Record IR, McIntosh GH, Jones GP. Screening for antitumor Activity of 11 species of Indonesian Zingiberaceae using human MCF-7 and HT-29 cancer cells. *Pharm Biol* 2003; 41(4):271-6
8. Absood A, Hu B, Bassily N, Collet. VIP inhibits human HepG2 cell proliferation in vitro. *Reg Pept* 2008; 46:285-92
9. Derakhshan M. Apoptosis at a glance: Death or life? *Pak J Med Sci* 2007; 23(6): 979-82
10. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770-6
11. Tichý, A. Apoptotic machinery: The Bcl-2 family proteins in the role of inspectors and superintendents. *Acta Medica* 2006; 49(1): 13-18

Analisis Ekspresi Gen *Mannose Specific Adhesin* yang Berkaitan dengan Adhesi Probiotik di Epitel Usus pada Isolat Probiotik *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. dengan Menggunakan Metode *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction*

Reyna Carmina Felicia,¹ Ratu Safitri,² Supartini Syarif,³ dan MS Novik Nurhidayat⁴

^{1,2,3} Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Padjadjaran, Bandung

⁴ Pusat Penelitian Biologi, LIPI

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai analisis ekspresi gen *msa* (*mannose specific adhesion*) pada isolat probiotik *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. Tujuan penelitian ini adalah mengamati ekspresi gen *msa* pada kedua isolat yang berperan dalam pengendalian protein MSA. MSA merupakan protein pada beberapa bakteri tertentu (dalam hal ini bakteri probiotik) yang berperan dalam pelekatan sel di usus sehingga sel dapat terus hidup dan berkolonisasi di dalam saluran pencernaan, terutama pada permukaan epitel usus. Ekspresi gen *msa* dapat ditemukan pada kedua isolat ditandai dengan pita *complementary deoxyribonucleic acid* (cDNA) pada ukuran sekitar 100 pb.

Kata kunci: *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp., MSA

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan makanan tambahan berupa mikroorganisme hidup dan bersifat menguntungkan bagi yang mengkonsumsinya melalui penyeimbangan mikroflora sistem pencernaan.^{1,2} Kriteria seleksi sebagai bakteri probiotik antara lain: secara klinis dapat meningkatkan kesehatan, berstatus aman untuk dikonsumsi (*generally recognized as safe*), bersifat antagonis terhadap patogen, menghasilkan bahan antimikroorganisme patogen, bertahan pada pH rendah dan asam empedu, dapat melakukan adhesi serta dapat berkolonisasi untuk jangka waktu yang lama di sel epitel usus.³ *Lactobacillus* sp. memiliki karakteristik Gram positif, tidak memiliki spora, tidak motil, uji katalase negatif, mampu bertahan pada pH 3-4 dan asam taurokolat 17 mM. Di samping itu penelitian Napitupulu dkk. (2003) menunjukkan bahwa *Lactobacillus* sp. relatif lebih tepat guna sebagai probiotik penurunan kolesterol dilihat dari daya ikat kolesterol dan ketahanan terhadap asam empedu. Sedangkan *Leuconostoc* sp. memiliki karakteristik Gram positif, tidak memiliki spora, tidak motil, uji katalase negatif, mampu bertahan pada pH 3-4 dan asam taurokolat 17 mM.⁴ *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. dapat melakukan mekanisme adhesi pada sel uji *Saccharomyces cerevisiae* dengan bantuan protein MSA.⁴ *Mannose specific adhesion* (MSA) merupakan protein yang membantu dalam mekanisme adhesi bakteri pada epitel usus dan membutuhkan mannososa sebagai reseptor pelekatannya.⁵ Protein ini merupakan protein ekstraseluler yang merupakan komponen permukaan sel bakteri.⁶ MSA pada bakteri probio-

tik dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh manusia terhadap serangan infeksi mikroorganisme patogen.⁵ Semakin spesifik MSA melekat pada manosa maka semakin kuat pelekatan MSA di sel epitel usus.⁷ Adhesi bakteri probiotik pada tempat yang spesifik pada sel mukosa usus juga merupakan salah satu aksi kompetisi dengan patogen.⁸ Protein yang berperan dalam proses adhesi bakteri probiotik terdapat pada permukaan sel bakteri, hal ini berkaitan dengan peranan penting interaksi bakteri dengan lingkungan hidupnya.⁹ Adhesi merupakan prasyarat kolonisasi, aktivitas antagonistik terhadap enteropatogen, pengaturan sistem imun, dan untuk memperbaiki kerusakan mukosa usus.³

Salah satu masalah kesehatan yang diakibatkan oleh pelekatan bakteri patogen *Enterobacteriaceae* di sel epitel usus ialah diare.¹⁰ Diare merupakan masalah penyakit infeksi terbesar pada penduduk di negara berkembang seperti Indonesia.¹¹ Bakteri probiotik dan *E. coli* saling berkompetisi untuk melekatkan diri pada reseptor di sel epitel usus.¹²

Protein MSA dikode oleh gen *msa*.^{4,5,13} Untuk mengetahui ekspresi gen *msa* dilakukan amplifikasi mRNA dengan menggunakan metode RT-PCR (*reverse transcriptase-polymerase chain reaction*).^{4,13} Ekspresi gen *msa* pada *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. belum diketahui, maka untuk mengetahui hal tersebut dilakukan penelitian mengenai analisis ekspresi *msa* pada kedua isolat bakteri probiotik tersebut.

METODE PENELITIAN

1. Isolasi *ribonucleid acid* (RNA)

Isolasi RNA kedua isolat probiotik dilakukan

dengan menggunakan TRIzol® Reagent (sesuai dengan prosedur standar yang dikeluarkan oleh perusahaan yang bersangkutan). RNA hasil isolasi dikeringkan, dilarutkan dalam *diethylpyrocarbonate* (DEPC) 0,01% sebanyak 60 µL. RNA yang telah dilarutkan dalam larutan DEPC 0,01% di-resuspensikan dengan TE *buffer* sebanyak 990 µL. Kemudian dilakukan pengukuran nilai absorban menggunakan spektrofotometer UV.

2. RT-PCR

Dilakukan dalam dua tahap, yaitu sintesis cDNA dari RNA hasil isolasi dan proses PCR menggunakan primer Ip_1229F dan Ip_1229R. Seluruh komponen dicampurkan dalam tabung PCR kemudian dimasukkan ke dalam mesin PCR.

3. Elektroforesis Gel Agarosa.

Hasil RT-PCR dianalisis dengan menggunakan gel agarosa 1%. Sebanyak 0,7 g agarosa dilarutkan dalam 70 ml *buffer* TAE Ix dengan pemanasan di atas *hot plate* sampai jernih. Setelah itu, larutan ditambah dengan 4 µL *ethidium bromide* (EtBr) dan dituangkan dalam cetakan gel. Setelah gel memadat, cetakan sisir diangkat, kemudian gel dipindahkan ke dalam bak aparat elektroforesis.

4. Pengukuran Densitas DNA dengan CS Analyzer

Foto hasil elektroforesis gel agarosa di-copy ke program CS Analyzer, pola pita DNA untuk gen *msa* pada isolat bakteri probiotik terseleksi diklik sehingga didapatkan nilai densitasnya.

fat tersebut. Ekspresi suatu sifat organisme yang muncul tidak secara total dipengaruhi oleh sebuah gen akan tetapi kemunculannya dipengaruhi juga oleh beberapa faktor lingkungan. Hal inilah yang menyebabkan suatu sifat dapat terekspresikan pada masing-masing organisme. MSA merupakan suatu protein yang berkaitan dengan pelekatan bakteri, terutama pada bakteri probiotik. Protein MSA ini dikendalikan oleh sebuah gen yang disebut *msa*.

Untuk memastikan keberadaan gen yang mengkode protein MSA pada kedua isolat probiotik *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. maka dilakukan isolasi DNA. DNA yang telah diisolasi diamplifikasi dengan metode PCR. Hasil penelitian sebelumnya, menyatakan bahwa pita gen *msa* berukuran sekitar 100-150 pasang basa.⁴

Analisis ekspresi gen dilakukan dengan metode RT-PCR. Metode ini terdiri dari dua tahapan yaitu tahapan sintesis DNA komplementer (cDNA atau *complementary* DNA) dari total RNA sebagai cetakan dengan menggunakan enzim *reverse transcriptase*. Tahap berikutnya adalah amplifikasi (perbanyak) molekul DNA dengan PCR.

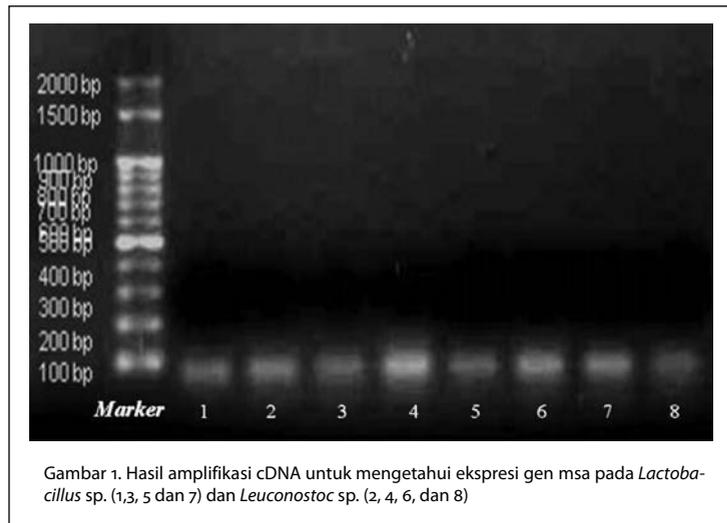
Reaksi RT-PCR untuk melihat ekspresi gen *msa* ini menggunakan *Superscript® One Step RT-PCR System* (Invitrogen)TM dengan komponen-komponen sebagai berikut: cetakan RNA yaitu RNA total dari masing-masing isolat bakteri probiotik *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp., primer spesifik Ip_1229 dan Ip_1229R,⁵ *reaction mix* (yang terdiri dari dNTP's dan *buffer*), *Superscript® III RT/Platinum® Taq Mix* (yaitu

gabungan dari enzim *reverse transcriptase* (RT) dan *Platinum® Taq* DNA polimerase), dan air destilasi (dH₂O) steril.

RNA total yang dipakai sebagai cetakan (*template*) harus diisolasi terlebih dahulu dari masing-masing isolat probiotik. Isolasi RNA merupakan prosedur yang cukup beresiko tinggi karena RNA mudah mengalami degradasi dan kontaminasi oleh protein, DNA, dan juga RNase yang terdapat dari berbagai sumber contohnya pada jari-jari tangan. Oleh karena itu, dibutuhkan preparasi yang baik sebelum melakukan prosedur isolasi RNA total. Seluruh peralatan yang akan dipakai drendam dengan air bebas RNase

yaitu DEPC (*diethylpyrocarbon*) dan kemudian disterilisasi. Peneliti menggunakan sarung tangan pada saat melakukan prosedur isolasi RNA untuk mengurangi kontaminasi dari tangan dan mengurangi

HASIL PENELITIAN



DISKUSI

Sebuah sifat yang dimiliki organisme dikendalikan oleh suatu gen yang bertanggung jawab akan si-

kontak RNase pada jari-jari tangan dengan sampel.

Isolasi RNA total yang akan dipakai sebagai cetakan dilakukan dengan menggunakan TRIzol® Reagent. TRIzol® Reagent merupakan larutan gabungan dari monofase fenol dan *guanidine isothiocyanate* yang telah dimodifikasi oleh Chomczynski dan Sacchil. Reagen ini mempertahankan integritas RNA saat proses lisis komponen sel.

Setelah proses isolasi dengan TRIzol® Reagent, tahapan berikutnya adalah penambahan kloroform yang diikuti dengan tahapan sentrifugasi untuk memisahkan larutan menjadi fase cair dan fase organik yang dibatasi oleh interfase. Pada akhir prosedur, RNA dikeringkan dengan cara di *vacuum* untuk mendapatkan RNA yang bebas dari etanol pada tahap pencucian. Etanol yang tersisa pada tabung dapat berpengaruh pada kemurnian RNA saat dilarutkan dengan air bebas RNase (DEPC).

RNA total yang diperoleh dari proses sebelumnya dilarutkan dengan air DEPC kemudian diukur absorbansi dengan menggunakan *UV-spectrophotometer* untuk mengetahui kemurnian RNA. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm.

Proses berikutnya adalah analisis dengan metode RT-PCR. Proses ini diawali dengan pembentukan cDNA dari RNA total. Analisis dengan metode PCR tidak dapat dilakukan menggunakan RNA sebagai cetakan. Sehingga dilakukan proses transkripsi terbalik dengan enzim *reverse transcriptase* sehingga diperoleh molekul cDNA. Enzim ini aktif sampai suhu 55°C. Selanjutnya suhu naik secara otomatis menjadi 94°C dan ditahan (*hold*) selama 4 menit untuk menon-aktifkan enzim *reverse transcriptase* dan mengaktifkan enzim *DNA-polymerase*. Pada suhu inilah proses denaturasi DNA *double helix* menjadi satu untai tunggal DNA. Kemudian suhu turun otomatis menjadi 55°C di mana primer spesifik *msa* akan menempel pada ujung masing-masing basa yang komplemen, proses ini disebut juga *annealing* (penempelan primer). Setelah itu suhu naik menjadi 72°C selama satu menit, pada suhu inilah terjadi pemanjangan (*elongasi*) di mana amplifikasi molekul cDNA terjadi dan reaksi ini akan berulang sebanyak 40 siklus setiap satu menit sekali.

Tahapan berikutnya untuk melihat visualisasi hasil amplifikasi maka dilakukan proses elektroforesis dengan menggunakan gel agarosa 1% yang telah ditambahkan pewarna *ethidium bromide* sebanyak 40 µL untuk mewarnai molekul DNA yang terpisah berdasarkan ukuran masing-masing. Pada prinsipnya, molekul berat RNA yang bermuatan negatif akan menuju kutub katoda (positif) dari kutub anoda (negatif). Densitas DNA hasil dari visualisasi tersebut dapat diukur dengan menggunakan

program *CS Analyzer*.

Hasil visualisasi dari ekspresi gen *msa* kedua isolat dapat dilihat pada Gambar 1. Ekspresi gen kedua isolat baik *Lactobacillus* sp. (1, 3, 5, dan 7-3, 5, dan 7 sebagai ulangan) maupun *Leuconostoc* sp. (2, 4, 6, dan 8-4, 6, dan 8 sebagai ulangan) ditandai dengan pita cDNA yang berwarna terang pada gel agarosa yang tampak terlihat gelap dengan ukuran sekitar 100 pasang basa (pb). Visualisasi pita cDNA dari masing-masing isolat merupakan tanda bahwa terdapat ekspresi gen *msa* yang mengendalikan aktivitas pelekatan protein MSA *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. tersebut di sel epitel usus.

KESIMPULAN

Terdapat ekspresi gen *msa* pada isolat *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. Hal tersebut terlihat dari visualisasi pita cDNA pada ukuran sekitar 100 pb dari masing-masing isolat, sehingga membuktikan bahwa terdapat ekspresi gen *msa* yang mengendalikan aktivitas pelekatan protein MSA *Lactobacillus* sp. dan *Leuconostoc* sp. tersebut pada sel epitel usus.

Daftar Pustaka

1. Fuller, R. Probiotics 1 applications and practical aspects. Chapman and Hall. Great Britain;1997
2. Lisal, J.S. Konsep probiotik dan prebiotik untuk modulasi mikrobiota usus besar. 2005;(26)4:201
3. Surono IS. Probiotik susu fermentasi dan kesehatan. PT. Tri Cipta Karya. Jakarta; 2004
4. Kurnia IS. Analisis aktivitas dan ekspresi gen mannose specific adhesin (*msa*) pada isolat bakteri probiotik genus *Lactobacillus* asal buah markisa ungu (*Passiflora edulis* Sims.). Universitas Padjadjaran Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi. Skripsi; 2009
5. Pretzer GJ, Snel D, Moleenar A, Wiersma PA, Bron J, Lambert WM, de Vos, et al. Biodiversity-based identification and functional characterization of the mannose-specific adhesin of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology* 2005; 187(17):6128-36
6. Boekhorst JM, Wels M, Kleerebezem, dan RJ Siezen. The predicted secretome of *lactobacillus plantarum* WCFS1 sheds light on interactions with Its Environment. *Microbiology* 2006; 152:3175-83
7. Ofek, I., and Doyle, R. Bacterial Adhesion to Cells and Tissues. Chapman and Hall Inc. Newyork; 1994.
8. Adlerberth, I., S. Ahrne, M. L. Johansson, G. Molin, et.al. A Mannose-Specific Adherence Mechanisme in *Lactobacillus plantarum* Conferring Binding to Human Colonic Cell Line HT-29. *Journal of Applied and environmental Microbiology*. 1996;62(7):2244-2251.
9. Tanskanen, J. Expression of Bacterial Adhesins in *E.coli*: from mapping of adhesive epitopes to structure. Faculty of Science Department of Biosciences Division of general Microbiology and Graduate School in Microbiology university of Helsinki. Dissertation; 2002.
10. Biswas, R., E. A. S. Nelson, P. J. Lewindon, D. J. Lyon, P. B. Sullivan, and P. Echeverria. Molecular Epidemiology of *Escherichia coli* Diarrhea in Children in Hong Kong. *Journal Of Clinical Microbiology*. 1996;3233-3234.
11. WHO. Diarrhoeal Diseases. [homepage on the Internet]. [updated 2009 May 16; cited 2002 Jul 10]. Available from: http://www.who.int/vaccine_research/disease/diarrhoeal/en/index.html; 2009.
12. Ramiah, K. Characterization of Adhesion Genes of probiotic Lactic Acid Bacteria. University of Stellenbosch. Dissertation; 2008.
13. Rachmawati, R. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik Genus *Lactobacillus* Asal Buah Mangga Kuwani (*Mangifera odorata* G.) Berdasarkan Aktivitas dan Ekspresi Gen Mannose Specific Adhesin (MSA). Universitas Padjadjaran Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi. Skripsi; 2009

Demam Berdarah Dengue dengan Perubahan Profil Lemak

Anik Widijanti, Loly R D Siagian

Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr Saiful Anwar / FK Unibraw Malang

ABSTRAK

Dilaporkan sebuah kasus seorang penderita wanita 91 tahun dengan diagnosa DBD (demam berdarah dengue) derajat I, yang ditegakkan berdasarkan kriteria WHO dan imunoserologi *dengue rapid test* IgM (ICT) yang positif. Perubahan biokimia pada penderita DD (demam dengue) telah banyak dijumpai dan diketahui juga ditemukannya perubahan pada profil lemak yaitu penurunan kadar kolesterol dan peningkatan kadar trigliserida. Adanya perubahan profil lemak pada penderita DD mungkin disebabkan karena beberapa mekanisme yaitu efek radikal bebas, perubahan ekspresi beberapa protein plasma yang berfungsi dalam metabolisme lemak dan juga penggunaan kolesterol LDL untuk *up take* virus oleh sel. Dalam penelitian akhir-akhir ini, kadar kolesterol total dan HDL, trigliserida dapat menunjukkan tingkat keparahan DD dan dapat dipakai sebagai petanda prognosa infeksi DD.

We reported a case of a woman, 91 years old, who was diagnosed with Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) based on clinical manifestation fever, epigastric pain, bleeding manifestation, thrombocytopenia, and IgM dengue rapid Test ICT positive. Alteration of biochemical marker was found in Dengue Fever (DF) patient such as changes in lipid profile which shows decrease of cholesterol and increase of triglyceride level. These changes were caused by many mechanisms in lipid metabolism such as; the effect of free radicals, changes in protein expression of lipid metabolism and LDL cholesterol use to uptake virus to the cell. In a recent research, total cholesterol, HDL and triglyceride level may reflect severity of DF and became a prognostic factor in DF infections.

PENDAHULUAN

Demam dengue (DD) adalah penyakit infeksi yang disebabkan virus dengue dengan manifestasi klinis yang ditimbulkan berupa demam, nyeri otot dan atau nyeri sendi disertai leukopenia, ruam, limfadenopati, trombositopenia dan diatesis hemoragi. Dengue disebabkan oleh virus dengue yang termasuk dalam genus *Flavivirus* yang terdiri dari 4 serotipe virus yaitu DEN-1, DEN-2, DEN-3 dan DEN-4. Indonesia merupakan wilayah hiperendemis dengan sebaran di seluruh wilayah tanah air. Insiden DD di Indonesia antara 6 hingga 15 per 100.000 penduduk. Penularan infeksi virus dengue terjadi melalui vektor nyamuk genus *Aedes*.¹⁻³

Manifestasi klinis infeksi virus dapat bervariasi mulai dari asimtomatik atau berupa demam yang tidak khas, DD, demam berdarah dengue (DBD) atau sindrom syok dengue (DSS). Pada umumnya penderita mengalami demam selama 2-7 hari yang diikuti oleh fase kritis selama 2-3 hari. Pada waktu ini penderita tidak demam akan tetapi mempunyai risiko untuk terjadi renjatan jika tidak mendapat pengobatan adekuat.¹⁻⁴

Diagnosis DD ditegakkan berdasarkan kriteria WHO 2007 yaitu jika ditemui semua tanda-tanda sebagai berikut yaitu 1). Demam atau riwayat demam akut antara 2-7 hari, 2). Terdapat minimal 1 dari manifestasi perdarahan (uji bendung positif, adanya petekia, ekimosis atau purpura, perdarahan mukosa, hematemesis atau melena), 3). Trombositopenia (trombosit <100.000/ μ l), 4). Terdapat minimal satu tanda-tanda

kebocoran plasma (peningkatan hematokrit >20% dibandingkan standar, penurunan hematokrit >20% setelah terapi cairan atau tanda kebocoran plasma (efusi pleura, *ascites*, hipoproteinemia).¹⁻³

Penelitian sampai saat ini menunjukkan banyak bukti adanya perubahan biokimia pada DD yang berhubungan dengan tingkat keparahan penyakit. Dilaporkan bahwa penderita DD mengalami peningkatan kadar SGOT dan SGPT, amilase, LDH dan CK (*creatin kinase*). Pada DD juga terjadi peningkatan kadar *phospholipase* A2 yaitu protein yang konsentrasinya berhubungan dengan *C-Reactive Protein* (CRP). Penelitian secara *cross-sectional* juga mendapati bahwa pada DD terdapat perbedaan pada kadar kolesterol dan trigliserida serum yang berhubungan dengan keparahan DD.⁵⁻⁸

Laporan kasus ini akan membahas penderita dengan infeksi virus dengue disertai dengan penurunan kadar koleterol total, penurunan kolesterol HDL dan LDL serta peningkatan kadar trigliserida.

KASUS

Seorang wanita, umur 91 tahun masuk rumah sakit pada tanggal 4 Januari 2010. Penderita datang dengan keluhan demam yang disertai dengan keluhan tidak mau makan. Penderita juga mengalami rasa sakit di perutnya. Penderita tidak mual dan muntah. Riwayat batuk-batuk telah dialami penderita sejak 1 tahun terakhir ini.

Pada pemeriksaan fisik didapatkan penderita dalam keadaan sadar, tekanan darah 170/100 mmHg, denyut nadi 100x/menit, frekuensi nafas 20x/menit. Pemeriksaan mata tidak didapatkan anemia dan ikterik. Pemeriksaan leher dalam batas normal. Pemeriksaan jantung dalam batas normal dan sedangkan pada paru didapati adanya ronki basah pada lapangan bawah paru kanan dan kiri. Pemeriksaan abdomen ditemui hepar dan lien tidak teraba dan nyeri pada daerah epigastrium. Pada pemeriksaan kedua ekstremitas atas dan bawah didapatkan ptekie dan uji tourniquet positif, tanpa adanya kelainan lain.

Hasil pemeriksaan darah tepi pada tanggal 4 Januari 2010 didapati Hb 13,1 g/dl, eritrosit 4,45 juta/ μ l, lekosit 5.100/ μ l, trombosit 71.000/ μ l, MCV 94 fl, MCH 29,5 pg, MCHC 31,4 g/dl, PCV 41,8%, RDW 12,8% dengan hitung jenis -/-/82/13/5. Pada pemeriksaan serologi Widal didapati hasil *Typhi* O negatif, *Typhi* H positif (titer 1/320), *Paratyphi* A positif (titer 1/160) dan *Paratyphi* B positif (titer 1/80).

Pada tanggal 5 Januari 2010, dilakukan pemeriksaan darah lengkap dengan hasil sebagai berikut yaitu Hb 13,6 g/dl, eritrosit 4,49 juta/ μ l, lekosit 6.400/ μ l, trombosit 59.000/ μ l, MCV 94 fl, MCH 29,4 pg, MCHC 31,4 g/dl, PCV 43,2%, LED 5 mm/jam, dengan hitung jenis terdiri dari -/-/81/15/4 dengan hasil evaluasi darah tepi eritrosit normokrom normositik, lekosit kesan jumlah normal, trombosit kesan jumlah menurun. Sedangkan hasil pemeriksaan urin lengkap memberikan hasil albumin positif 2 dan parameter lainnya negatif, pada sedimen dijumpai eritrosit 0-2/lpb, lekosit 1-3/lpb.

Pada hari kedua masuk rumah sakit ini juga dilakukan pemeriksaan kimia klinik dengan hasil sebagai berikut kadar glukosa puasa 76 gr/dl, glukosa 2 jam setelah makan 127 gr/dl, ureum 78 mg/dl, kreatinin 1,18 mg/dl, asam urat 5,7 mg/dl, kolesterol total 82 mg/dl, kolesterol HDL 26 mg/dl, kolesterol LDL 6,2 mg/dl, trigliserida 249 mg/dl, bilirubin total 1,29 mg/dl, bilirubin *direct* 0,89 mg/dl, bilirubin *indirect* 0,4 mg/dl, protein total 6,1 g/dl, albumin 2,6 g/dl, globulin 3,5 g/dl, SGOT 95 U/L, SGPT 53 U/L, alkali *phosphatase* 132 U/L, gamma *glutamyl transferase*/GGT 61 U/L.

Pada hari ke 3 masuk rumah sakit dilakukan pemeriksaan darah lengkap kembali dengan hasil Hb 13,0 g/dl, eritrosit 4,4 juta/ μ l, lekosit 7.800/ μ l, trombosit 52.000/ μ l, MCV 92 fl, MCH 29,3 pg, MCHC 32,0 g/dl, PCV 40,8%, RDW 13,0% dengan hitung jenis -/-/79/16/5. Hasil pemeriksaan serologi dengue memberikan hasil dengue IgM positif dan dengue IgG negatif (disimpulkan sebagai dengue primer).

Hasil pemeriksaan darah lengkap pada hari ke 4 masuk rumah sakit adalah sebagai berikut Hb 12,8 g/dl, eritrosit 4,3 juta/ μ l, lekosit 8.300/ μ l, trombosit 33.000/ μ l, MCV 93 fl, MCH 29,7 pg, MCHC 31,8 g/dl, PCV 40,4%,

RDW 13,2% dengan hitung jenis -/-/ 75/20/5. Kemudian trombosit berangsur meningkat dan penderita dipulangkan dengan kadar trombosit normal.

PEMBAHASAN

Diagnosa DD pada penderita ini dapat ditegakkan berdasarkan ditemukannya gejala demam selama lebih dari 2-7 hari disertai rasa nyeri di epigastrium. Manifestasi perdarahan yang ditemukan adalah adanya petekia dan uji bendung yang positif. Selain itu dijumpai juga trombositopenia yang terjadi sejak hari pertama masuk rumah sakit sampai dengan ke-4 MRS yaitu trombosit <100.000/ μ l. Tanda-tanda kebocoran plasma yang didapatkan pada penderita ini adalah adanya hipoproteinemia.¹⁻³ Pada pemeriksaan imunoserologi menunjukkan adanya dengue IgM yang positif pada hari ke-4 dirawat di rumah sakit (RS) (hari ke-7 dari awal panas), yang berarti penderita mengalami infeksi dengue primer. Dengan demikian, diagnosa DD derajat I sudah dapat ditegakkan.

Diagnosa pasti didapatkan dari hasil isolasi virus dengue (*cell culture*) ataupun deteksi virus RNA dengue dengan teknik RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*). Akan tetapi oleh karena tes PCR ini rumit dan mahal, jarang dipakai rutin, maka tes serologis yang mendeteksi adanya antibodi spesifik terhadap dengue berupa antibodi total, IgM dan IgG serta klinis dapat digunakan untuk membantu diagnosa DD.^{1,2,9} Pada pasien ini sayangnya tidak dilakukan pemeriksaan kadar antigen struktural untuk dengue yaitu antigen NS1 yang saat ini sudah banyak beredar. Di mana antigen NS1 sudah dapat timbul pada fase akut. Pengukuran NS1 dengan metode ELISA ditemukan pada 77% sera pada hari 1-8 sesudah onset penyakit, sedangkan Alcon dkk. melaporkan antigen NS1 dapat positif sampai hari ke-9 febris dengan NS1 *antigen-capture* ELISA yang dikembangkannya. Antigen NS1 hanya membutuhkan satu sampel serum, pada fase akut dari infeksi virus dengue. Frekuensi NS1 positif sangat baik pada fase akut dengue primer. Sedangkan pada dengue sekunder deteksi antigen sedikit lebih rendah dibanding dengan deteksi molekular RNA virus. Meskipun pada fase akut dengue sekunder mempunyai sensitifitas sedikit lebih rendah, tetapi NS1 *antigen-capture* ELISA mempunyai harapan jika digunakan pada daerah endemis. Dengue NS1 *antigen-capture* ELISA tidak bereaksi silang dengan virus *West Nile* dan *yellow fever*, sedangkan dengan flavivirus lain masih membutuhkan penelitian lebih lanjut.^{9,10}

Infeksi virus dengue dalam perjalanan penyakitnya juga dapat menimbulkan beberapa kelainan biokimia di antaranya adalah peningkatan enzim hati baik SGOT/AST (*aspartate transaminase*) dan SGPT/

ALT (*alanine transaminase*), hipoproteinemia karena kebocoran plasma, ureum dan kreatinin dapat meningkat jika sudah terdapat gangguan fungsi ginjal. Dari hasil penelitian Kuo CH, dkk. mendapatkan insiden terjadinya kadar abnormal SGOT, SGPT, bilirubin, ALP dan GGT adalah 93,3%; 82,2%; 7,2%; 16,3%; dan 83% berturut-turut. Sebagian besar penderita DD mengalami peningkatan transaminase serum ringan sampai menengah, dan hanya 11,1% dan 7,4% penderita yang mengalami peningkatan SGOT dan SGPT > 400 U/L. Peningkatan transaminase ini mencapai maksimum pada hari ke-9 setelah demam dan turun perlahan mencapai normal dalam 2 minggu. Penderita ini mengalami peningkatan kadar enzim hati yaitu SGOT dan SGPT yang sangat ringan. Peningkatan kadar enzim hati pada penderita DD disebabkan karena terjadinya kelainan patologi pada sel hati walaupun hati bukan merupakan organ target utama. Kelainan patologi hati yang dijumpai pada penderita DD adalah nekrosis sentrilobular, *fatty change*, hiperplasia sel Kupffer, badan asidofilik dan infiltrasi monosit pada saluran portal.⁶ Ray dkk. juga meneliti tentang status abnormalitas petanda biokimia lainnya pada anak dengan DD. Ray mendapatkan adanya abnormalitas kadar SGOT, SGPT, CPK, protein total, kolesterol dan trigliserida berturut-turut 79%, 50%, 30%, 93% dan 67% anak dengan DD. Penelitian ini mendapatkan kadar kolesterol pada DSS (*Dengue Shock Syndrome*), DD dan DEN (*classical dengue*) berturut-turut 77,75 mg/dl, 99,07 mg/dl dan 98,00 mg/dl) sedangkan kadar trigliserida (TG) sebagai berikut 128,25 mg/dl, 162,95 mg/dl dan 212,43 mg/dl. Hal ini menunjukkan pada anak dengan DD terjadi penurunan kadar kolesterol dan peningkatan kadar TG, meskipun perubahan TG secara statistik tidak bermakna di antara ketiga kelompok dengue. Ray menyebutkan bahwa pada DD terjadi produksi oksigen radikal bebas (*oxygen free radical*) secara besar-besaran yang akan menyebabkan *shock*, trauma, infeksi dan proses penyakit lainnya. Lemak merupakan zat yang sangat peka terhadap efek toksik dari radikal bebas. Kolesterol plasma ditemukan sangat rendah pada semua tingkat dengue terutama kelompok DSS. Sebaliknya, kadar TG ditemukan tinggi pada semua kasus dengue terutama kelompok dengue klasik. Rendahnya kadar kolesterol plasma dalam penelitian Ray ini mungkin disebabkan karena efek radikal bebas atau oleh karena ketidakmampuan mendeteksi bentuk kolesterol teroksidasi. Jika kolesterol dioksidasi menjadi *cholest-4-ene-3-one* maka bentuk ini tidak dapat dideteksi dengan metoda analisa enzimatis yang dipakai dalam pemeriksaan rutin.⁷

Pada kasus ini, penderita memiliki kadar kolesterol yang rendah yaitu 82 mg/dl, kolesterol HDL 26

mg/dl, kolesterol LDL 6,2 mg/dl, dan peningkatan kadar trigliserida sebesar 249 mg/dl. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Ray yang mendapati rata-rata kadar kolesterol pada DD adalah 99,07 mg/dl, sedangkan kadar trigliseridanya adalah 162,95 mg/dl.

Pada semua penelitian menunjukkan penurunan kadar kolesterol total dan HDL, sedangkan untuk trigliserida ada yang mengatakan meningkat tetapi yang lain menyebutkan menurun.^{5,8}

Lipoprotein berperan penting dalam patofisiologi respons imun selama proses infeksi berat. Perubahan dalam profil lipoprotein selama infeksi terutama diinduksi oleh sitokin. Pada penderita dengan infeksi bakteri, lipoprotein termasuk VLDL akan terikat pada endotoksin sehingga menyebabkan netralisasi efek toksik dari endotoksin.⁷

Interaksi antara mikroorganisme dan lipoprotein juga terjadi pada infeksi virus. Virus-virus tertentu akan menggunakan reseptor LDL untuk memasuki sel. Hal ini mengimplikasikan bahwa LDL akan berkompetisi dengan virus untuk menduduki reseptor seluler ini. Oleh karenanya, kadar LDL yang tinggi dapat menguntungkan karena dapat menurunkan *uptake* virus oleh sel. Lipoprotein juga dapat mengikat virus dan menetralkan efek toksik virus. Van Gorp mendapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kadar kolesterol plasma, HDL, LDL diantara penderita DD sedang (*grade I* atau *II*), dan DD berat (*grade III* atau *IV*). Penelitian ini mendapatkan bahwa kolesterol, HDL dan LDL dapat digunakan sebagai petanda prognosa untuk memprediksi hasil secara klinik.⁸

Pada penelitian hewan coba, diketahui bahwa metabolisme lemak dan produksi sitokin saling berhubungan. Interaksi antara sitokin dan lipoprotein bersifat *bidirectional*. Lemak terlibat dalam regulasi sitokin sehingga dapat memodifikasi respon imun tuan rumah. Di sisi lainnya, sitokin mempunyai kemampuan untuk memodifikasi metabolisme lemak. TNF- α dan IL-1 dapat menurunkan kadar kolesterol serum, kemungkinan melalui *co-enzim A* (CoA) HMG (*hydroxymethylglutaryl*) *reductase*. Penurunan kadar HDL selama infeksi juga dapat disebabkan oleh mediasi enzim. Peningkatan kadar TG selama infeksi disebabkan karena peningkatan terjadinya lipolisis dan sintesa asam lemak secara *de novo* pada hati. Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa profil lemak plasma pada DD tergantung pada tingkat keparahan DD dan kadar kolesterol sehingga HDL dan LDL dapat digunakan sebagai prediktor potensial untuk *outcome* secara klinik.⁸

Proses inflamasi kronis juga berhubungan dengan perubahan dalam metabolisme lemak yaitu dapat menyebabkan hipertrigliserida dan penurunan bermakna kadar kolesterol HDL. Penurunan kolester-

ol HDL ini berhubungan dengan perubahan ekspresi beberapa protein plasma yang meregulasi metabolisme secara langsung yaitu termasuk CETP, *hepatic lipase*, apolipoprotein A1 (Apo-A1) dan LCAT (*Lecithin*

Cholesterol Acyl Transferase). LCAT merupakan enzim kunci pada transpor kolesterol *reverse* yang sangat penting dalam mempertahankan transpor lemak yang dimediasi HDL dan homeostasis kolesterol.¹¹

Daftar Pustaka

1. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11(3):480-96
2. De Souza LJ, Alves JG, Nougeria RMR et al. Aminotransferase changes and acute hepatitis in patients with dengue fever: analysis of 1,585 kasus. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 2004; 8(2):1-11
3. Suhendro, Nainggolan, Khie Chen, Herdiman TP. Demam berdarah dengue. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi 1. Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI:Jakarta; 2006.p.1731-35
4. Pedoman Tatalaksana Klinis Infeksi Dengue di Sarana Pelayanan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI; 2005
5. Villar Centeno LA, Diaz-Quijano FA, Martinez-Vega RA. Biochemical alterations as marker of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78(3):370-4
6. Kuo Chung-Huang, Tai Dar-in, Chang-Chien Chie-Sin, Lan Chi-Kin, Chiou Shue-Shian, Liaw Yun-Fan. Liver biochemical test and dengue fever. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47(3):265-70
7. Ray G, Kumar V, Kapoor AK, Duta AK, Batra S. Status of antioxidants and other biochemical abnormalities in children with dengue fever. *J of Trop Pediatrics* 1999; 45:4-7
8. Van Gorp E CM, Suharti C, Mairuhu AT, Dolmans WM, van Der Ven J, Demacker PN, et al. Changes in plasma lipid profile as a potential predictor of clinical outcome in dengue hemorrhagic fever. *Clinical Infectious Disease* 2002; 34:1150-3
9. Dussart P, Labeau B, Lagathu G, Louis P, Nunes MRT, Rodrigues SG, et al. Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NA1 antigen in human serum. *Clin and Vaccine Immunology* 2006; 13(11):1185-9
10. Kumarasamy V, Wahab AH, Chua SK, Hassan Z, Chem YK, Mohammad M, et al. Evaluation of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for laboratory diagnosis of acute dengue virus infection. *J of Virol Method* 2007; 140(1-2): 75-9
11. Feister HA, Auerbach BJ, Cole LA, Krause BR, Karathanasis SK. Identification of an IL-6 response Element in the Human LCAT Promoter. *Journal of Lipid Research* 2002 : 43 : 960-70.

Calendar Event

OKTOBER 2010

6th Congress of the Asia Pacific Society on Thrombosis and Haemostasis 2010 (APSTH 2010)
13-16 Oktober 2010, New Grand Hyatt, Nusa Dua Bali

Secretariat:

Division of Hematology – Medical Oncology

Department of Internal Medicine

Medical Faculty, University of Indonesia Dr. Cipto

Mangunkusumo Hospital

Phone/Fax: +62 21 3145646 / +62 21 3926286

E-mail: apsth2010@yahoo.com

Website: <http://www.apsth2010bali.com>

13th International Conference of the Asia Pacific of Surgical Tissue Bank

26-30 Oktober 2009, Padang Bukit Tinggi

Secretariat:

Dr. M Djamil Hospital Tissue Bank

Jl. Perintis Kemerdekaan 25127, Padang – Sumatera Barat

Phone: +62 751 841548

Fax: +62 751 841548

E-mail: tissuebank_padang@yahoo.com

Jakarta Respiratory Clinical Update (JRCU) 2010

29-31 Oktober 2010, Sahid Hotel, Jakarta

Secretariat:

Persahabatan Hospital Asthma Building, 2nd Floor

Persahabatan Raya No. 1, Jakarta 13230

Phone: +62 21 47861454

Fax: +62 21 47861454

NOVEMBER 2010

Jakarta Diabetes Meeting 2010

Diabetes Lipid & Vascular Risks

13-14 November 2010, Mercure Convention Center,

Taman Impian Jaya Ancol, Jakarta

Secretariat:

Division of Endocrinology and Metabolism

Department of Medicine, Faculty of Medicine

University of Indonesia / Cipto Mangunkusumo

Hospital, Jakarta

Phone: 021-3907703 / 3100075

Fax: 021-3928658 / 3928659

E-mail: endocrine@rad.net.id

Anemia pada Gagal Jantung: Paradigma Baru dalam Etiologi dan Tatalaksananya

Kristoforus Hendra Djaya

PPDS Penyakit Dalam FKUI-RSCM Jakarta

ABSTRAK

Penyakit gagal jantung sering disertai dengan anemia. Ada berbagai mekanisme potensial yang dapat berkontribusi terhadap terjadinya kondisi anemia pada gagal jantung, dan biasanya merupakan suatu interaksi yang kompleks antara gangguan kerja jantung itu sendiri, aktivasi neurohormonal dan inflamasi, disfungsi ginjal, serta hiporesponsivitas sumsum tulang.⁷ Anemia defisiensi besi merupakan salah satu penyebab utama gagal jantung anemis sehingga dapat diberikan Rekombinan Eritropoietin manusia atau suplementasi preparat besi peroral.

Kata Kunci: anemia, gagal jantung, eritropoietin

Heart failure is often accompanied by anemia. There are various potential mechanisms that could contribute to the occurrence of anemia in heart failure, and it usually represents a complex interaction between the heart function disturbances, neurohormonal and inflammatory activation, renal dysfunction, and bone marrow hyporesponsiveness.⁷ Iron deficiency anemia is one major cause of anemic heart failure so it can be given recombinant human Eritropoietin or supplementation of iron preparations orally.

Key Words: anemia, heart failure, erythropoietin

PENDAHULUAN

Dalam beberapa tahun terakhir, anemia telah dikenal sebagai suatu kondisi komorbid yang penting dan seringkali terjadi pada pasien yang menderita gagal jantung kronis.^{1,2} Prevalensi anemia pada gagal jantung berkisar antara 4–61%, akibat belum adanya definisi yang jelas dan konsisten mengenai anemia pada gagal jantung itu sendiri.^{1,2} Di lain pihak, karakteristik klinis dari tiap-tiap populasi yang dipelajari juga turut mempengaruhi keragaman angka prevalensi anemia pada gagal jantung, dikarenakan adanya peningkatan prevalensi anemia sejalan dengan semakin memburuknya kondisi gagal jantung yang diderita, usia yang semakin lanjut, dan penyakit ginjal yang terjadi bersamaan.^{1,2}

Kejadian anemia (Hb <13 g/dl pada lelaki dan <12 g/dl pada wanita) pada pasien dengan gagal jantung kronis telah mendapat perhatian lebih akhir-akhir ini. Ezekowitz dkk. menyatakan bahwa suatu profil klinis pasien 'gagal jantung anemis' mulai muncul. Individu tersebut cenderung lebih tua, wanita, memiliki gejala dan tanda gagal jantung yang lebih lanjut, disertai gangguan fungsional yang lebih berat, peningkatan angka perawatan di rumah sakit, dan biasanya disertai dengan riwayat diabetes melitus, insufisiensi ginjal, dan hipertensi.³ Pasien anemis juga memiliki angka puncak konsumsi oksigen yang lebih rendah pada latihan fisik dibandingkan pasien non-anemis.³

Adanya hubungan antara anemia dan gagal jantung makin lama makin terbukti. Anand, et al. dengan menggunakan data dari *North American Study of Erancept in Chronic Heart Failure*, menyatakan bahwa 12% dari subyek penelitiannya memiliki anemia,

dengan kadar hemoglobin (Hb) ≤2 g/dL, dan bahwa anemia berkorelasi langsung dengan peningkatan risiko perumahnya dan mortalitas.⁴ Terdapat hubungan yang serupa dengan 'dose-response relationship' pada sebuah studi besar dengan 2.281 subjek yang dirawat di rumah sakit akibat gagal jantung, di mana hampir separuhnya memiliki hematokrit <37%. Pada studi tersebut, Kosiboro, et al. menunjukkan bahwa setiap penurunan 1% pada kadar hematokrit berhubungan dengan peningkatan mortalitas 2%.⁵ Pada studi tersebut, terdapat peningkatan mortalitas hingga 40% pada subyek dengan hematokrit 27% dibandingkan mereka yang memiliki hematokrit 42%. Peningkatan risiko ini setara dengan risiko yang dimiliki oleh pasien-pasien dengan ejeksi fraksi ventrikular 20%.⁵ Pada penelitian McClellan berbasis komunitas, disimpulkan bahwa penurunan 1% hematokrit berkorelasi dengan peningkatan mortalitas 1,6%.⁶ Oleh sebab itulah, adanya kondisi anemia pada gagal jantung ini menjadi suatu hal yang menarik untuk dipelajari lebih lanjut.

ILUSTRASI KASUS

Seorang laki-laki 56 tahun, datang dengan keluhan utama lemas dan sesak saat beraktivitas sejak 3 minggu sebelum masuk rumah sakit. Sesak terutama dirasakan pasien saat beraktivitas seperti saat berjalan lebih dari 5 meter. Pasien selalu tidur dengan tiga bantal, sering terbangun malam hari karena sesak, namun tidak ada perubahan posisi saat tidur. Saat ini sesak terasa semakin memberat. Pasien juga mengeluhkan adanya batuk sejak 3 minggu sebelum masuk rumah sakit. Batuk berdahak, dahak warna putih,

tidak ada darah. Demam juga terkadang dikeluarkan, keringat malam disangkal, namun pasien suka merasa gerah pada malam hari. Riwayat pengobatan dan penggunaan OAT (Obat Anti Tuberkulosis) disangkal. Terdapat penurunan berat badan sekitar 15 kg, dari 75 kg menjadi 60 kg. Terdapat juga mual bila makan dan nyeri perut, tapi tidak terdapat muntah. Nafsu makan pasien juga menurun. BAB dan BAK lancar. Pasien sudah memiliki riwayat hipertensi sebelumnya dan saat ini dalam pengobatan dengan Captopril 2x12,5 mg. Riwayat sakit maag, diabetes, asma, ginjal dan sakit jantung disangkal. Riwayat penyakit keganasan, diabetes, jantung, dan hipertensi dalam keluarga juga disangkal.

Pada pemeriksaan fisik didapatkan kondisi pasien tampak sakit sedang dengan kesadaran kompos mentis, tekanan darah 100/50 mmHg, nadi 130x/menit, suhu 36,9°C, dan pernapasan 20x/menit. Konjungtiva pasien pucat, namun sklera tidak ikterik. Terdapat peninggian tekanan vena jugularis, yaitu 5+0 cmH₂O. Bunyi jantung I dan II normal, tidak terdengar suara gallop, namun terdapat murmur. Pada pemeriksaan paru didapati bahwa paru kanan bunyi napas vesikular, namun bunyi napas paru kiri melemah, tanpa terdengar ronki maupun wheezing. Pada perkusi paru didapati bunyi perkusi sonor pada paru kanan, namun bunyi meredup pada paru kiri, diikuti fremitus paru kiri yang melemah. Pada pemeriksaan abdomen, didapati adanya perut yang membuncit, lemas, nyeri tekan di ulu hati, terdapat asites, bisping usus terdengar normal dan pada perabaan hati maupun limpa tidak teraba. Pada pemeriksaan ekstremitas didapati adanya kaku pada jari-jari dan edema pada ekstremitas.

Pada pemeriksaan laboratorium didapati adanya kelainan anemia mikrositik hipokrom (Hb: 4,2 g/dL; Ht: 10,7%; MCV: 71,7 fL; MCH: 18 pg; MCHC: 25,1 g/dL; Leukosit: 6900/μL; Trombosit: 392.000/μL). Kadar ureum pasien 67 mg/dL, kreatinin 3,8 mg/dL, gula darah sewaktu 91 mg/dL. Kadar elektrolit: Na: 131,5 mEq/L; K: 5 mEq/L; Cl: 111,9 mEq/L (hiponatremia ringan kemungkinan karena hemodilusi). Pada pemeriksaan EKG didapati ritme jantung sinus takikardia, normoaxis, nadi 108x/menit, PR interval normal, RBBB (-), LBBB (-), LVH (-), RVH (-), perubahan segmen ST-T tidak ditemukan, namun terdapat *poor R progression* V1–V6. Pada pemeriksaan radiologis toraks didapatkan adanya efusi pleura sinistra dengan infiltrat perihiler kanan.

Dari data di atas, ditegaskan masalah yang ada saat pasien datang adalah CHF (*Congestive Heart Failure*) kelas III-IV karena anemia berat dengan diagnosis banding CAD (*Coronary Arterial Disease*); pneumonia atau TB paru dengan infeksi sekunder; efusi pleura kiri kemungkinan karena infeksi atau

keganasan; anemia mikrositik hipokrom kemungkinan disebabkan oleh penyakit kronis dengan diagnosis banding defisiensi besi dan *occult bleeding*; AKI (*Acute Kidney Injury*) atau *acute on CKD* (*Chronic Kidney Disease*); hipertensi *grade* I terkontrol; hiponatremia ringan; dispepsia dengan *intake* sulit; dan suspek hiperurisemia.

Untuk masalah jantung dan hipertensinya, direncanakan untuk dilakukan pemeriksaan *echocardiography*, *corangiography*, serta ditatalaksana dengan pemberian diuretika furosemide 1x40 mg dan *aldactone* 1x25 mg, restriksi cairan 600 cc/24 jam, serta pengukuran balans cairan, yaitu dengan memasang kateter foley dan UMU balans cairan -300 cc/24 jam. Selain itu pasien mendapatkan terapi seftriakson 1x2 gram dan azitromisin 1x500 mg, serta ekspektoran ambroksol 3x1.

Pasien mendapatkan transfusi darah pertama sehingga hemoglobin 5,9 g/dL. Transfusi kedua, Hb menjadi 6,23 g/dL; hematokrit 20,2%; MCV 73,6 fL; MCH 22,7 pg; MCHC 30,9 g/dL. Kadar Hb 8,86 g/dL dicapai pada hari kelima perawatan, dilakukan pemberian transfusi ulang dengan premedikasi difenhidramin 1 ampul dan lasix 1 ampul IV. Pasca transfusi pada hari yang sama telah dilakukan pemeriksaan DPL post transfusi dengan hasil: Hb: 10,6 g/dL; Ht: 3,2%; MCV: 79,2 fL; MCH 25,9 pg; MCHC 32,7 g/dL.

Dilakukan pungsi pleura pada efusi pleura kiri, dikeluarkan cairan sero-xantochrome (kuning) sebanyak 30 cc. Tidak ditemukan BTA pada cairan pleura, sputum BTA +3, sehingga ditegaskan diagnosis TB paru BTA (+) lesi luas kasus baru dan pemberian regimen OAT dimulai dengan regimen R/H/Z/E: 450/300/1000/1000.

Hasil pemeriksaan asam urat 13,3 mg/dL (tinggi), sehingga ditegaskan diagnosis hiperurisemia dan diterapi dengan allopurinol 1x300 mg. Terjadi perbaikan kadar natrium (Na: 137,4 mEq/L). Hari perawatan selanjutnya pasien sudah tak tampak sesak, JVP 5-2 cmH₂O, asites dan edema sudah menghilang, sehingga diagnosis pada pasien ini direvisi menjadi CHF kelas II-III (perbaikan).

Pasien dievaluasi dengan daftar masalah efusi pleura kiri perbaikan karena TB paru BTA (+) atau keganasan; CHF kelas I-II karena anemia berat perbaikan; AKI atau *acute on CKD*; hipertensi *grade* I terkontrol; hiperurisemia; dan dispepsia dengan *intake* sulit perbaikan. Pasien diberikan infus TE 500/12 jam dan D5% 500 cc/12 jam serta diet lunak 1700 Kal, ranitidin 2x1 ampul dan ondansetron 3x4 mg IV. Hasil biopsi pleura menyatakan hanya tampak jaringan nekrotik; bahan tidak representatif dan direncanakan untuk dilakukan *CT scan* toraks dengan kontras.

Hasil laboratorium Feritin: 130,47 ng/mL (normal), SI

(Fe): 28 µg/dL (rendah), TIBC: 209 µg/dL (rendah), sehingga pasien didiagnosa sebagai anemia defisiensi besi.

DISKUSI KASUS

Penyakit jantung koroner (CAD) mungkin merupakan salah satu etiologi gagal jantung. Adanya riwayat hipertensi sebelumnya yang sudah lama dan dalam pengobatan kronis melengkapi faktor risiko terjadinya gagal jantung pada pasien ini, serta dapat pula menjadi etiologi lain dari gagal jantungnya.

Terdapat gejala lemas dan tanda konjungtiva anemis serta hasil Hb awal 4,2 g/dL. Anemia berat ini dapat menyebabkan gagal jantung karena anemia mengakibatkan insufisiensi perfusi oksigen ke miokard dan pada akhirnya dekompensasi kardis.

Ada berbagai mekanisme potensial yang dapat berkontribusi terhadap terjadinya kondisi anemia pada gagal jantung, dan biasanya merupakan suatu interaksi yang kompleks antara gangguan kerja jantung itu sendiri, aktivasi neurohormonal dan inflamasi, disfungsi ginjal, serta hiporesponsivitas sumsum tulang.⁷

Eksistensi volume plasma seringkali terjadi pada pasien gagal jantung dan oleh sebab itu, anemia yang seringkali terjadi adalah akibat hemodilusi dibandingkan anemia yang benar-benar disebabkan oleh penurunan jumlah eritrosit. Androne dkk. melaporkan bahwa hemodilusi terjadi pada hingga 46% dari pasien gagal jantung anemis.⁸ Kadar eritropoietin mungkin saja normal atau bisa jadi sedikit meningkat pada pasien gagal jantung kronis.¹ Peningkatan produksi eritropoietin renal dapat terjadi akibat stimulasi renal oleh kondisi hipoperfusi dan hipoksia. Namun demikian, pasien dengan gagal jantung ini dapat memiliki resistensi relatif terhadap eritropoietin akibat pengaruh sitokin pro-inflamasi atau malnutrisi.²

Sitokin pro-inflamasi akan meningkat sejalan dengan tingkat keparahan penyakit pasien dan hal ini merupakan prediktor dari perburukan klinis. *Tumor Necrosis Factor-α* (TNF-α), interleukin-1, dan interleukin-6 memiliki efek langsung terhadap fungsi sumsum tulang dan berimplikasi terhadap munculnya anemia pada penyakit kronis.² Ezekowitz dkk. juga melaporkan bahwa hingga 58% pasien gagal jantung memiliki anemia pada penyakit kronis.³ Pada suatu percobaan binatang untuk penyakit gagal jantung, jumlah sel-sel progenitor sumsum tulang dan kapasitas proliferasinya menurun hingga 40–50%.² Peningkatan apoptosis sel-sel progenitor sumsum tulang hingga mencapai 3 kali lipat dan berkorelasi secara signifikan dengan peningkatan ekspresi TNF-α/Fas.² Suatu hubungan terbalik antara TNF-α dan kadar hemoglobin plasma juga telah

dibuktikan.² Dari fakta di atas, suatu hipotesa dapat kita simpulkan bahwa aktivasi inflamasi merupakan suatu kontributor penting terjadinya anemia pada populasi pasien-pasien ini.⁷

Defisiensi besi merupakan suatu penyebab potensial lain terhadap terjadinya anemia pada pasien dengan gagal jantung. Asupan nutrisi yang buruk seringkali terjadi pada pasien dengan penyakit lanjut dan dapat membatasi absorpsi besi. Malabsorpsi gastrointestinal, penggunaan aspirin kronis, serta gastritis uremikum, semuanya dapat mempresipitasi anemia defisiensi besi.⁷ Ezekowitz dkk. telah melaporkan defisiensi besi sebagai etiologi anemia pada sekitar 21% pasiennya.³

Selain itu, terapi *angiotensin-converting enzyme* (ACE) *inhibitor* juga dapat mereduksi konsentrasi hemoglobin melalui jalur penurunan sekresi eritropoietin renal.² van der Meer, et al. melaporkan bahwa *tetra-peptide*, *N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline*, yaitu suatu inhibitor hematoopoiesis dan substrat untuk ACE, meningkat pada pasien anemis dibandingkan pasien gagal jantung non-anemis dan subyek kontrol.⁹ Aktivitas ACE serum tampaknya 73% lebih rendah pada pasien gagal jantung anemis dan serum pasien-pasien ini menghambat proliferasi in vitro sel-sel progenitor eritropoietik sumsum tulang yang diambil dari donor sehat. Hal ini menunjukkan adanya peran inhibisi dari *tetra-peptide* terhadap sistem hematoopoiesis dan menjelaskan sebagian penyebab terjadinya anemia pada pengobatan dengan ACE *inhibitor*. Beberapa bukti menunjukkan bahwa penurunan hematokrit yang terjadi lebih rendah pada penggunaan *angiotensin-receptor blocker*.⁷

Pada pasien ini anemia kemungkinan besar disebabkan oleh defisiensi besi. Hal ini terbukti dari hasil laboratorium saat pasien masuk rumah sakit: Hb : 4,2 g/dL; Ht: 10,7%; MCV: 71,7 fL; MCH: 18 pg; MCHC: 25,1 g/dL; yang mencerminkan anemia mikrositik hipokrom. Hasil Feritin: 130,47 ng/mL (normal), SI (Fe): 28µg/dL (rendah), TIBC: 209 µg/dL (rendah), menegakkan diagnosis anemia defisiensi besi pada pasien ini. Seperti dikemukakan oleh Dec bahwa anemia defisiensi besi bisa disebabkan oleh asupan nutrisi yang buruk, malabsorpsi gastrointestinal, penggunaan aspirin kronis, maupun gastritis uremikum. Pada pasien ini terjadi dispepsia yang menyebabkan asupan nutrisi pasien menjadi sangat menurun. Namun demikian adanya gangguan fungsi ginjal yang menyebabkan peningkatan kadar ureum pada pasien ini mungkin juga dapat menjadi salah satu penyebab gastritis uremikum yang pada akhirnya menyebabkan penurunan asupan nutrisi.

Salah satu kemungkinan lain penyebab kondisi anemia pada pasien ini adalah pengobatan jangka

panjang menggunakan *captopril* (*ACE Inhibitor*). Seperti telah dikemukakan di atas oleh van der Meet dkk. ACE inhibitor memberikan peran inhibisi langsung terhadap sistem hematopoiesis melalui penghambatan proliferasi sel-sel progenitor eritropoietik sumsum tulang. Hemodilusi dapat saja terjadi pada pasien gagal jantung anemis, demikian juga penyakit kronis yang menyebabkan pengeluaran sitokin-sitokin proinflamasi dapat juga menjadi salah satu faktor penyebab anemia pada pasien ini, mengingat pada pasien ini terdapat hipertensi, AKI atau *acute on CKD*, serta TB paru.

Nanas dkk. dalam penelitiannya mengevaluasi 37 pasien yang dirawat dengan gagal jantung dan anemia yang signifikan, di mana pasien dengan gagal ginjal yang nyata atau penyakit-penyakit lain yang menyebabkan anemia dieksklusikan dari studi, dan dilanjutkan dengan evaluasi hematologi ekstensif dengan pengukuran vitamin B₁₂, asam folat, TSH, eritropoietin, LDH, tes *Coombs*, pemeriksaan multipel feses darah samar, hingga aspirasi sumsum tulang. Pasien yang tidak terdiagnosis melalui metode-metode tersebut dilakukan pengukuran massa eritrosit menggunakan *assay* kromium-51. Hasil yang dilaporkan berbeda cukup signifikan dibandingkan penelitian sebelumnya, di mana dikemukakan bahwa anemia defisiensi besi yang telah dikonfirmasi dengan aspirasi sumsum tulang terjadi pada 27 (73%) pasien, 19% mengalami anemia penyakit kronis, dan hanya 5% yang predominan anemia dilusional. Walaupun MCHC relatif lebih rendah pada pasien-pasien defisiensi besi, dikatakan bahwa kadar SI maupun feritin tidak dapat diandalkan sebagai petanda defisiensi besi. Nanas dkk. menekankan perlunya aspirasi sumsum tulang untuk membedakan anemia defisiensi besi pada pasien-pasien gagal jantung anemis.¹⁰

Felker, et al. juga menganalisa secara retrospektif hasil dari studi OPTIME-CHF (*Outcomes of Prospective Trial of Intravenous Milrinone for Exacerbations of Chronic Heart Failure*) dan menemukan bahwa kadar hemoglobin secara independen dapat memprediksi *adverse event*. Setiap penurunan 1 g/dL kadar hemoglobin saat pasien pertama kali masuk rumah sakit, terdapat peningkatan 12% peluang kematian atau perawatan ulang di rumah sakit dalam jangka 60 hari saat pengobatan masih dikontrol.¹

Anemia bisa jadi merupakan suatu petanda faktor-faktor risiko yang meningkatkan risiko mortalitas pada pasien gagal jantung. Misalnya, anemia seringkali berhubungan dengan kerusakan fungsi ginjal. Anemia dapat juga menjadi marker akan tingginya sitokin dan kemokin dalam sirkulasi, yang diprediksi akan meningkatkan mortalitas pada populasi pasien gagal jantung.² Perubahan hemodinamik juga

biasanya menyertai anemia berat, termasuk peningkatan *preload*, penurunan resistensi vaskuler perifer, dan peningkatan *cardiac output*. Respon adaptif ini biasanya mengarah pada peningkatan massa ventrikel kiri yang ke arah merusak. Anand dkk. melaporkan bahwa peningkatan 1 g/dL konsentrasi hemoglobin berkorelasi dengan penurunan 4,1 g/m² indeks massa ventrikel kiri dalam jangka waktu 24 minggu. Peningkatan massa ventrikel kiri secara konsisten telah menjadi salah satu faktor risiko yang signifikan terhadap prognosis yang buruk.^{4,12} Iskemia miokard juga dapat dipresipitaskan oleh penurunan kapasitas transpor oksigen dikombinasi dengan peningkatan massa ventrikel kiri dan peningkatan stress dinding jantung. Selain itu, anemia juga berhubungan dengan peningkatan reversibel plasma katekolamin dan densitas $\alpha 2$ -*receptor* pada pasien dengan gagal ginjal. Pada akhirnya, peningkatan kerja miokard kronis dan stimulasi adrenergik yang disebabkan oleh penurunan kapasitas transpor oksigen akan menyebabkan progresifitas gagal jantung dan mempercepat *remodelling* ventrikel yang merusak.⁷

Pendekatan Terapi terhadap Pasien-Pasien dengan Gagal Jantung Anemis.

Rekombinan eritropoietin manusia telah dipelajari dalam beberapa studi kohort terhadap beberapa pasien gagal jantung. Silverberg dkk., dalam suatu studi tanpa kontrol mengemukakan adanya peningkatan ejeksi fraksi, NYHA *functional class*, dan angka perumahnya setelah pengobatan dengan menggunakan eritropoietin dan pemberian preparat besi pengganti secara intravena, pada pasien-pasien gagal jantung NYHA *functional class III or IV*.¹³ Mancini dkk. juga melaporkan pasien-pasien yang diterapi dengan eritropoietin yang mengalami perbaikan yang signifikan pada kadar ambilan oksigen puncak di sebuah penelitian *randomized, single-blinded, placebo controlled, 3 month trial* terapi eritropoietin pada pasien anemis dengan gejala lanjut.¹⁴

Analog eritropoietin yang lebih mutakhir telah diteliti, seperti *darbepoetin-a*, yang memiliki waktu paruh lebih panjang dan frekuensi pemberian yang lebih jarang. Namun demikian, eritropoietin masih tetap menjadi pilihan yang mahal dan biasanya hanya diberikan untuk jangka waktu pendek. Pada suatu populasi di mana ditemukan pasien-pasien anemia akibat defisiensi besi yang cukup banyak, pemberian preparat besi pengganti secara oral atau intravena untuk jangka panjang merupakan terapi alternatif yang lebih efektif dan hemat.

Pada pasien ini, pengobatan yang paling tepat adalah suplementasi preparat besi. Eritropoietin

mungkin pada tempatnya juga untuk diberikan, mengingat pasien memiliki gangguan fungsi ginjal. Namun demikian, dari segi biaya dan efektifitas, pemberian eritropoietin kurang efektif untuk diberikan pada pasien ini, mengingat pasien memiliki keterbatasan dana.

KESIMPULAN

Anemia merupakan suatu kondisi yang dapat meningkatkan angka mortalitas dan perawatan ulang di rumah sakit pada pasien gagal jantung, melalui beberapa kemungkinan mekanisme patofisiologi yang memperburuk kondisi dan penyakitnya. Gagal jantung anemis ini dapat disebabkan oleh berbagai mekanisme dan faktor risiko yang saling berinteraksi, termasuk di antaranya adalah gangguan kerja jantung itu sendiri, neurohormonal, aktivasi

sistem inflamasi, gangguan fungsi ginjal, serta hiporesponsivitas sumsum tulang. Anemia defisiensi besi merupakan salah satu penyebab utama gagal jantung anemis. Dan dari beberapa penelitian mutakhir, pemberian eritropoietin atau analognya memberikan harapan baru untuk perbaikan gejala maupun prognosis. Namun demikian, karena tingginya biaya yang dibutuhkan untuk pemberian eritropoietin ini, dan tingginya angka kejadian defisiensi besi, maka suplementasi besi per oral ataupun intravena dapat dijadikan pilihan.

Penelitian prospektif maupun RCT (*Randomized Control Trial*) terhadap pasien-pasien anemia dengan gagal jantung masih diperlukan untuk dapat menjawab pertanyaan-pertanyaan krusial, di mana apakah perbaikan dari anemia akan benar-benar menghasilkan perbaikan optimal pada populasi dengan risiko tinggi.

Daftar Pustaka

1. Felker GM, Adams KF, Gattis WA, O'Connor CM. Anemia as a risk factor and therapeutic target in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:959-66
2. Tang YD, Katz SD. Anemia in chronic heart failure: prevalence, etiology, clinical correlates and treatment options. *J Circulation* 2006;113: 2454-61
3. Ezekowitz JA, McAlister FA, Armstrong PW. Anemia is common in heart failure and is associated with poor outcomes. Insights from a cohort of 12,065 patients with new-onset heart failure. *Circulation* 2003; 107:223-5.
4. Anand J, McMurray JJV, Whitmore J, Warren M, Pham A, McCamish MA, et al. Anemia and its relationship to clinical outcome in heart failure. *Circulation* 2004; 110:149-54
5. Kosiborod M, Smith GL, Radford MJ, Foody JM, Krumholz HM. The prognostic importance of anemia in patients with heart failure. *Am J Med.* 2003;114:112-19. Abstract.
6. McClellan WM, Flanders WD, Langston RD, Jurkowitz C, Presley R. Anemia and renal insufficiency are independent risk factors for death among patients with congestive heart failure admitted to community hospitals: a population based study. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13:1928-36
7. Dec GW. Anemia in Heart Failure: Time to Rethink Its Etiology and Treatment? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006;48:2490-92.
8. Androne AS, Katz SD, Lund L, LaManca J, Hudaihed A, Hryniewicz K, et al. Hemodilution is common in patients with advanced heart failure. *Circulation* 2003; 107:226-9
9. van der Meer P, Lipsic E, Westenbrink D, van de Wal RMA, Schoneemaker RG, Velenga E, et al. Levels of hematopoiesis inhibitor N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline partially explain the occurrence of anemia in heart failure. *Circulation* 2005; 112: 1743-7
10. Nanas JN, Matsouka C, Karageorgopoulos D, Leonti A, Drakos SG, Tsagalou EP, et al. Etiology of anemia in patients with advanced heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48:2485-9
11. Mozaffarian D, Nye R, Levy WC. Anemia predicts mortality in severe heart failure. The Prospective Randomized Amlodipine Survival Evaluation (PRAISE). *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:1933-9
12. Al-Ahmad A, Rand WM, Manjunath G, Konstam MA, Salem DN, Levey AS, et al. Reduced kidney function and anemia as risk factors for mortality in patients with left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:955-62
13. Silverberg DS, Wexler D, Sheps D, Blum M, Keren G, Baruch R, et al. The effect of correction of mild anemia in severe, resistant congestive heart failure using subcutaneous erythropoietin and intravenous iron: a randomized controlled study. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1775-80.
14. Mancini DM, Katz SD, Lang CC, LaManca J, Hudaihed A, Androne AS, et al. Effect of erythropoietin on exercise capacity in patients with moderate to severe chronic heart failure. *Circulation* 2003;107:294-9.

Produksi Nanosuspensi Ibuprofen dengan Menggunakan Metode Homogenisasi Tekanan Tinggi (*High Pressure Homogenization-HPH*)

Rachmat Mauludin,^{*,**} dan Rainer H. Müller*

*Department of Pharmaceutical Technology Biopharmaceutics & NutriCosmetics, Free University of Berlin. Kelchstr. 31. D-12169 Berlin. Germany

** School of Pharmacy, Bandung Institute of Technology, Bandung

ABSTRAK

Ibuprofen telah banyak diketahui sebagai antiinflamasi non-steroid dari kelompok senyawa turunan asam fenilpropionat. Keterbatasan dari ibuprofen ini adalah kelarutan yang buruk pada kondisi asam yang dapat disertai dengan tertundanya onset kerja obat. Nanonisasi dapat mengatasi masalah ini dengan cara meningkatkan kelarutan kinetik dan meningkatkan kecepatan pelarutannya. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kinerja homogenisasi (*high pressure homogenization-HPH*) dan penggilingan bola (*ball milling-BM*).

Nanosuspensi Ibuprofen (terdiri atas ibuprofen, stabilizer dan air) dengan ukuran partikel yang cukup sebagai nanopartikel dapat diperoleh setelah homogenisasi tekanan tinggi (HPH) dan *ball milling* (BM). Micron LAB 40 (APV *Homogenizers*, Unna, Germany) dipergunakan pada proses HPH dan *Planetary Mono Mill* "pulverisette 6" (Fritsch GmbH, Idar Oberstein, Germany) untuk proses BM. *Photon correlation spectroscopy* (PCS) (Malvern Zetasizer IV) dan *laser diffraction* (LD) (Coulter LS 230) dipakai untuk menentukan ukuran partikel. Kestabilan fisik nanosuspensi juga diamati selama penyimpanan 30 hari.

Kristal keras ibuprofen dapat secara sukses diproduksi menjadi nanosuspensi dengan HPH. Nanosuspensi ibuprofen memiliki ukuran partikel 929 nm. Distribusi ukuran partikel dengan LD menunjukkan 50% partikel (d50%) mempunyai ukuran lebih kecil dari 1,094 µm. Sebaliknya BM hanya menghasilkan mikrokristal ibuprofen. Rerata ukuran partikel paling kecil setelah 40 menit penggilingan bola, adalah sebesar 1270 nm. Distribusi ukuran partikel dinyatakan dengan d50% sebesar 2.066 µm dan d99% sebesar 5.893 µm menunjukkan ketidakmampuan BM untuk menghasilkan nanokristal dari kristal keras ibuprofen. Waktu penggilingan yang lebih lama juga tidak dapat memperbaiki hasilnya. Berkaitan dengan stabilitas fisik, nanosuspensi ibuprofen dapat dipertahankan ukuran partikelnya dalam rentang nanometer selama 14 hari.

Kata kunci: nanosuspensi, nanokristal, ibuprofen, zeta potensial, stabilitas fisik

ABSTRACT

Ibuprofen is known as a proven, non-steroidal antiphlogistic from the group of phenylpropionic acid derivatives. The main problem associated with ibuprofen are the poor solubility under acidic conditions and a undesired delayed action. Nanonization can solve this problem by higher saturation solubility and faster dissolution velocity. The performance of high pressure homogenization (HPH) and Ball Milling (BM) was compared in this study.

Ibuprofen nanosuspensions consisting of ibuprofen, stabilizer and water, were investigated whether a sufficiently particle size of drug nanocrystals could be obtained after homogenization (HPH) and Ball Milling (BM) process. A Micron LAB 40 (APV Homogenizers, Unna, Germany) was used for the HPH and a Planetary Mono Mill "pulverisette 6" (Fritsch GmbH, Idar Oberstein, Germany) for the BM. Photon correlation spectroscopy (PCS) (Malvern Zetasizer IV) and laser diffraction (LD) (Coulter LS 230) were employed to determine the particle size. Physical stability of the nanosuspensions were also investigated during storage for 30 days.

The very hard crystalline ibuprofen could be successfully processed with HPH. This SDS-stabilized nanosuspension showed a PCS size average of 929 nm. The LD volume size distribution showed that 50% (d50%) of the particles were smaller than 1.094 µm. In contrast BM lead only to ibuprofen microcrystals. The minimum size was achieved after 40 min milling time, the PCS size-average was 1270 nm. The volume size distribution d50 % of 2.066 µm and d99% of 5.893 µm have proven a insufficient BM performance for this hard material. Longer milling times could not improve the results. Regarding physical stability of the ibuprofen nanosuspension, the nanosuspension could retain the particle size distribution in the nanometer range within 14 days.

Key words: nanosuspensions, nanocrystals, ibuprofen, zeta potential, physical stability

PENDAHULUAN

Salah satu isu utama yang menjadi tantangan farmasis dalam pengembangan bentuk sediaan farmasi adalah kelarutan yang kecil dari senyawa aktif farmasi (zat aktif) di dalam air. Hampir 40 persen senyawa aktif farmasi yang sedang atau baru saja di sintesa merupakan senyawa yang sangat sukar larut dalam air.¹⁻⁵ Apabila senyawa aktif tersebut diberikan kepada pasien, kemungkinan besar akan memberikan bioavailabilitas yang rendah karena kelarutan yang sangat kecil di dalam saluran pencernaan dan disebabkan proses absorpsi yang tidak sempurna atau malah tidak diabsorpsi sama sekali. Akibatnya

terjadi kehilangan efek terapeutik dari senyawa aktif farmasi tersebut. Banyak sekali senyawa aktif farmasi yang baru saja disintesa gagal dikomersialisasikan akibat dari isu ketidaklarutan atau kelarutan yang sangat rendah dari senyawa tersebut di dalam air.

Berkaitan dengan masalah di atas, para peneliti terus berusaha untuk dapat meningkatkan kecepatan pelarutan senyawa aktif farmasi yang sukar larut dalam air dengan tujuan untuk meningkatkan bioavailabilitasnya di dalam tubuh. Beberapa strategi yang telah dikembangkan untuk meningkatkan kecepatan pelarutan diantaranya adalah ko-kristalisasi,⁶ penggunaan *superdisintegrant* dalam sediaan tablet,⁷ penyisipan zat aktif dalam siklodekstrin,^{8,9}

penggunaan teknik dispersi padat,¹⁰⁻¹² dan pembentukan nanopartikel dari bentuk amorf senyawa aktif farmasi.¹³ Di antara penggunaan teknik-teknik di atas, dispersi padat merupakan teknik yang paling sering digunakan. Akan tetapi mempunyai kelemahan, seperti kesulitan dalam proses produksi secara komersial dan masalah stabilitas fisiknya. Alternatif lain adalah dengan penggunaan bahan silika mesopori yang merupakan bahan pembantu sediaan farmasi.¹⁴ Senyawa aktif farmasi disisipkan ke dalam pori-pori berukuran nanometer yang terdapat dalam silika tersebut sehingga dapat membantu meningkatkan kecepatan pelarutannya. Keterbatasan dari teknik ini adalah sangat tergantungnya jumlah senyawa aktif yang dapat tersisipkan dalam silika dan ketersediaan mesopori silika di pasaran.

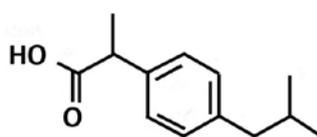
Dalam 10 tahun terakhir ini telah dikembangkan pendekatan lain untuk meningkatkan kelarutan dan kecepatan pelarutan senyawa aktif farmasi, yaitu dengan mereduksi ukuran partikel senyawa aktif farmasi sampai ke ukuran yang ada dalam rentang nanometer atau submikron. Penurunan ukuran partikel tersebut berarti peningkatan luas permukaan, peningkatan kecepatan pelarutan dan dapat pula meningkatkan kelarutan senyawa aktif farmasi tersebut dalam air. Beberapa senyawa aktif farmasi dapat ditingkatkan bioavailabilitasnya setelah mereduksi ukuran partikelnya menjadi ukuran nanometer seperti yang dikerjakan oleh Liversidge et al.^{15,16} Danazol yang merupakan senyawa aktif dengan sifat kelarutan yang sangat rendah dapat ditingkatkan bioavailabilitasnya menjadi 85% setelah pemberian nanopartikel danazol secara oral kepada anjing percobaan.¹⁵

Penurunan ukuran senyawa aktif farmasi menjadi ukuran nanometer dapat dicapai melalui berbagai macam cara, yang secara garis besar dapat dibedakan menjadi dua teknik, yaitu teknologi *bottom-up* dan *top-down*. Teknologi *bottom-up* di antaranya dilakukan dengan menggunakan metode pengendapan (*precipitation method*) dari senyawa yang sukar larut air dalam dua media pelarut yang saling bercampur.¹⁷⁻²⁰ Sementara teknologi *top-down* dimulai dengan menghaluskan partikel kasar dalam media cair yang biasa disebut makrosuspensi. Penghalusan partikel dapat dilakukan dengan cara *pearl/ball milling*,^{17,21} homogenisasi dalam tekanan tinggi (*high pressure homogenization-HPH*), dalam air²² atau media bebas air,²³ atau dengan kombinasi teknologi seperti metode pengendapan yang dilanjutkan dengan HPH²⁴ atau *ball milling* yang dilanjutkan dengan metode HPH²⁵.

Dari berbagai teknik produksi nanopartikel tersebut, HPH mempunyai beberapa macam keunggulan, di antaranya adalah proses yang dilakukan

tidak terlalu lama, hanya digunakan satu media saja dan dapat menghasilkan nanopartikel sampai ukuran sekitar 60 nm.²⁶

Ibuprofen merupakan obat antiinflamasi non-steroid (*a nonsteroidal anti-inflammatory drug-NSAID*) yang mengandung gugus turunan asam propionat (Gambar 1). Obat ini bekerja dengan menghambat aktivitas enzyme siklooksigenase yang mengkatalisis transformasi asam lemak tak jenuh menjadi prostaglandin. Beberapa peneliti meyakini bahwa salah satu mekanisme kerja obat ini sebagai analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi adalah melalui penghambatan produksi prostaglandin. Obat ini dapat digunakan juga sebagai antiinflamasi yang pada kondisi rematik atau inflamasi akut lainnya.²⁷



Gambar 1. Struktur kimia ibuprofen

Pada umumnya ibuprofen sangat cocok digunakan untuk mengobati rasa nyeri, khususnya rasa nyeri yang berkaitan dengan sistem muskuloskeletal, juga sakit kepala, sakit setelah operasi, pusing dan lain-lain. Dengan pemberian ibuprofen rasa sakit yang menyertai arthritis ataupun rematik kronik dapat dikurangi dan pergerakan sendi dapat ditingkatkan. Ibuprofen juga bekerja dengan baik untuk mengatasi *spondylitis ankylosans (Bechterew disease)*, *juvenile rheumatoid arthritis*, dan kejang-kejang. Akan tetapi sebagai golongan NSAID, ibuprofen hanya dapat mengobati gejala inflamasi, sehingga tidak tepat digunakan untuk pengobatan jangka panjang.²⁸

Beberapa istilah tentang nanopartikel di bidang farmasi dijelaskan oleh Müller dalam salah satu publikasinya.³² Nanokristal senyawa obat adalah partikel dengan diameter antara 5-10 nm sampai 1.000 nm, terdiri dari obat murni tanpa ada matriks tambahan. Nanopartikel dapat seluruhnya berupa kristal, sebagian kristal sebagian amorf, dan diproduksi baik dengan teknologi *bottom up* ataupun *top down*. Nanosuspensi senyawa obat merupakan suspensi yang terdiri dari nanokristal senyawa obat. Nanosuspensi dapat dikatakan merupakan suspensi dari dispersi nanokristal yang distabilkan surfaktan atau polimer (stabilisasi sterik). Media pendispersi dapat berupa air, campuran air dan senyawa organik larut dalam air, atau media non air seperti minyak, polietilen glikol cair (PEG).³²

Dalam penelitian ini produksi ibuprofen nano-

partikel dilakukan dengan menggunakan metode homogenisasi dalam tekanan tinggi dengan menggunakan Micron LAB 40. Dilihat dari segi fisiknya, kristal Ibuprofen merupakan kristal yang sangat keras sehingga tidak mudah untuk dipecahkan menjadi kristal yang sangat halus. Proses produksi tersebut menggunakan medium air dengan berbagai macam penstabil untuk memperoleh nanosuspensi Ibuprofen yang efektif.

BAHAN DAN METODE

Bahan bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah Ibuprofen (BASF Aktiengesellschaft GmbH, Ludwigshafen, Germany); stabilizer dari nanosuspensi berturut-turut adalah *Sodium dodecyl sulfate* (Fluka Chemie GmbH, Germany), Tween® 80 (Uniqema, Belgium), Poloxamer®188 (BASF Aktiengesellschaft GmbH, Ludwigshafen, Germany), *Phospholipon 80* (Phospholipon GmbH, Cologne, Germany), *Polyvinyl Alcohol (PVA)* Wt. 90.000 dan *polyvinyl pirolidone* (Sigma Aldrich GmbH, Deisenhofen, Germany); aqua bidest (media pendispersi); serta bahan-bahan kimia lain yang biasa digunakan dengan *grade pro analisis* (p.a).

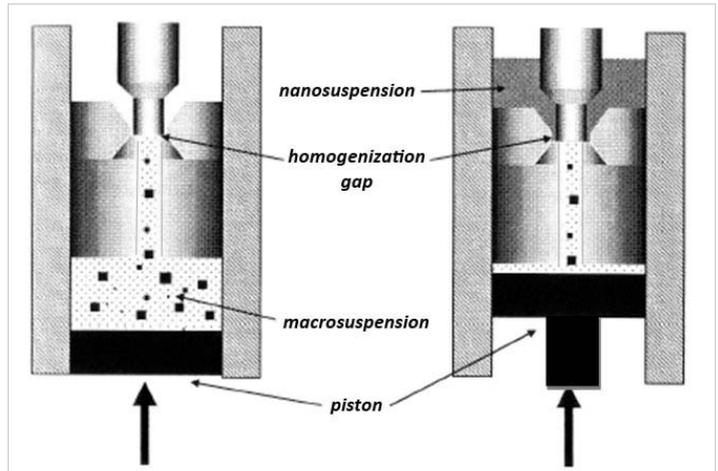
Metode

Prinsip kerja homogeniser tekanan tinggi tipe piston-gap

Prinsip kerja homogeniser tipe piston-gap berbeda dengan homogeniser tipe aliran jet. Suatu dispersi atau cairan dialirkan melewati celah sempit dengan kecepatan aliran yang tinggi. Rangkaian kerja dari teknologi ini yaitu dengan menempatkan dispersi cair (emulsi atau suspensi) dalam suatu silinder yang dilengkapi dengan sebuah piston. Suatu energi diberikan kepada piston tersebut sehingga menekan cairan sampel untuk bergerak melewati celah sempit pada ujung

wadah silinder. Untuk Micron LAB 40, wadah silinder mempunyai diameter selebar 3.0 cm, dengan ujung celah sempit yang lebarnya hanya 25 µm; perbedaan

kecepatan aliran dari sistem yang berbeda diameternya berbanding terbalik dengan diameter celahnya.²⁹



Gambar 2. Penampang melintang homogeniser tipe piston-gap. Makrosuspensi dipaksa untuk melewati celah sempit homogenisasi untuk menghasilkan nanokristal (with permission after)^{30,31}

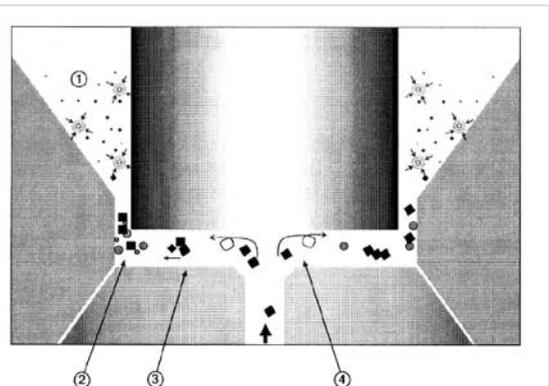
lebar celah hingga 120,000 kali ini menyebabkan kecepatan aliran yang ekstrim cepat dan bisa mencapai 200-700 m/s tergantung kepada tekanan yang digunakan. Penurunan lebar celah akan mengakibatkan peningkatan tekanan. Untuk tipe homogeniser tertentu, kecepatan aliran sampel dapat mencapai 1000 m/s. Sesuai dengan paten dari DissoCubes®, pecahnya partikel dapat disebabkan oleh adanya *cavitations* yang terjadi saat melewati celah sempit.

Sesuai dengan persamaan Bernoulli, jumlah tekanan statik dan tekanan dinamik untuk tiap sistem selalu konstan pada masing-masing diameter celah:

$P_s + \frac{1}{2}\rho V^2 = K$ persamaan 1

di mana P_s adalah tekanan statik, $\frac{1}{2}\rho V^2$, tekanan dinamik (P_{dyn}); ρ , bobot jenis cairan; V , kecepatan

Menurut persamaan Hagen-Poiseulle,



Gambar 3. Prinsip pemecahan partikel selama homogenisasi tekanan tinggi (ilustrasi rinci dari penampang melintang celah homogenisasi)

1) area ledakan (*cavitations*); 2) area mendidih; 3) *shear forces*; 4) arus turbulen (with permission after)^{30,31}

aliran; dan K, konstanta.^{29,32}

Saat melewati celah sempit, tekanan dinamis secara drastis meningkat (seperti kecepatan aliran); secara bersamaan, tekanan statis menurun dan mencapai tekanan di bawah tekanan uap air pada suhu kamar. Akibatnya terjadi proses pendidihan air pada suhu kamar, terbentuk gelembung udara yang akan pecah sesaat setelah cairan meninggalkan celah sempit pada kondisi tekanan yang kembali normal (*cavitations*). Terbentuknya gelembung udara dan dilanjutkan ledakan gelembung udara tersebut menyebabkan timbulnya gelombang kejut, mengakibatkan pecahnya partikel menjadi partikel lebih kecil dari suspensi atau emulsi. Sekarang ini para peneliti meyakini bahwa pembentukan gelembunglah yang menyebabkan terjadinya proses pemecahan partikel menjadi ukuran lebih kecil, dan bukan oleh ledakan yang terjadi.^{29,32}

Selama proses pemecahan partikel (*milling process*) tersebut, diharapkan partikel/kristal akan pecah pada titik terlemahnya, seperti pada kondisi tidak sempurna (*imperfections*). Penurunan ukuran partikel, berarti menurunkan jumlah partikel yang *imperfect* menjadi lebih sedikit dan makin sedikit lagi; atau memecahkan kristal-kristal besar menjadi kristal-kristal kecil yang sempurna (*perfect*). Dengan kata lain, energi yang dibutuhkan untuk pemecahan kristal meningkat sejalan dengan menurunnya ukuran partikel. Jika jumlah energi dalam homogeniser sama dengan energi interaksi dalam partikel itu sendiri, maka partikel tidak akan mengalami proses pemecahan (penurunan ukuran partikel) lebih lanjut, meskipun dengan penambahan jumlah siklus homogeniser. Ini berarti bahwa pemecahan partikel pada energi/tekanan homogeniser yang diberikan telah mencapai maksimum.²⁹⁻³³

Definisi terminologi "*homogenization*" meliputi penurunan ukuran partikel suspensi/globul emulsi yang disertai dengan penyempitan distribusi ukuran partikel. Artinya, homogenisasi tidak hanya mengecilkan ukuran partikel, tetapi disertai dengan kehomogenan ukuran partikelnya.³²

Produksi Nanosuspensi Ibuprofen dengan Homogenisasi Tekanan Tinggi (HPH)

Untuk menghasilkan suatu nanosuspensi ibuprofen yang baik, dilakukan proses skrining dengan menggunakan berbagai media yang mengandung air sebagai pendispersi. Selama proses homogenisasi, berbagai macam larutan penstabil akan menghasilkan stabilitas yang spesifik tergantung dari proses adsorpsi dari stabiliser pada permukaan padatan senyawa aktif farmasi. Lebih lanjut, stabilitas dan konsentrasi penstabil pada suhu produksi akan mempengaruhi kestabilan jangka panjang dan juga

kualitas formulanya secara langsung. Dalam skrining ini nanosuspensi dibuat mengikuti prosedur sebagai berikut:

1. Dispersi awal dari senyawa aktif dalam mortar yang sudah dituangkan larutan penstabil (stabiliser)
2. Dispersi lebih lanjut dari suspensi kasar menggunakan Ultra-turrax T25 (Janke und Kunkel GmbH, Staufen, Germany) selama 10-30 detik pada kecepatan 8000 rpm
3. Homogenisasi awal dari suspensi kasar menggunakan homogeniser tekanan tinggi (HPH Micron LAB 40), sebanyak 2 siklus pada 150 Bar dan diikuti 2 siklus lagi pada 500 Bar.
4. Untuk selanjutnya proses penggilingan dengan homogeniser pada 1500 Bar sebanyak 40 siklus. Pada proses ini maksimum energi dapat dicapai pada homogenisasi tekanan tinggi ini setelah melewati celah homogenisasi selebar ~3 μm . Konsentrasi obat mula-mula dipilih sebanyak 1% dan selanjutnya penelitian dilanjutkan pada konsentrasi yang lebih tinggi lagi yaitu sampai 10%

Akibat dari penggunaan energi yang tinggi selama proses homogenisasi pada 1500 Bar, temperatur produk dapat meningkat 15°C dari temperatur awal. Oleh karena peningkatan suhu ini dapat mempengaruhi kualitas produk yang dihasilkan maka untuk mengontrol kualitas nanosuspensi ibuprofen yang diproduksi, pada setiap siklus homogenisasi, produk didinginkan dalam suhu kamar sampai mencapai suhu 21-23°C kembali.

Penggilingan dengan Bola (*Ball Milling*)

Sebagai pembanding nanosuspensi yang dihasilkan dengan HPH, nanosuspensi ibuprofen juga diproduksi dengan menggunakan *ball milling*. Tahap persiapan pada dasarnya dilakukan dengan cara yang sama seperti homogenisasi, yaitu dispersi awal senyawa aktif dalam mortar yang sudah dituangkan larutan penstabil (stabiliser). Suspensi kasar selanjutnya dispersekan lagi dengan menggunakan Ultra-turrax T25 (Janke und Kunkel GmbH, Staufen, Germany) selama 10-30 detik pada kecepatan 8000 rpm. Suspensi awal ini kemudian dituangkan ke dalam wadah alat *planetary mono mill "pulverisette 6"* (Fritsch GmbH, Idar Oberstein, Germany). Dalam wadah itu sendiri telah diisi dengan 90 g bola yang terbuat dari Yttrium yang telah distabilkan dengan diameter bola 1 mm. Perbandingan antara volume suspensi dan volume yang ditempati bola adalah 20:80. Untuk selanjutnya sampel diambil pada waktu waktu tertentu untuk karakterisasi ukuran partikela.

Analisis Ukuran Partikel Nanosuspensi Ibuprofen Untuk pengukuran ukuran partikel nanosuspensi

ibuprofen digunakan alat Coulter® LS 230 (Beckmann- Coulter Electronics, Krefeld, Germany) dan *Photon correlation spectroscopy* (PCS) (Malvern Zetasizer IV, Malvern Instruments, Malvern, UK).

Malvern Zetasizer IV dilengkapi dengan laser beam ($\lambda=633$ nm); signal laser ditangkap oleh detektor *photomultiplier* pada sudut pengukuran 90° . Sampel diencerkan dengan aquades dengan konsentrasi yang sesuai dan diukur sebanyak 3 kali.

Zetasizer IV (Malvern Instruments, Malvern, UK) menghasilkan ukuran rata rata PCS (*z-average*) dan *polydispersity index* (PI). Dalam penelitian ini alat Coulter® LS 230 (Beckmann-Coulter Electronics, Krefeld, Germany) digunakan untuk melihat distribusi ukuran partikel. Sebagai sumber cahaya digunakan sinar laser dengan panjang gelombang 750 nm. Coulter LS 230 memberikan informasi diameter berat volume $d_{10\%}$, $d_{50\%}$, $d_{90\%}$, $d_{99\%}$, menggunakan *Mie theory* dengan *real refractive (rf) index*: 1.46, *imaginary rf index*: 0.01. Diameter $d_{10\%}$ artinya bahwa 10% dari populasi partikel mempunyai ukuran di bawah ukuran yang disebutkan.

Stabilitas fisik nanosuspensi ibuprofen juga dievaluasi dengan menggunakan Laser Difraktometri Coulter® LS 230 and PCS. Dan pada hari hari tertentu sampel diukur untuk melihat profil stabilitas fisiknya.

Zeta Potential Analysis

Muatan listrik permukaan dari nanosuspensi ibuprofen dianalisa dengan menentukan pergerakan mobilitas elektroforesisnya menggunakan Malvern Zetasizer IV (Malvern Zetasizer IV, Malvern Instruments, Malvern, UK). Persamaan Helmholtz-Smoluchowsky dipakai untuk menghitung zeta potential. Pengukuran dilakukan secara triplo pada suhu 25°C dengan kekuatan medan listrik 20 V/cm. Pengukuran dilakukan dalam media aslinya dan dilakukan penyesuaian konduktifitas sampai $50 \mu\text{S/cm}$ dengan penambahan larutan NaCl.

Polarized Light Microscopy

Nanokristal Ibuprofen diamati di bawah mikroskop cahaya terpolarisasi dengan pembesaran 1000x dan dilengkapi kamera digital. Mikroskop yang digunakan adalah Leitz microscope (leitz. Wetzlar. Germany) dan setiap sampel diamati sebanyak 3 kali.

HASIL DAN DISKUSI

Skrining Formulasi Optimum

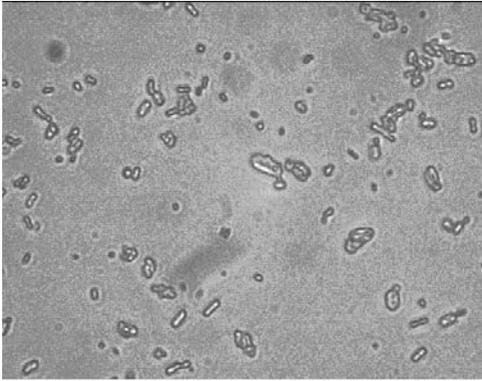
Untuk menghasilkan nanosuspension yang secara fisik stabil, maka dibuat beberapa formula nanosuspensi ibuprofen dalam berbagai macam stabiliser (lihat Tabel 1) baik secara tunggal maupun kombinasi. Secara fisik, ibuprofen merupakan kristal yang sangat keras sehingga untuk menghasilkan kristal halus

ibuprofen diperlukan proses penggilingan yang lama atau jumlah siklus homogenisasi yang lebih banyak dibandingkan produksi. Berkaitan dengan hal ini nanosuspensi ibuprofen dapat diproduksi dengan menggunakan 40 siklus homogenisasi yang merupakan proses homogenisasi yang optimum. Pada tahap awal produksi, hanya 1% ibuprofen yang didispersikan dalam media air untuk menghasilkan 1% nanosuspensi ibuprofen. Sebagai penstabil digunakan berbagai macam stabiliser (lihat Tabel 1).

Dari hasil analisis ukuran partikel, semua formula menunjukkan distribusi ukuran partikel yang berbeda-beda. Distribusi ukuran yang sempit sangat penting sekali untuk menjegah terjadinya pertumbuhan ukuran partikel akibat penjeratan Ostwald (*Ostwald ripening*).³⁴⁻³⁶ *Ostwald ripening* merupakan proses pertumbuhan ukuran partikel yang disebabkan oleh perbedaan kelarutan jenuh pada lapisan difusi antara dua partikel yang ukurannya sangat jauh berbeda.^{31,37} Dari sepuluh formula yang dibuat, hanya Formula 9 yang memperlihatkan suatu nanosuspensi ibuprofen dengan rerata ukuran partikel 929 nm, diukur dengan PCS. Data penurunan ukuran partikel dari seluruh formula dapat dilihat pada Tabel 2.

Formula 4 dan 7 tidak dapat menghasilkan suatu nanosuspensi. Sebagai stabiliser untuk Formula 4, Phospholipon 80 yang merupakan fosfolipid tidak dapat didispersikan secara baik dalam pelarut air sehingga tidak berfungsi secara optimum. Ternyata Phospholipon 80 tunggal tidak dapat digunakan sebagai stabiliser untuk nanosuspensi. Akan tetapi jika digunakan sebagai kombinasi dengan stabiliser yang lain seperti pada Formula 5 dan 6. Kedua formula tersebut, berturut-turut menggunakan kombinasi Phospholipon 80 dengan Poloxamer 188 dan kombinasi Phospholipon 80 dengan SDS. Untuk Formula 7 digunakan kombinasi SDS dan Poloxamer 188 sebagai stabiliser. Kombinasi ini ternyata tidak sesuai digunakan sebagai stabiliser saat produksi nanosuspensi ibuprofen. Selama proses produksi, ternyata partikel ibuprofen mengalami teraglomerasi dan tidak dapat terdispersi secara baik. Aglomerat dari partikel ibuprofen dapat secara jelas terlihat dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Untuk lebih jelasnya hasil analisis ukuran partikel dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 4.

Tahap selanjutnya dalam penelitian ini adalah produksi ibuprofen nanosuspensi dengan meningkatkan konsentrasinya sampai 10% ibuprofen dalam media air. Dalam tahap ini 10% nanosuspensi yang diproduksi dengan menggunakan Micron Lab 40 dengan 0.2% SDS sebagai stabiliser ditambahkan ke dalam suspensi. Reduksi ukuran partikel dari nanosuspensi ibuprofen 10% dapat dilihat pada diagram batang yang ditunjukkan oleh Gambar 5. Distribusi



Gambar 4. Aglomerasi partikel ibuprofen Formula 7

volume ukuran partikel dari nanosuspensi 10% mirip dengan distribusi ukuran partikel nanosuspensi 1%. Rata-rata ukuran partikel yang diperoleh untuk nanosuspensi 10% ibuprofen adalah 970 nm, ukur dengan PCS. Dengan demikian maka Formula 9 dapat dipilih sebagai formula terbaik untuk menghasilkan

cahaya dengan pembesaran 1000x menunjukkan bahwa *ball milling* menghasilkan mikrokristal ibuprofen yang diakibatkan adanya aglomerat partikel. Hasil ini berbeda sekali dengan hasil produksi HPH dimana nanosuspensi yang dihasilkan berbentuk nanokristal tanpa adanya aglomerat dan terlihat dapat terdispersi membentuk partikel tunggal (lihat Gambar 7).

Distribusi ukuran partikel bisa ditunjukkan dengan singkatan d50%, yang berarti bahwa 50% dari distribusi partikel mempunyai ukuran di bawah nilai ukuran partikel yang disebutkan. Mikrosuspensi yang dihasilkan oleh BM menunjukkan distribusi ukuran partikel d50% senilai 2,066 μm dan d99% senilai 5,893 μm . Sehingga bisa dikatakan 50% dari partikel yang terdistribusi mempunyai diameter di bawah 2,066 μm dan 99% dari partikel mempunyai diameter partikel di bawah 5,893 μm . Tentu saja ukuran diameter tersebut tidaklah cukup berhasil menghasilkan nanosuspensi. Sehingga bisa dinyatakan kinerja dari alat *ball mill* yang digunakan tidak berhasil dengan baik untuk bahan yang sangat keras seperti ibuprofen ini.

Tabel 1. Formulasi nanosuspensi ibuprofen 1%

| Bahan | Formulasi | | | | | | | | | |
|-----------------|-----------|-----|------|-----|-------|--------|--------|--------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Ibuprofen | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% | 1% |
| Poloxamer 188 | 1% | - | 0.5% | - | - | 0.25% | 1% | - | - | - |
| SDS | - | - | - | - | 0.1% | - | 0.25% | - | 0.2% | 0.2% |
| PVA | - | - | - | - | - | - | - | 0.25% | - | 0.2% |
| Phospholipon 80 | - | - | - | 1% | 0.5% | 0.5% | - | - | - | - |
| PVP | - | 1% | 0.5% | - | - | - | - | - | - | - |
| Water | 98% | 98% | 98% | 98% | 98.4% | 98.25% | 97.75% | 98.75% | 98.8% | 98.6% |

PVA = polyvinyl alcohol, SDS = sodium dodecyl sulfate, PVP = polyvinyl pirolidon

ibuprofen nanosuspensi dengan konsentrasi tinggi.

Perbandingan Penggilingan Bola (*Ball Milling*) dengan HPH

Analisis ukuran partikel nanosuspensi yang diproduksi oleh penggilingan bola (*ball milling*-BM) juga dilakukan. Berbeda dengan nanosuspensi menggunakan homogenizer, BM menghasilkan hanya mikrosuspensi ibuprofen. Ukuran partikel optimum dapat dicapai setelah proses penggilingan selama 40 menit. Rata-rata ukuran partikel rata-rata adalah 1270 nm dengan *polydispersity index* (PI) sebesar 0,571. Analisis mikroskopik di bawah mikroskop

Memperpanjang proses penggilingan dengan bolanya tidak dapat memperbaiki kinerja dari alat tersebut. Distribusi ukuran partikel setelah penggilingan selama 50 menit untuk d50% dan d99% berturut-turut adalah 2,115 μm dan 10,160 μm sedangkan setelah 60 menit adalah 2,809 μm dan 14,685 μm . Selain kinerja alat yang tidak baik dalam menghasilkan nanosuspensi, kerugian lain dari penggunaan *Ball milling* ini adalah adanya kontaminasi yang dihasilkan karena friksi antara bola yang digunakan. Dengan kata lain, bahan bola yang digunakan dapat mengkontaminasi produk yang dihasilkan.^{31,38}

Kinerja dari teknik produksi nanopartikel sangat

Tabel 2. Komposisi formulasi nanosuspensi dan data ukuran partikelnya

| No | Formulation/ Composition | | LD (µm) | | PCS (nm) | |
|----|-----------------------------|-------|---------|--------|----------|------|
| | | | D50% | D99% | Z-ave | S.D. |
| 1 | Ibuprofen | 1% | 2.021 | 5.335 | 1650 | 90 |
| | Poloxamer 188 | 1% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 2 | Ibuprofen | 1% | 1.218 | 9.292 | - | - |
| | PVP | 1% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 3 | Ibuprofen | 1% | 1.691 | 7.362 | 1321 | 69 |
| | Poloxamer 188 | 0.5% | | | | |
| | PVP | 0.5% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 4 | Ibuprofen | 1% | - | - | - | - |
| | Phospholipon 80 | 1% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 5 | Ibuprofen | 1% | 1.460 | 8.209 | 1394 | 129 |
| | Phospholipon 80 | 0.5% | | | | |
| | SDS | 0.1% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 6 | Ibuprofen | 1% | 1.701 | 4.553 | 1084 | 17 |
| | Phospholipon 80 | 0.5% | | | | |
| | Poloxamer 188 | 0.25% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 7 | Ibuprofen | 1% | 2.516 | 208.87 | - | - |
| | SDS | 0.25% | | | | |
| | Poloxamer 188 | 1% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 8 | Ibuprofen | 1% | 1.269 | 2.628 | 1061 | 72 |
| | PVA | 0.25% | (40) | (40) | (40) | (40) |
| | Water q.s. | 100% | 1.190 | 2.489 | 1076 | 43 |
| | | | (60) | (60) | (60) | (60) |
| 9 | Ibuprofen | 1% | 1.094 | 2.995 | 929 | 34.2 |
| | SDS | 0.2% | | | | |
| | Water q.s. | 100% | | | | |
| 10 | Ibuprofen | 1% | 1.262 | 3.945 | 1050 | 72 |
| | PVA | 0.2% | | | | |
| | SDS | 0.2% | (60) | (60) | (60) | (60) |
| | Water q.s. | 100% | | | | |

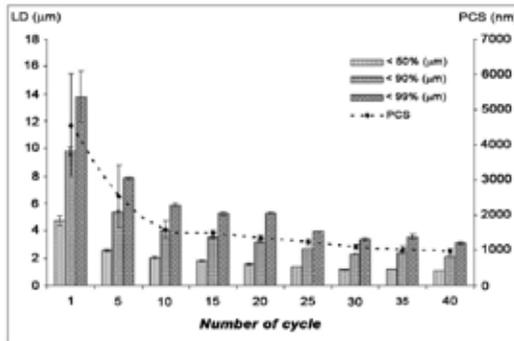
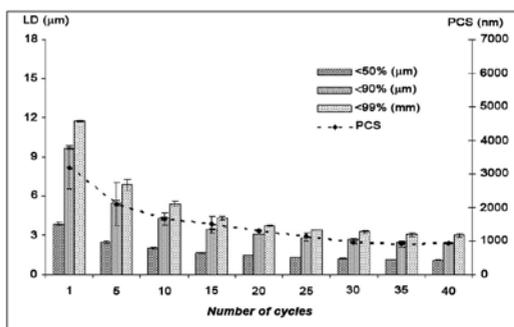
Keterangan:

LD : Laser Diffractometry

(40) : 40 cycles

PCS : Photon Correlation Spectrophotometry

(60) : 60 cycles



Gambar 5. Profil penurunan ukuran partikel nanosuspensi ibuprofen 1% (atas) dan nanosuspensi ibuprofen 10% (bawah) yang distabilkan oleh SDS 0.2%

kuat tergantung dari sifat senyawa aktifnya. Dalam kasus kristal keras ibuprofen, homogenisasi tekanan tinggi (HPH) jauh lebih baik dibandingkan dengan teknik produksi menggunakan penggilingan menggunakan bola (*ball milling*).³⁸

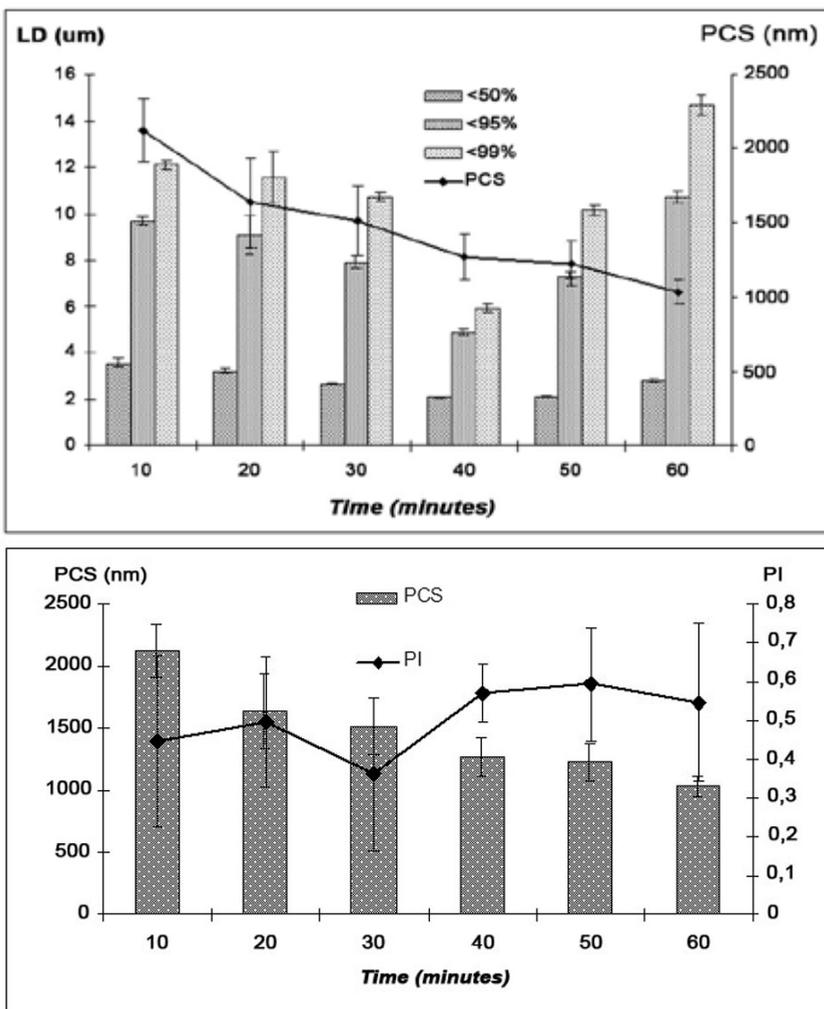
Gambar 7a menunjukkan gambar bahan mentah ibuprofen dengan ciri khasnya berupa kristal yang sangat keras. Dengan menggunakan teknik HPH, kristal keras ibuprofen ternyata, berhasil direduksi ukurannya menjadi nanopartikel. Kristal halus dari nanosuspensi ibuprofen dengan teknik HPH dapat terdistribusi secara homogen menjadi kristal-kristal tunggal berukuran nanometer (Gambar 7b). Di samping itu, tidak dijumpai adanya partikel-partikel yang teraglomerat yang mengindikasikan terbentuknya nanosuspensi yang stabil. Kehomogenan dari partikel ibuprofen didukung oleh nilai *poly-*

diversity index (PI) yang rendah sebesar 0,157 (nilai PI di bawah 0,300 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sempit dan mendekati distribusi normal).

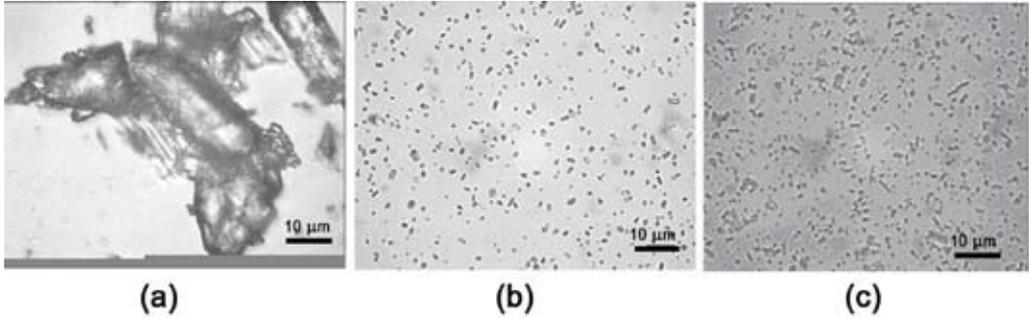
Berbeda dengan nanosuspensi yang dihasilkan dengan HPH, nanosuspensi yang diproduksi dengan teknik penggilingan bola (*Ball Milling*) menghasilkan partikel-partikel ibuprofen yang teraglomerasi dan distribusi partikel yang tampak terlihat sangat luas (Gambar 4c). Hal ini menunjukkan bahwa teknik penggilingan dengan bola tidak efektif untuk menghasilkan suatu nanosuspensi ibuprofen.

Pengukuran Zeta Potensial

Pengukuran zeta potensial dilakukan dalam media air yang konduktivitasnya diatur sampai 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, dengan kekuatan medan listrik 20V/cm. Zeta potensial Formula 9 adalah -68 mV. Umumnya, suatu nano-



Gambar 6. Profil penurunan ukuran partikel nanosuspensi ibuprofen 1% (LD-atas dan PCS-bawah) diproduksi dengan BM, Komposisi: 1% ibuprofen, 0.2% SDS dan ad air sampai 100%



Gambar 7. Gambar mikroskop cahaya ibuprofen: (a) bahan baku (b) nanosuspension Formula 9 (distabilkan oleh SDS) setelah 40 siklus homogenisasi pada suhu 5°C dan (c) setelah produksi oleh *ball milling*- BM selama 40 menit pada suhu 5°C (pembesaran 1000 kali)

suspensi yang stabil setidaknya memiliki potensial sekitar ± 30 mV agar dapat menolak partikel yang lain untuk saling berdekatan. Namun pada kenyataannya, stabilitas nanosuspensi ibuprofen Formula 9 setidaknya terbukti stabil selama rentang waktu 14 hari (lihat Gambar 8 dan 9).

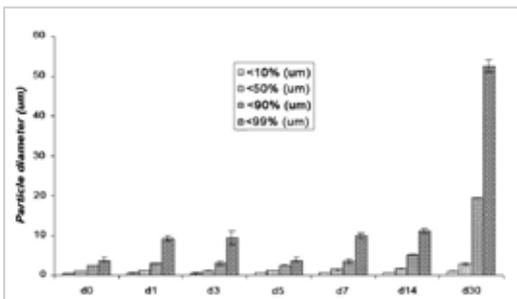
Stabilitas Fisik Nanosuspensi

Secara intensif stabilitas fisik nanosuspensi ibuprofen dievaluasi dalam kurun waktu 1 bulan. Evaluasi secara khusus dilakukan terhadap Formula 9 dengan pertimbangan bahwa Formula tersebutlah yang nantinya akan digunakan untuk produksi skala pilot. Selain itu Formula 9 merupakan produk yang menghasilkan rerata ukuran partikel dalam rentang nanometer. Gambar 8 memperlihatkan distribusi ukuran partikel dari nanosuspensi ibuprofen setelah dievaluasi selama 30 hari. Bila dilihat dari distribusi ukuran partikel pada gambar tersebut, maka dapat diperoleh informasi bahwa nanosuspensi Formula 9 dapat dipertahankan ukurannya dalam rentang nanometer untuk kurun waktu 14 hari. Setelah waktu tersebut, evaluasi dilakukan pada hari ke 30, dan hasilnya memperlihatkan pertumbuhan ukuran partikel ibuprofen secara cepat menjadi partikel besar. Bila dilihat di bawah mikroskop cahaya, pertumbuhan ukuran partikel diakibatkan aglomerat atau agregat partikel. Selain itu juga terjadi pembesaran ukuran partikel di luar rentang nanometer akibat terjadinya fenomena penjeratan Ostwald (*Ostwald ripening*). Setelah proses produksi, sebagian partikel berada di luar rentang nanometer (yaitu: mikropartikel). Adanya kontaminasi dari mikropartikel ibuprofen ini memungkinkan terjadinya fenomena *Ostwald ripening*. Akibat dari fenomena ini, partikel besar akan tumbuh menjadi kristal yang lebih besar lagi; sedangkan partikel kecil akan melarut dan hilang. Fenomena ini didukung oleh gambar mikroskop cahaya (Gambar 9c) yang selain menunjukkan adanya

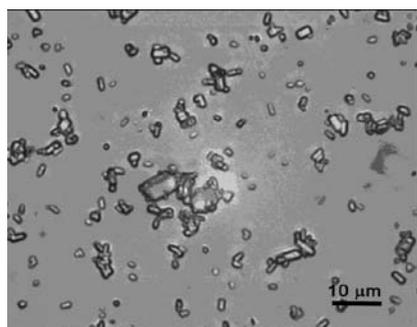
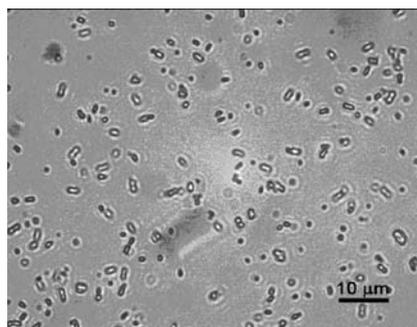
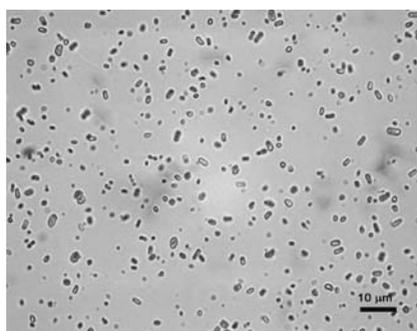
aglomerat partikel, juga terbentuk kristal besar ibuprofen; sedangkan kristal-kristal kecil ibuprofen tidak tampak terlihat di sekitar kristal besar tersebut.

Untuk lebih lengkapnya gambar 9 tersebut menunjukkan proses transisi pertumbuhan kristal ibuprofen selama 30 hari. Setelah produksi dengan HPH, partikel partikel ibuprofen yang berukuran nanometer secara jelas terdistribusi secara merata sebagai kristal halus tunggal (Gambar 9a). Setelah waktu 14 hari, partikel-partikel tunggal tersebut terlihat tumbuh menjadi kristal ibuprofen yang lebih besar meskipun masih tetap terdistribusi sebagai partikel tunggal (Gambar 9b). Pada hari ke 30, tidak hanya pertumbuhan partikel-partikel kristalnya yang terus meningkat, tetapi juga terjadi aglomerasi partikel-partikel ibuprofen. Informasi yang diperoleh dari gambar mikroskop cahaya tersebut sejalan dengan data distribusi ukuran partikel yang diperoleh dengan pengukuran menggunakan laser difraktometri (LD). Dengan demikian gambar mikroskop cahaya tersebut, yang memperlihatkan terjadinya aglomerasi partikel dan asumsi terjadinya fenomena *Ostwald ripening*, dapat menjelaskan mengapa terjadi ketidakstabilan nanosuspensi ibuprofen setelah penyimpanan selama 30 hari (Gambar 9c).

Untuk mengatasi ketidakstabilan nanosuspensi ibuprofen tersebut, salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan proses pengeringan secara langsung nanosuspensi yang diperoleh setelah proses produksi, yaitu: dengan cara kering beku (*freeze drying*) ataupun semprot kering (*spray drying*). Nanokristal ibuprofen kering akan lebih stabil dibandingkan dengan nanosuspensi ibuprofen karena dapat menghindari terjadinya fenomena penjeratan Ostwald (*Ostwald ripening*). Untuk selanjutnya nanokristal kering tersebut dapat dicampurkan dengan eksipien lain untuk memperoleh sediaan farmasi berbentuk padat seperti pelet, tablet, kapsul dan tablet efervesen.



Gambar 8. Profil stabilitas fisik nanosuspensi ibuprofen distabilkan oleh SDS dalam waktu 30 hari



Gambar 9. Gambar mikroskop cahaya nanosuspensi ibuprofen distabilkan oleh SDS: (a) setelah produksi (b) hari ke 14 (c) hari ke 30 penyimpanan dalam suhu kamar (pembesaran 1000 kali)

Table 3. Komposisi formula ibuprofen dan data zeta potensial

| No | Formulation Composition | | Zeta potential (mV) | |
|----|-------------------------|----------------------|---------------------|------|
| | | | value | s.d. |
| 1 | Ibuprofen 1% | Poloxamer 188 1% | -37.2 | 0.46 |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 2 | Ibuprofen 1% | PVP 1% | -33.9 | 0.43 |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 3 | Ibuprofen 1% | Poloxamer 188 0.5% | -27.6 | 0.77 |
| | PVP 0.5% | Water q.s. 100% | | |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 4 | Ibuprofen 1% | Phospholipon 80 1% | - | - |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 5 | Ibuprofen 1% | Phospholipon 80 0.5% | -47.9 | 0.78 |
| | SDS 0.1% | Water q.s. 100% | | |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 6 | Ibuprofen 1% | Phospholipon 80 0.5% | -29.8 | 0.93 |
| | Poloxamer 188 0.25% | Water q.s. 100% | | |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 7 | Ibuprofen 1% | SDS 0.25% | -56.9 | 0.65 |
| | Poloxamer 188 1% | Water q.s. 100% | | |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 8 | Ibuprofen 1% | PVA 0.25% | -12.1 | 0.35 |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 9 | Ibuprofen 1% | SDS 0.2% | -68.2 | 0.49 |
| | Water q.s. | 100% | | |
| 10 | Ibuprofen 1% | PVA 0.2% | -48.7 | 0.55 |
| | SDS 0.2% | Water q.s. 100% | | |
| | Water q.s. | 100% | | |

KESIMPULAN

Kinerja dari teknik produksi nanopartikel sangat tergantung dari sifat kekerasan senyawa aktifnya. Dalam kasus kristal keras ibuprofen, homogenisasi tekanan tinggi (HPH) merupakan teknik yang sangat unggul dan lebih baik dibandingkan teknik produksi dengan penggilingan menggunakan bola (*ball milling*). Nanosuspensi ibuprofen dengan teknik HPH dapat dipertahankan stabil secara fisik dalam kurun waktu 14 hari. Setelah waktu tersebut akan terjadi pertumbuhan ukuran partikel ibuprofen secara cepat menjadi partikel besar yang diakibatkan oleh aglomerat atau agregat partikel dan fenomena penjeratan Ostwald (*Ostwald ripening*).

Daftar Pustaka

1. Lipinski CA. Avoiding investment in doomed drugs, is poor solubility an industry wide problem? *Curr. Drug Dis.* 2001; 1:17-9
2. Lipinski CA. Poor aqueous solubility-an industry wide problem in drug discovery. *Am. Pharm. Rev.* 2002; 5:82-5
3. Radtke M. Nanopure™ pure drug nanoparticles for the formulation of poorly soluble Drugs. *New Drugs* 2001; 3:62-8
4. Stegemann S, Leveiller F, Franchi D, de Jong H, Linden H. When poor solubility becomes an issue: from early stage to proof of concept. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2007; 31:249-61
5. Mauludin R, Müller RH, Keck CM. Kinetic solubility and dissolution velocity of rutin nanocrystals. *Eur J Pharm Scie* 2009; 36(4-5):502-10
6. Shiraki K, Takata N, Takano R, Hayashi Y, Terada K. Dissolution improvement and the mechanism of the improvement from cocrystallization of poorly water-soluble compounds. *Pharm Res* 2008; 25:2581-92
7. Gohel MC, Parikh RK, Brahmabhatt BK, Shah AR. Improving the tablet characteristics and dissolution profile of Ibuprofen by using a novel coprocessed superdisintegrant: a technical note. *AAPS PharmSciTech.* 2007; 8(1):E94-E99
8. Xiang TX, Anderson BD. 2003. Pharmaceutical formulation for poorly water soluble camptothecin analogues. US Patent. No. 6,653, 319. 2003
9. Palmieri GF, Antonini I, Martelli S. Inclusion complexation of fenofibrate with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Evaluation of interactions in solution and solid complex characterization. *STP Pharma Sci* 1997; 7:174-81
10. Yamane S, Yamane H, Sunami M. Solid formulation with improved solubility and stability, and method for processing said formulation. US patent, No. 006/0153913 A1. 2006
11. Hoshino T, Fukui I, Kusaki F. Solid dispersion preparation, US Patent. No. 2007/0248681 A1. 2007
12. Newa M, Bhandari KH, Oh DH, Kim YR, Sung JH, Kim JO, et al. Enhanced dissolution of Ibuprofen using solid dispersion with poloxamer 407. *Arch Pharm Res* 2008; 31(11):1497-507
13. Wunderlich JC, Schick U, Werry J, Freidenreich J. Gelatin or collagen hydrolysate containing drug formulation that provides for immediate release of nanoparticle drug compounds, US Patent No. 5,932, 245. 1999
14. Shen S-C, Ng WK, Chia L, Dong Y-C, Tan R. Stabilized amorphous state of ibuprofen by co-spray Drying with mesoporous sba-15 to enhance dissolution properties. *J Phar Sci* 2010; 99(4):1997-2007
15. Liversidge GG, Cundy KC. Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *Int J Pharm* 1995; 125:91-7
16. Liversidge GG, Conzentino P. Drug particle size reduction for decreasing gastric irritancy and enhancing absorption of naproxen in rats. *Int J Pharm* 1995; 125:309-13
17. Auweter H, Bohn H, Heger R, Horn D, Siegel B, Siemensmeyer K. Precipitated water-insoluble colorants in colloid disperse form. United States Patent 6, 494, 924. 2002
18. List M, Sucker H. Pharmaceutical colloidal hydrosols for injection. GB Patent 2200048. 1988
19. Sucker H, Gassmann P. Improvements in pharmaceutical compositions. European Patent EP0580690. 1994
20. Wu TH, Yen FL, Lin LT, Tsai TR, Lin CC, Cham TM. Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles. *Int J Pharm* 2008; 346:160-8
21. Liversidge GG, Cundy KC, Bishop JF, Czekai DA. Surface modified drug nanoparticles. United States Patent 5,145,684. 1992
22. Müller RH, Becker R, Kruss B, Peters K. Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution. United States Patent 5, 858, 410. 1999
23. Müller RH, Mäder K, Krause K. Verfahren zur schonenden Herstellung von hochfeinen Micro-/Nanopartikeln. PCT Application PCT/EP00/06535. 2000
24. Kipp JE, Wong JCT, Doty MJ, Rebeck CL. Microprecipitation Method For Preparing Submicron Suspensions. United States Patent 6,607,784. 2003
25. Petersen RD. Nanocrystals for use in topical formulations and method of production thereof. PCT/EP2007/009943. 2006
26. Moeschwitzer JP, Lemke A. Method for the gentle production of ultrafine particle suspensions. German patent application, DE 10 2005 017 777.8. 2005
27. Ibuprofen. chemicaland21.com, Arokor Holdings Inc.; 2008
28. Ibuprofen, (2008), Physicians' Desk Reference, Thomson Healthcare
29. Keck, C.M. and R.H. Muller, Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenisation. *Eur J Pharm Biopharm* 2006, 62(1): p. 3-16
30. Möschwitzer J. Drug Nanocrystals Prepared by High Pressure Homogenisation - the Universal Formulation Approach for Poorly Soluble Drugs, Dissertation, Institut für Pharmazeutische Technologie, Freie Universität Berlin; 2006
31. Mauludin R. Nanosuspensions of Poorly Soluble Drugs for Oral Administration, Dissertation, Institut für Pharmazeutische Technologie, Freie Universität Berlin; 2006
32. Müller RH and A Akkar. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, ed. HS Nalwa. American Scientific Publishers; 2004.p.627-38
33. Muller RH and K Peters. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs: I. Preparation by a size-reduction technique. *International Journal of Pharmaceutics* 1998; 160(2):229-37
34. Lindfors L, Skantze P, Skantze U, Westergren J, Olsson U. Amorphous drug nanosuspensions. 1. Inhibition of Ostwald ripening. *Langmuir* 2006; 22(3):906-10
35. Lindfors L, Skantze P, Skantze U, Westergren J, Olsson U. Amorphous drug nanosuspensions. 3. Particle dissolution and crystal growth. *Langmuir* 2007; 23(19): 9866-74
36. Higuchi WI and J Misra. Physical degradation of emulsions via the molecular diffusion route and the possible prevention thereof. *J Pharm Sci* 1962; 51:459-66
37. Müller RH, Jacobs C, Kayser O. DissoCubes - a novel formulation for poorly soluble and poorly bioavailable drugs. In: Rathbone MJ, Hadgraft J, Roberts MS. (Ed.), *Modified-Release Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker; 2003.p.135-49
38. Mauludin R, J Möschwitzer, and RH Müll. Comparison of Ibuprofen Drug Nanocrystals Produced by High Pressure Homogenization (HPH) versus Ball Milling (BM), in American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) Annual Meeting; Nashville, TN: AAPS; 2005

Emulsi dan Teori-Teori Terkait

Dewi Setyaningsih

Universitas Sanata Dharma

Yogyakarta

ABSTRAK

Emulsi merupakan suatu sistem formulasi yang sangat kompleks dibandingkan dengan bentuk sediaan lainnya. Namun, sistem emulsi banyak sekali digunakan dalam formulasi obat-obat tidak larut air untuk meningkatkan ketersediaan hayati. Kompleksitas formula emulsi tersebut berkaitan dengan stabilitas emulsi. Untuk membuat suatu emulsi yang stabil, formulator perlu memahami teori-teori terkait dengan pembentukan suatu emulsi. Dalam artikel ini, teori-teori emulsifikasi dipaparkan. Tujuan penulisan artikel ini adalah untuk memberikan informasi tentang teori-teori yang terlibat dalam pembentukan emulsi.

PENDAHULUAN

Salah satu permasalahan yang sering dijumpai dalam pengembangan formulasi obat adalah ketersediaan hayati. Beberapa obat tergolong dalam *Biopharmaceutical Classification System* kelas II yang walaupun tidak bermasalah dalam hal menembus membran, obat-obat tersebut tidak larut dalam air sehingga proses absorpsi tetap menjadi masalah. Dalam ruang lingkup ilmu teknologi formulasi obat, sistem emulsi merupakan pendekatan yang sering digunakan. Sebagai contohnya adalah formulasi *cyclosporine* melalui pendekatan emulsi (Neoral®) mampu meningkatkan ketersediaan hayati. Namun dalam preparasinya, emulsi merupakan suatu formulasi yang sangat kompleks dan secara termodinamika merupakan suatu sistem yang tidak stabil. Artikel ini bertujuan untuk memaparkan beberapa teori-teori terkait dengan stabilitas emulsi.

ASPEK UMUM EMULSI

Emulsi adalah sistem dispersi dua fase cair atau lebih yang tidak saling bercampur (*immiscible*), salah satu fase terdistribusi secara homogen dalam fase lain dengan bantuan emulgator. Fase dispers merupakan droplet-droplet yang sering juga disebut sebagai fase internal sedangkan fase di mana droplet terdistribusi disebut fase kontinyu. Tergantung ukuran diameter droplet, emulsi dibedakan menjadi emulsi kasar, mikroemulsi dan nanoemulsi. Pada emulsi kasar, ukuran diameter droplet biasanya berkisar pada 0,5-100 μm .¹ Terkait hidrofilisitas dan lipofilisitas fase internal, secara prinsip emulsi dibedakan dalam dua tipe yaitu tipe minyak dalam air (m/a) atau air dalam minyak (a/m). Pengembangan dari kedua tipe tersebut adalah terbentuknya emulsi ganda (*multiple emulsion*) yang memiliki tipe minyak dalam air dalam minyak (m/a/m) dan

air dalam minyak dalam air (a/m/a). Pada dasarnya emulsi ganda adalah pembentukan suatu emulsi dari suatu emulsi yang telah dibuat sebelumnya.

Sediaan oral farmasi biasanya menggunakan tipe emulsi m/a dengan emulgator seperti surfaktan non-ion, *tragacanth*, akasia, dan gelatin. Emulsi tipe a/m pada umumnya terdapat pada sediaan-sediaan untuk penggunaan luar (topikal), dengan emulgator antara lain sabun polivalen (kalsium palmitat), ester sorbitan (Span), kolesterol, dan lemak *wool*.²

Penggunaan emulsi dalam bidang farmasi selain untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat-obat tidak larut air, sistem emulsi digunakan untuk untuk menutupi rasa kurang enak obat, aksi obat yang diperlambat (*delayed action drug delivery*), dan peningkatan efisiensi *uptake* obat secara endositosis atau limfatik.³

STABILITAS SISTEM EMULSI

Pembentukan emulsi stabil dengan fase dispers terdistribusi homogen merupakan tujuan dari seluruh pekerjaan formulasi. Emulsi, dibanding dengan bentuk sediaan obat lain, merupakan system yang paling kompleks berkaitan dengan permasalahan stabilitas sediaan.¹ Pemisahan fase dalam emulsi dapat digolongkan dalam fenomena berikut:

Creaming

Creaming adalah terpisahnya fase namun dengan penggojogan ringan dapat terbentuk emulsi kembali. Reversibilitas dapat terjadi oleh karena masih terbentuknya film emulgator pada sekeliling droplet fase dispers. Perbedaan densitas antara fase, diameter ukuran droplet, dan viskositas merupakan variabel penentu terjadinya *creaming*.

Coalescence

Coalescence adalah terpisahnya fase dalam emulsi yang bersifat *irreversible*. Terjadinya *creaming* dan

coalescence disebabkan oleh faktor yang sangat berbeda. *Coalescence* cenderung berhubungan dengan fungsi dan kekuatan film *emulgator* pada permukaan droplet.

Ostwald Ripening

Peristiwa *Ostwald Ripening* biasa terjadi pada emulsi tipe m/a yang memiliki karakter distribusi ukuran droplet polidispersi. Droplet-droplet berukuran kecil cenderung mudah berdifusi melalui medium, kemudian bergabung dengan droplet besar dan akhirnya terjadi *coalescence*.

Beberapa peristiwa stabilitas emulsi yang lain adalah terjadinya pembalikan fase, perubahan viskositas akibat terjadinya *creaming*, *coalescence*, flokulasi droplet, kontaminasi mikroba, dan terjadinya dekomposisi secara kimiawi.

TEORI EMULSIFIKASI

Pembentukan suatu emulsi diawali dengan pembentukan droplet secara mekanik yang melibatkan agitasi dengan bantuan *emulgator*. Pada saat dua fase diaduk bersama-sama droplet kedua fase tersebut terbentuk. Turbulensi yang ditimbulkan saat agitasi menyebabkan terjadinya tabrakan antara droplet sehingga droplet besar akan terpecah menjadi droplet lebih kecil. Dengan kata lain, turbulensi dapat menyebabkan terjadinya *coalescence* droplet. Droplet-droplet yang mampu *bercoalescence* dengan sangat cepat akan membentuk medium dispers.⁴ *Coalescence* yang dimaksud tersebut tidak berhubungan stabilitas emulsi.

Pembentukan suatu emulsi melibatkan beberapa peristiwa yang dapat diterangkan dalam beberapa teori. Teori tersebut mencakup teori penurunan tegangan antar muka, teori orientasi pasak, dan teori pembentukan *interfacial film* pada droplet. Pada dua fase yang tidak saling bercampur, gaya kohesi menjadi lebih besar dibandingkan gaya adhesinya sehingga tegangan antar muka kedua fase tersebut sangat besar. *Emulgator* yang teradsorpsi membentuk lapisan *monomolecular* pada droplet yang dapat bermanfaat untuk menurunkan tegangan antar muka sehingga pembentukan droplet-droplet kecil dapat terfasilitasi. Teori penurunan tegangan antar muka tersebut lebih dominan berpengaruh pada saat proses pembuatan emulsi.⁵ Pada tahap pencampuran dua fase, *emulgator* dibutuhkan untuk menurunkan tegangan permukaan antara dua fase sehingga pemecahan droplet menjadi lebih efisien. Contoh golongan *emulgator* yang bersifat menurunkan tegangan antar muka adalah golongan *emulgator* non-ionik (Tween dan Span), senyawa amonium kuarterner, dan sabun.

Teori baji terorientasi membahas tentang kelarutan *emulgator* pada fase penyusun emulsi. Molekul *emulgator* membentuk lapisan *monomolecular* mengelilingi droplet. Apabila molekul *emulgator* lebih banyak terorientasi pada minyak, maka emulsi tipe a/m terjadi dan demikian sebaliknya. Sebagai contohnya sabun; sabun memiliki bagian yang hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofilik akan terorientasi sedemikian rupa sehingga air akan mengelilingi minyak dan terbentuklah emulsi m/a.

Teori pembentukan *interfacial film* membahas posisi *emulgator*, yaitu terletak tepat pada antar fase minyak dan air sebagai film yang teradsorpsi pada permukaan droplet. Film *emulgator* mengatasi gaya tarik-menarik (misal Van der Waals) antar droplet untuk mencegah terjadinya kontak antar droplet. Mekanisme penyediaan halangan bagi droplet untuk bergabung tersebut terjadi melalui: (a) adanya halangan sterik yang muncul akibat keberadaan *emulgator* dengan bentuk molekul yang meruah, (b) halangan elektrostatis yang terbentuk oleh karena muatan ion pada permukaan droplet. Muatan ion pada permukaan droplet terjadi akibat terionisasinya *emulgator* sehingga memberikan muatan listrik ganda pada droplet. Muatan listrik ganda tersebut menghasilkan halangan elektrostatis yang menyebabkan terjadinya tolak-menolak antar droplet sehingga mencegah terjadinya *coalescence* droplet.^{4,6}

Stabilitas emulsi terkait dengan komposisi *emulgator* dan suksesnya terbentuk droplet kecil-kecil. Semakin kecil diameter ukuran suatu droplet, semakin banyak film *emulgator* terbentuk, semakin stabil emulasi yang dihasilkan.⁷ Ukuran diameter droplet dan distribusi ukuran droplet dalam sebuah emulsi sangat dominan dalam menentukan stabilitas fisika emulsi.⁸ Distribusi ukuran droplet dan diameter droplet merupakan faktor yang terlibat dalam stabilitas emulsi seperti flokulasi, *coalescence*, *creaming* dan *Ostwald Ripening*.⁹ Distribusi ukuran droplet dan diameter droplet juga menentukan penampilan sebuah emulsi, karakter sifat alir dan profil pelepasan obat dari fase dispers. Diameter droplet dan distribusi ukuran droplet seringkali digunakan untuk memprediksi stabilitas emulsi.²

Untuk mencegah terjadinya penggabungan droplet yang berakhir pada *coalescence* droplet, *emulgator* pada antar fase yang tidak saling bercampur akan teradsorpsi sebagai lapisan pada sekeliling droplet. Lapisan *emulgator* pada droplet harus kuat namun fleksibel agar tidak mudah rusak selama terjadi tumbukan antara droplet. Lapisan tersebut berperan sebagai barrier yang berwujud barrier sterik dan barrier energi. Sifat fisika lapisan yang terbentuk pada permukaan droplet sangat ditentukan oleh

teradsorpsinya emulgator pada permukaan droplet. Untuk meminimalisasi *coalescence*, emulgator akan membentuk film di sekeliling droplet.

Berdasarkan mekanisme aksi, *emulgator* digolongkan dalam tipe berikut:

1. **Surface active agent.** *Surface active agent* diadsorpsi pada antar fase membentuk *monomolecular film* untuk mengurangi tegangan antar muka sehingga mengurangi kecenderungan droplet untuk saling bergabung. *Surface active agent* digolongkan dalam kelompok anionik (sodium stearat, kalsium oleat, dan sodium lauril sulfat), kationik (setrimonium bromida dan heksadesil piridinium klorida), non-ionik (Span 80, Tween 80, polietilen glikol 40 stearat) dan amfifil (N-dodesil alanin).

Seringkali dalam sistem emulsi, kombinasi emulgator ditambahkan. Untuk membentuk emulsi stabil, kombinasi emulgator harus membentuk susunan yang rapat dan film yang kompleks di sekeliling droplet. Contoh kombinasi emulgator adalah tween 40 dan span 80 dalam membentuk sistem emulsi m/a. Bagian hidrokarbon dari Span 80 (sorbitan monooleat) akan terorientasikan di dalam droplet minyak, sedangkan cincin sorbitan akan berinteraksi dengan air (medium). Cincin sorbitan yang meruah akan mencegah bagian hidrokarbon Span 80 untuk saling berasosiasi di dalam droplet minyak. Ketika tween 40 (*polyoxyethylene sorbitan monopalmitat*) ditambahkan, bagian hidrokarbon dari tween 40 (sorbitan monopalmitat) berada dalam droplet minyak sedangkan cincin sorbitan dan rantai polioksietilen akan bergabung dengan air. Tween 40 akan terletak diantara molekul Span 80 sedemikian sehingga terbentuk film interfacial yang kuat untuk membentuk sistem emulsi m/a yang stabil.

2. **Koloid hidrofilik.** Koloid hidrofilik akan membentuk *multimolecular film* di sekeliling droplet pada emulsi m/a. Sebagai emulgator, koloid

hidrofilik lebih menekankan pada pembentukan film viskoelastis yang kuat menyelubungi droplet daripada penurunan tegangan antar muka. Dengan sifat viskoelastisitas tersebut, koloid hidrofilik mampu menahan terjadinya kerusakan sehingga memberikan stabilitas emulsi. Dalam medium air koloid ini mampu terhidrasi dan memberikan viskositas. Dengan peningkatan viskositas pada medium, *coalescence* droplet dapat dicegah. Namun demikian, emulgator ini memiliki kelemahan yaitu sangat rentan terhadap hidrolisis dan sangat sensitive terhadap perubahan pH. Beberapa senyawa yang tergolong dalam emulgator koloid hidrofilik adalah polisakarida (akasia, karagen, metilselulosa), protein (gelatin), glikosida (saponin), fosfolipid (lesitin), dan sterol (lemak wool dan kolesterol).

3. **Partikel padat halus.** Partikel ini akan diadsorpsi pada antar fase dan membentuk film partikel di sekeliling fase dispers. Untuk dapat bekerja secara efektif, partikel solid ini harus berukuran jauh lebih kecil dari pada ukuran droplet dan mampu memberikan sudut kontak yang sesuai pada ketiga fase, yaitu minyak/air/padatan.¹⁰ Contoh senyawa emulgator dalam golongan partikel halus adalah bentonit, veegum, dan aluminium hidroksida.

KESIMPULAN

Beberapa teori tentang pembentukan emulsi dan mekanisme emulgator dalam menciptakan stabilitas emulsi telah dipaparkan di atas. Terjadinya suatu emulsi biasanya diterangkan dalam ketiga teori emulsifikasi secara terintegrasi, karena untuk membuat suatu emulsi stabil, ketiga teori dan mekanisme emulgator terlibat bersama-sama. Gabungan beberapa emulgator dengan masing-masing fungsi sesuai dengan masing-masing mekanisme aksi juga terlibat dalam formulasi suatu emulsi.

Daftar Pustaka

1. Friberg SE, Quencer LG, Hilton ML. Theory of Emulsion. 1 ed. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker Inc; 1996.
2. Sinko PJ. Martin's Physical Pharmacy And Pharmaceutical Sciences. 5 ed. Philadelphia Baltimore New York London Buenos Aires Hong Kong Sydney Tokyo: Lippincott Williams and Wilkins; 2006.
3. Cui J, Yu B, Zhao Y, Zhu W, Li H, Lou H, et al. Enhancement of oral absorption of curcumin by self-microemulsifying drug delivery systems. Int J Pharm. 2009 Apr 17;371(1-2):148-55.
4. Eccleston GE. Emulsions and Microemulsions. In: James S, editor. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, 3 ed. USA: Informa Healthcare 2007.
5. Atwood D. Pharmaceuticals The Science of Dosage Form second ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2002.
6. Im-Emsap W, Siepmann J, Paeratakul O. Disperse System. 4 ed. New York, Basel: Marcel Dekker, Inc; 2002.
7. Mollet H, Grubenmann A. Formulation Technology Emulsion, Suspensions, Solid Forms. Weinheim-New York-Chichester-Brisbane-Singapore-Toronto: Wiley-VCH; 2001.
8. Becker P. Encyclopedia of Emulsion Technology. New York: Dekker; 1985.
9. Jiao J, Burgess DJ. Ostwald Ripening of Water in Hydrocarbon Emulsions. Journal of Colloid and Interface Science. 2003;264(509-516):5.
10. Alonso MJ. Nanoparticulate Drug Carrier Technology. New York: Marcel Dekker; 1996.

Karakteristik Aliran Darah Pada Kanker Serviks Dengan Menggunakan Doppler Sonografi

Harry Kurniawan Gondo

Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

ABSTRAK

Transvaginal color Doppler adalah teknik non-invasif yang berbasis *ultrasound* dan memungkinkan penilaian vaskularisasi tumor secara *in vivo* pada kanker serviks, memiliki sensitivitas 81% dan spesifitas 93%. Penelitian ultrasonografi warna, *peak systolic velocity* (PSV) dan nilai tahanan/*resistance index* (RI), ditemukan terjadinya peningkatan dari vaskularisasi dengan pemeriksaan *color Doppler*, rendahnya nilai RI dan peningkatan nilai PSV, berhubungan dengan ukuran volume kanker serviks lebih dari 4 cm. Ultrasonografi transvagina memiliki nilai diagnostik dan prognostik pada kanker serviks, di mana hal ini berhubungan dengan sifat angiogenesis dari kanker serviks.

Pemeriksaan vaskular indeks dengan Doppler pulsatil pada kasus kanker serviks, yaitu indeks tahanan/*resistance index* (RI), indeks pulsasi/pulsasi index (PI), dan kecepatan sistolik maksimal (*peak systolic maximal velocity*) dari arteri uterina cabang descendens. Perbedaan antara indeks tahanan dengan indeks pulsasi di dalam cabang ascendens dan descendens arteri uterina tidak bermakna, tetapi perbedaan antara kecepatan sistolik puncak sangat bermakna. Terdapat perbedaan karakteristik aliran antara penderita kanker serviks dengan wanita sehat, di mana indeks tahanan dan indeks pulsasi berbeda secara bermakna.

Kata kunci: *Doppler ultrasound, resistance index, pulsatil index, kanker serviks*

Color Doppler Transvaginal is technique of noninvasif being based on ultrasound and enable assessment of tumor vaskularisasi by *in vivo* at cancer of serviks, have sensitivitas 81% and specifitas 93%. Research of colour ultrasonografi, Peak Systolic Velocity (PSV) and Resistane Index (RI), found by the make-up of from vascularities with inspection of Doppler color, and lower him of nila RI and improvement of value of PSV, relate to cancer volume size measure of serviks more than 4 cm. Ultrasound tranvagina have diagnostic and prognostic value in cervical cancer, which is associated with angiogenesis properties of cervical cancer.

Vascular examination with Doppler pulsatil index in cervical cancer cases, the index resistance (Resistance Index, RI), the index of pulsation (pulsation index, PI), and maximal systolic velocity (Peak systolic Maximum Velocity) of uterine artery branches descendens. The difference between resistance index with pulsation indices in the ascending and descending branches of uterine artery was not significant, but the difference between peak systolic velocity is very meaningful. There are differences in flow characteristics between patients with cervical cancer in a healthy woman, where the index of resistance and the pulsation index was significantly different.

Keyword: Doppler ultrasound, resistance index, pulsatil index, cervix cancer

PENDAHULUAN

Kanker serviks adalah salah satu dari keganasan ginekologi yang paling sering dibandingkan dengan kanker endometrium dan kanker ovarium. Kanker serviks dapat diterapi dengan pembedahan, radiasi, kemoterapi atau kombinasi ketiganya. Karakteristik aliran darah kanker serviks yang telah terbukti secara histologis berbeda dengan jaringan serviks normal. Parameter aliran darah kanker serviks juga dapat dievaluasi dengan USG Doppler berwarna dan USG Doppler pulsasi, di mana ditemukan perbedaan bermakna dalam *mean* nilai indeks tahanan dan indeks pulsasi di antara pasien dan kontrol sehat.¹⁻³

Ultrasonografi transvaginal merupakan salah satu teknik pencitraan untuk mengevaluasi proses patologis dalam rongga pelvis, seperti pada kanker serviks. Tidak adanya *neovascularization* dan indeks pulsatil yang tinggi, menandakan tidak adanya proses invasif pada tumor tersebut. Pada keadaan yang berbeda, di mana indeks tahanan rendah, dapat dicurigai terjadi suatu keganasan. Keadaan yang rendah tahanan vaskularnya,

kecepatan aliran darah yang tinggi, menunjukkan proses angiogenesis yang tinggi, dan merupakan salah satu karekteristik dari keganasan.^{4,5}

SEJARAH PERKEMBANGAN DOPPLER VELOSIMETRI

Prinsip Doppler pertama kali diperkenalkan oleh Christian Andreas Doppler dari Austria pada tahun 1842. Penggunaan dibidang kedokteran dengan menggunakan teknik *Doppler ultrasound* pertama kali dilakukan oleh Shigeo Satomura dan Yosuhara Nimura yang menggunakannya untuk mengetahui pergerakan katup jantung pada tahun 1955. Pada tahun 1966, Kato dan I. Izumi adalah yang pertama kali menggunakan osiloskop pada penggunaan Doppler ultrasound sehingga pergerakan pembuluh darah dapat didokumentasikan. Pada tahun 1968 H. Takemura dan Y. Ashitaka dari Jepang memperkenalkan penggunaan Doppler velosimetri di bidang kebidanan dengan menggambarkan tentang spektrum Doppler dari arteri umbilikalis. Sedangkan di negara barat penggunaan Doppler velosimetri di bidang kebidanan baru dilakukan pada tahun 1977.

Pada tahun 1974 L. Porcelot memperkenalkan resistensi indeks di Perancis. Pada tahun yang sama Gosling dan King memperkenalkan *pulsating index*.⁵⁻⁷

Ultrasonografi pada mulanya dimulai dengan gambar *B-scan* yang relatif kasar pada tahun 1950-an, yang kemudian berkembang dengan penemuan teknik "*real time*" dan peningkatan kontras gambar (*grey scale*) pada sekitar tahun 1970. Kombinasi pemeriksaan Doppler dengan teknik *imaging* sebelumnya, pada dekade 1980 lebih meningkatkan kemampuan modalitas ini sebagai alat *diagnostis imaging*.

Spectral Doppler dapat merupakan *continuous wave* (CW) dan *pulsed wave* (PW). Pada CW kita menggunakan signal frekuensi tinggi yang tidak menimbulkan gambaran aliasing, tetapi tidak mampu menentukan lokasi, kedalaman jarak tertentu. Sedangkan PW menggunakan frekuensi terbatas sehingga dapat menentukan jarak, tetapi menimbulkan aliasing. Dalam perkembangannya kemudian muncul Doppler berwarna yang merupakan PW. Frank Barber memperkenalkan *duplex Doppler* yaitu dengan kombinasi pemeriksaan *B-scan* dan *spectral Doppler* pada tahun 1974. Pada tahun 1978 diperkenalkan oleh M. Brandestini dan F. Foster *2D color flow imaging*.^{5,6}

Dengan *color Doppler imaging* aliran diberi tanda dengan simbol warna di mana bila mengalir ke arah transduser akan memberikan warna merah dan jika menjauhi akan memberikan warna biru, bila terjadi pencampuran maka menunjukkan adanya turbulensi. Dengan demikian kita akan mengetahui adanya aliran, arah aliran, apakah ada turbulensi. Pada perkembangan selanjutnya dikenal Doppler angiografi di mana merupakan perkembangan selanjutnya dari *color Doppler* di mana dengan alat ini kelemahan Doppler velosimetri yang tidak dapat digunakan untuk mengetahui diameter pembuluh darah, dengan alat ini kelemahan itu bisa diatasi karena alat ini dapat ditunjukkan gambaran vaskuler dan alirannya.

FISIKA DASAR GELOMBANG ULTRASONIK

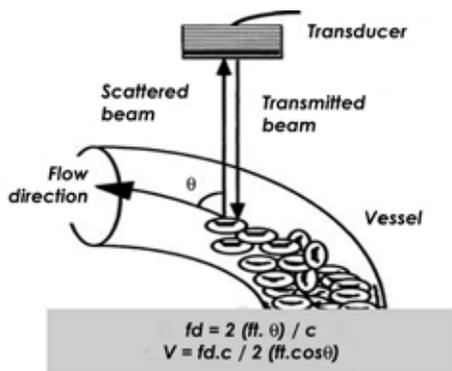
Gelombang ultrasonik sebetulnya merupakan gelombang suara, yang berbeda dalam hal frekuensi, oleh karena itu sifat-sifat fisik gelombang suara berlaku juga bagi gelombang ultrasonik. Alat diagnostik USG menggunakan gelombang ultrasonik yang mempunyai frekuensi antara 1-10 MHz; sedangkan yang dipakai dalam bidang obstetri biasanya mempunyai frekuensi antara 3-5 MHz. Untuk *probe* intravaginal mempunyai frekuensi 7,5 MHz.

Teknik pencitraan pada ultrasonografi menggunakan gelombang suara dengan frekuensi tinggi yang terputus-putus (*intermittent*) yang ditimbulkan dari transduser yang dibuat dari bahan yang mengandung kristal yang kemudian mengubah energi listrik men-

jadi gelombang suara dengan frekuensi tinggi dan mengubah gelombang pantulannya menjadi energi listrik. Jadi tiap kristal pada transduser selain sebagai pengirim gelombang juga sebagai penerima gelombang pantulannya. Gambaran yang diperoleh adalah gambaran dua dimensi yang dihasilkan ketika gelombang pantulan *ultrasound* ditampilkan pada layar osiloskop. Signal yang dipantulkan dirubah dari gelombang suara menjadi energi listrik. Pada osiloskop gelombang suara yang dipantulkan akan memberikan gambaran di mana tulang akan memberikan gambaran yang lebih terang dari pada jaringan yang kurang padat seperti otot, otak, lemak.

Tinggi rendahnya nada dari suara sirine akan berubah makin tinggi ketika ambulans mendekat dan makin rendah ketika ambulans menjauh. Hal yang sama akan terjadi pada aliran darah yang memantulkan gelombang suara yang dipancarkan dan kemudian ditangkap lagi oleh transduser ultrasonografi, di mana akan terjadi pergeseran frekuensi yang proporsional terhadap kecepatan aliran darah. Dengan kata lain frekuensi dari suara yang dipantulkan sesuai dengan kecepatan gerakan sel darah merah.^{3,5-8,10}

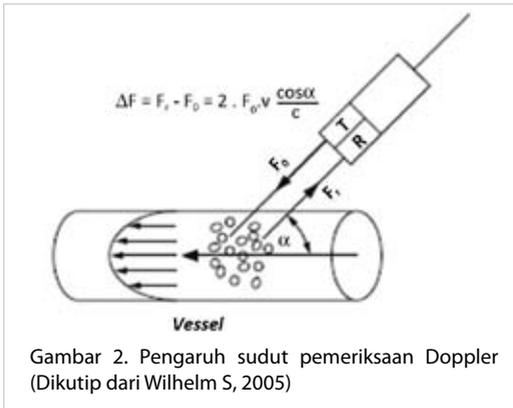
Kecepatan suara pada jaringan adalah konstan, frekuensi transduser diketahui, jika sudut antara pembuluh darah diperkirakan konstan maka perbedaan frekuensi Doppler akan sama proporsinya dengan kecepatan aliran darah. Frekuensi yang dipergunakan pada Doppler velosimetri adalah 3-5 MHz. Kecepatan aliran darah dapat diperhitungkan dengan persamaan (Gambar 1).



Gambar 1. Prinsip dasar Doppler ultrasonografi (Dikutip dari Dev Maulik, 2005)

- f_d : perubahan frekuensi ultrasound atau perubahan Doppler
- f_t : frekuensi yang dikirimkan oleh alat *ultrasound*
- V: kecepatan aliran sel darah merah (kecepatan aliran yang memantulkan)
- θ : sudut antara transduser dengan arah pergerakan aliran darah
- c: kecepatan suara pada medium (1,540 m/detik)

Pada penggunaan Doppler velosimetri beberapa hal yang perlu diketahui dan diperhatikan, sudut yang ideal antara transduser dengan pembuluh darah adalah antara 30°–60°, sehingga kesalahan penghitungan dapat dibuat seminimal mungkin, karena bila sudut kurang dari 30° signal akan hilang oleh karena dibiaskan, sedangkan bila lebih dari 60° signal akan hilang karena perbedaan frekuensi Doppler sangat kecil. Bila sudut Doppler 90° maka beda frekuensi adalah 0 karena $\cos 90^\circ$ adalah 0 (Gambar 2).



Gambar 2. Pengaruh sudut pemeriksaan Doppler (Dikutip dari Wilhelm S, 2005)

Di samping itu *Doppler velosimetri* mempunyai keterbatasan karena bervariasinya diameter pembuluh darah sehingga menimbulkan suatu problem dalam penggunaannya dibidang obstetri dan ginekologi, karena Doppler velosimetri berwarna yang konvensional di mana masih menggunakan transduser dengan frekuensi rendah tidak dapat secara akurat menentukan diameter pembuluh darah.^{6,7,10,12}

INDEKS DOPPLER VELOSIMETRI

Untuk meningkatkan nilai akurasi pemeriksaan *Doppler velosimetri* ada beberapa indeks yang digunakan seperti:

1. S/D rasio: rasio puncak sistolik dengan diastolik akhir, juga dikenal dengan A/B rasio.
2. S/D rasio atau *notching*: S/D rasio dengan atau tanpa unilateral atau bilateral *notching* diastolik awal.
3. *Pulsating index* (S-D/mean): berguna bila gambaran aliran darah diastolik tidak ada atau terbalik.
4. *Pulsating Index* dan *notching*: indeks pulsatiliti dengan bilateral atau unilateral *notching* awal diastolik.
5. *Pulsating index* atau *notching*: indeks pulsatiliti dengan atau tanpa bilateral atau unilateral *notching* awal diastolik
6. *Resistance index* (rasio dari Pourcelot): puncak sistolik dikurangi akhir diastolik dibagi puncak

sistolik. (S-D/S)

7. *Resistance index* dan *notching*: resistensi indek dengan unilateral atau bilateral *notching* awal diastolik.
8. *Resistance index* atau *notching*: resistensi indeks dengan atau tanpa unilateral atau bilateral *notching* awal diastolik.
9. A/C ratio: rasio puncak sistolik dengan diastolik awal.
10. *Notching*: adanya *notching* diastolik awal bisa unilateral maupun bilateral
11. *Bilateral notching*: ditemukannya gelombang *notching* awal diastolik pada kedua arteri uterina.
12. *Unilateral notching*: adanya awal diastolik *notching* pada satu arteri uterina.
13. D/S ratio: rasio antara diastolik dengan sistolik.
14. D/S ratio atau *notching*: D/S rasio dengan atau tanpa unilateral atau bilateral *notching* awal diastolik.
15. *Notch index* (*notch depth index*): *notch* dikurangi diastolik awal dibagi dengan *notch*.

ULTRASONOGRAFI (USG) TRANSVAGINAL DOPPLER VELOSIMETRI ARTERI UTERINA

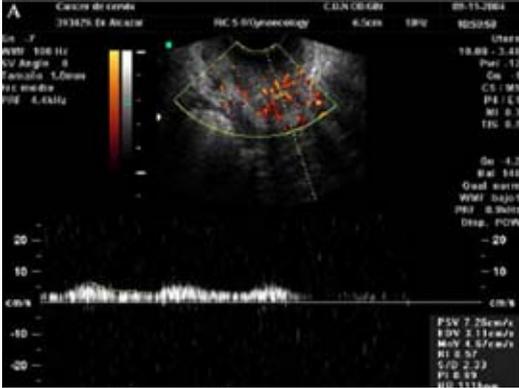
Angiogenesis adalah produksi pembuluh darah baru pada area spesifik. Telah ditunjukkan bahwa neoangiogenesis adalah peristiwa yang diperlukan untuk pertumbuhan tumor serta progresinya. Proses angiogenesis menginisiasi degradasi membran basal pembuluh darah kapiler, di mana melalui proses ini sel endotel yang bermigrasi membentuk tunas dan berproliferasi untuk membuat lumen baru dan untuk maturasi pembuluh darah lebih lanjut.¹¹⁻¹⁴

Secara khusus, pada kanker serviks, angiogenesis telah ditunjukkan sebagai faktor prognostik independen dan untuk memprediksikan rekurensi. Angiogenesis tumor biasanya dinilai dari faktor *vascular endothelial growth factor* (VEGF), melalui pengecatan imunohistokimia. Ini berarti dibutuhkan perangkat histologis untuk melakukan penilaian. *Transvaginal Doppler ultrasound* memungkinkan penilaian angiogenesis tumor secara *in vivo*. Ultrasonografi Doppler dapat digunakan dalam beberapa cara.^{4,1,11,15,16}

1. Doppler pulsasi (*pulsed Doppler*).

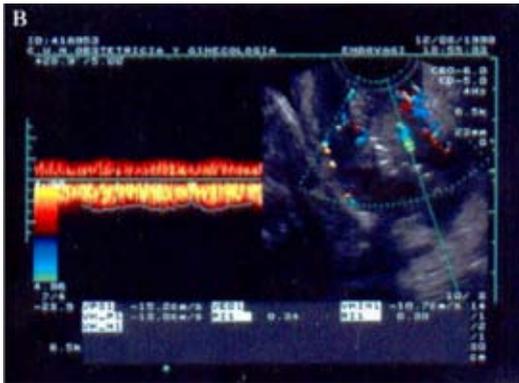
Memungkinkan penilaian kecepatan aliran darah serta resistensinya pada pembuluh darah tertentu pada waktu tertentu dengan menganalisis apa yang disebut bentuk gelombang kecepatan aliran *flow velosimetri waveform* (FVW), dan dengan menghitung kecepatan aliran darah sepanjang siklus jantung, meliputi kecepatan sistolik puncak *peak systolic velocity* (PSV) cm/detik, *mean* kecepatan dan kecepatan akhir diastolik, dan

resistensi terhadap aliran dengan menghitung sejumlah indeks velosimetrik seperti indeks tahanan (*resistance index*) ataupun indeks pulsasi (*pulsatil index*). Semakin tinggi kecepatan maka semakin rendah RI atau PI, ini berarti aliran darah akan semakin tinggi (Gambar 3).



Gambar 3A. (dikutip dari Juan Luis A, 2005)

- Tampak gelombang kecepatan aliran *flow velosimetri waveform* (FVW) dari 2 kanker serviks, di mana:
- Resistance* dan *pulsatil index* yang tinggi (RI=0,57 dan PI=0,89)
 - Resistance* dan *pulsatil index* yang rendah (RI=0,30 dan PI=0,34)



Gambar 3B. (dikutip dari Juan Luis A, 2005)

2. Doppler berwarna (color Doppler).

Ini memiliki prinsip yang sama dengan Doppler pulsasi (*Doppler frequency shif*) dan memungkinkan visualisasi pembuluh darah dengan pengkodean warna. Metode ini berguna untuk menentukan adanya pembuluh darah dan menyediakan informasi mengenai jumlah pembuluh darah (subyektif), distribusi, serta susunannya. Ini biasanya dikombinasikan dengan Doppler pulsasi (Gambar 4).

3. Power Doppler

Metode ini berdasarkan pergeseran amplitudo



Gambar 4. *Transvaginal color Doppler* dari kanker serviks (dikutip dari Juan Luis A, 2005) Tampak jelas massa yang kaya dengan pembuluh darah pada serviks. Pembuluh darah tampak berwarna merah atau biru, tergantung dari aliran darahnya. Warna kuning menunjukkan aliran darah yang tinggi.

sinyal Doppler, tetapi bukan berdasarkan pergeseran frekuensi. Ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan Doppler berwarna, yang membuatnya lebih sesuai untuk menilai vaskularitas (Gambar 5).



Gambar 5. *Transvaginal power Doppler* dari kanker serviks (dikutip dari Juan Luis A, 2005) Tampak semua pembuluh darah berwarna sama (tidak ada perbedaan warna, sehingga tidak menunjukkan arah aliran darah), tetapi menunjukkan pembuluh darah yang jelas.

Faktanya, studi terbaru telah menunjukkan bahwa sonografi Doppler berwarna dan *power Doppler* dapat digunakan untuk menggambarkan aliran di dalam arteri dan venul (>100 µm). Lebih lanjut, pengembangan terbaru agen kontras sonografi gelembung mikro serta kemampuan untuk menggunakan teknik harmoni dan inversi pulsasi telah memungkinkan penggambaran mikrovaskularisasi (<7-10 µm).

studi terbaru telah menunjukkan bahwa sonografi Doppler berwarna dan power Doppler dapat digunakan untuk menggambarkan aliran di dalam arteriol dan venul ($>100 \mu\text{m}$). Lebih lanjut, pengembangan terbaru agent kontras sonografik gelembung mikro serta kemampuan untuk menggunakan teknik harmonik dan inversi pulsasi telah memungkinkan penggambaran mikrovasularisasi ($<7-10 \mu\text{m}$).

APLIKASI TRANSVAGINAL COLOR DAN POWER DOPPLER PADA ANGIOGENESIS KANKER SERVIKS

Transvaginal color Doppler dan *power Doppler* serta hubungannya dengan ciri tumor pada kanker serviks, menilai hemodinamik pembuluh darah, memfokuskan kepada pembuluh darah pemberi nutrisi utama: arteri uterina dan cabang serviks dari arteri uterina. Pada dasarnya ini disebabkan oleh keterbatasan teknik USG Doppler ditemukan bahwa rerata *pulsatil index* (PI) lebih rendah pada arteri uterina wanita penderita kanker daripada wanita sehat. *Resistance index* (RI) intratumor lebih rendah pada pasien kanker serviks jika dibandingkan pada wanita sehat.

Doppler berwarna dengan *power Doppler* dalam menilai vaskularisasi intratumor, dapat memberikan sinyal warna pada 97% kanker dan menemukan bahwa PI maupun rasio vaskular (area *cross-section* pembuluh darah intratumor atau area *cross-section* tumor) yang ditetapkan dievaluasi, lebih rendah pada pasien kanker serviks. Dapat disimpulkan, bahwa angiografi *power Doppler* jauh lebih berguna dari pada Doppler berwarna karena rasio vaskular menyediakan karakteristik sonografik lebih banyak di antara subklasifikasi-subklasifikasi yang berbeda untuk kanker serviks.^{4,9,13}

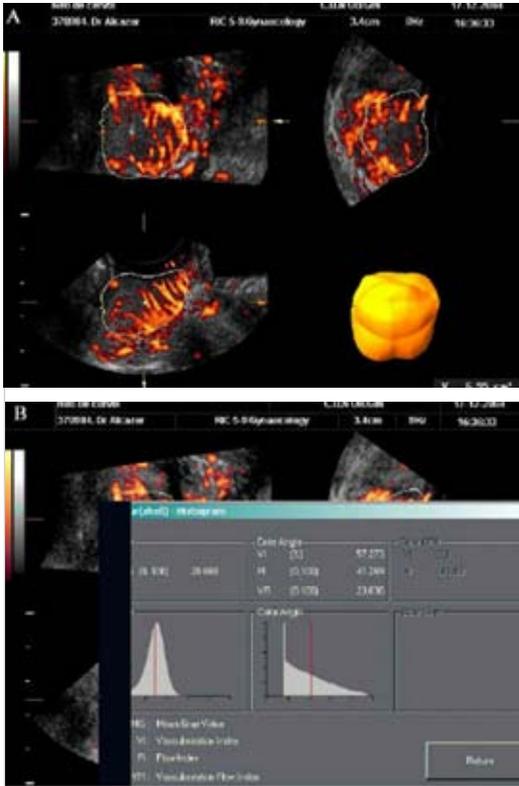
Kanker serviks menunjukkan sinyal warna aliran darah seperti yang dinilai dengan sonografi *transvaginal color Doppler*, bila sinyal warna yang dapat dideteksi, keterlibatan limfonodus lebih sering jika dibandingkan dengan kasus yang tanpa sinyal warna yang dapat dideteksi, dan ini juga berhubungan dengan indeks proliferasi sel yang lebih besar, tidak ditemukan perbedaan dalam stadium tumor, usia pasien, staging klinis, jenis histologis, dan status ploidi DNA.

Indeks vaskular (*vascular index=VI*) baru untuk penilaian angiogenesis *in vivo* pada pasien dengan karsinoma serviks, menggunakan USG *power Doppler transvaginal*, dan dengan menggunakan piranti lunak pemroses gambar, dengan metode ini sangat reproduksibel. Semakin tinggi VI, maka stadium tumor akan semakin tinggi, invasi ke stroma akan lebih dalam, tingkat invasi ruang limfovaskular akan lebih tinggi, dan tingkat metastasis ke limfonodus pelvis akan lebih tinggi. Indeks vaskular ini memiliki hubungan yang baik dengan densitas pembuluh darah mikro intratumor seperti yang dinilai secara imunohistokimia, yaitu pemeriksaan VEGF. Dapat disimpulkan, ada korelasi antara angiogenesis yang dinilai secara imunohistokimia dengan angiogenesis yang dinilai dengan *power Doppler*.

Bagaimanapun, penilaian pemetaan warna aliran darah tumor memiliki bias bawaan untuk subjektivitas dan ini dapat merepresentasikan masalah reproduksibilitas inter dan intra-observer jika mengaplikasikan teknik ini dalam *setting* klinis. Dalam beberapa tahun terakhir, *power Doppler* tiga dimensi telah diperkenalkan sebagai metode baru untuk menilai vaskularisasi tumor (Gambar 6).

Teknik ini memungkinkan penilaian vaskularisasi secara global pada area tertentu meliputi seluruh regio yang diinginkan, sehingga dapat merepresentasikan perkiraan vaskularitas tumor dengan lebih akurat dan nyata. Saat ini, hasil yang dilaporkan mengenai penggunaan sonografi *power Doppler* tiga dimensi untuk menilai vaskularisasi tumor pada kanker serviks masih kontroversial. Semakin tinggi vaskularisasi, maka semakin besar pula tumor tersebut dan stadiumnya semakin lanjut, aliran darah pada 85% tumor dan vaskularisasi tumor berhubungan dengan volume tumor.

Teknik pemeriksaan arteri uterina pada kanker serviks, mengikuti anatomi pembuluh darah yang memberikan perdarahan pada serviks. Suplai darah serviks uteri datang melalui cabang desendens arteri uterina. Jika pembuluh darah berada di dekat permukaan serviks, baik pengukuran pencitraan maupun Doppler memiliki kualitas buruk karena iregularitas lapangan USG yang dekat dan paralisis sirkuit elektronik segera setelah transmisi. Masalah



Gambar 6. Gambar *power doppler* tiga dimensi dari kanker serviks (dikutip dari Juan Luis A, 2005)

- A. Perkiraan volume kanker dengan kontur permukaan kanker serviks
- B. Pemeriksaan tumor vaskular indeks pada kasus kanker serviks

di sekitar *probe* ke struktur yang diukur dipecahkan dengan posisi *probe* yang tepat jika mungkin, atau jika tidak mungkin, dengan mengenalkan jalur pendaan antara permukaan *probe* dengan serviks. Digunakan irisan gel yang tidak mengalir dengan ketebalan 1 cm.

Langkah pertama dalam pengukuran selalu lokalisasi arteri uterina komunis. Cabang yang membawa ke serviks diikuti dari sana. Terlepas dari fakta bahwa ini diarahkan dengan arah yang berlawanan, cabang ascendens arteri uterina memiliki kecepatan sistolik puncak yang secara bermakna lebih tinggi sehingga dapat dibedakan dengan cabang descendens. Kemudian diukur indeks tahanan, indeks pulsasi, dan kecepatan aliran sistolik maksimal. Arah aliran di dalam pembuluh darah yang baru tumbuh biasanya tidak mungkin ditentukan, sehingga nilai absolut tunggal dari kecepatan sistolik memiliki kesalahan dengan perkiraan terlalu rendah yang tidak dapat ditentukan.^{2,4,9,13,18,20}

TRANSVAGINAL COLOR DOPPLER UNTUK KANKER SERVIKS

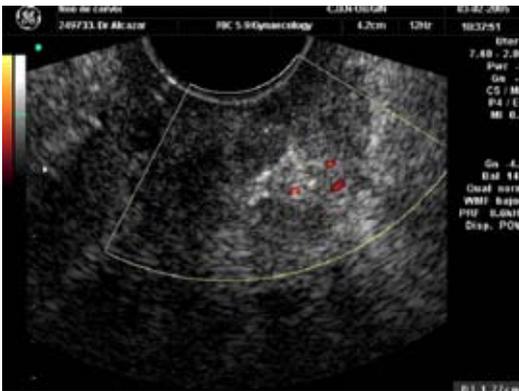
Vaskularisasi intratumor dengan pemetaan berwarna karsinoma serviks stadium lanjut yang diterapi dengan radioterapi eksternal. Penurunan vaskularisasi tumor selama radioterapi berhubungan dengan *outcome* yang lebih baik, sedangkan persistensi vaskularisasi yang tinggi berhubungan dengan respons buruk. USG Doppler berwarna berguna dalam penilaian awal untuk respons kanker serviks terhadap terapi. Oksigenasi berperan penting dalam respons terhadap radioterapi pada tumor solid dan karena oksigenasi tumor tergantung kepada angiogenesis, tumor dengan vaskularisasi yang lebih tinggi akan mendapatkan hantaran oksigen yang lebih tinggi ke jaringan sehingga akan menunjukkan respons yang lebih baik terhadap kemoradiasi pada kanker serviks dengan perluasan lokal.

Tumor dengan vaskularisasi yang lebih buruk menunjukkan respons yang lebih baik, hal ini dapat dijelaskan, (1) karena hubungan antara suplai darah dengan oksigenasi tidak ada pada tumor besar, (2) oksigenasi tumor akan tergantung tidak hanya kepada besarnya angiogenesis, tetapi juga kepada kemampuan pembuluh darah yang baru terbentuk untuk mensuplai oksigen. Telah ditunjukkan bahwa kemampuan ini terganggu pada pembuluh darah dengan angiogenesis, (3) seperti yang ditunjukkan sebelumnya, semakin tinggi vaskularisasi maka makin agresif pula tumor tersebut. Ini dapat menunjukkan bahwa tumor dengan vaskularisasi yang sangat tinggi dapat lebih resisten terhadap kemoterapi dan radioterapi. Rasio kemungkinan untuk respons komplis terhadap kemoterapi pada tumor dengan $PI \geq 0,45$.

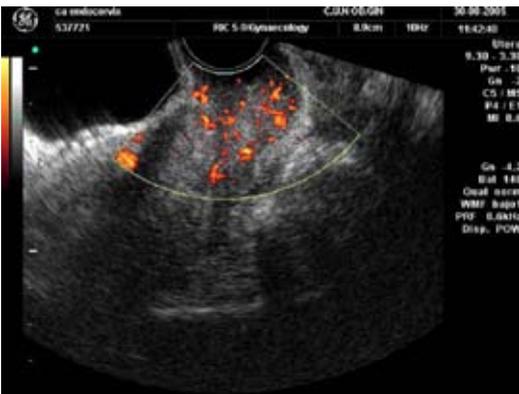
Transvaginal color Doppler ataupun *transvaginal power Doppler* memungkinkan penilaian vaskularisasi tumor secara non-invasif pada karsinoma serviks. Meskipun sebagian besar studi yang dipublikasikan datang dari dua kelompok, mereka telah menunjukkan bahwa vaskularisasi tumor seperti yang dinilai menggunakan teknik ini berhubungan dengan sejumlah karakteristik tumor individual seperti volume tumor, keterlibatan limfonodus, dan stadium tumor. Sampai saat ini, tidak ada konsensus mengenai parameter Doppler mana atau parameter mana yang berhubungan lebih baik dengan karakteristik tumor.

Teknik pemeriksaan ultrasonografi transvaginal pada kanker serviks, setelah *transducer* atau *probe* vaginal, dimasukkan dengan lembut ke dalam vagina, maka uterus dan regio adneksa di-*scan*. Ukuran tumor serviks diperkirakan menggunakan kaliper elektronik pada layar. Setelah ukuran tumor diperkirakan, maka *setting* ultrasonografi Dop-

pler berwarna diaktifkan untuk mengidentifikasi pembuluh darah intratumor. Sensitivitas warna disesuaikan untuk kecepatan rendah (1,5-10 cm/detik. PRF diset 6,0 kHz). Perolehan warna disesuaikan pada tingkat maksimal dan kemudian diturunkan sampai bising menghilang. Pembuluh darah perifer tidak dapat dipastikan sebagai neovaskularisasi ataukah pembuluh darah yang memang telah ada sebelumnya, maka hanya pembuluh darah sentral yang dievaluasi, pembuluh darah sentral jika lokasinya minimal 5 mm dari batas tumor. Jumlah vaskularisasi secara subjektif dinyatakan sebagai sedikit atau sedang (hanya sedikit titik warna yang terlihat) atau berlimpah (terlihat banyak titik warna) (Gambar 7 dan 8).



Gambar 7. Tampak ultrasonografi Doppler warna pada kanker serviks yang menunjukkan vaskularisasi yang jarang. (Dikutip, Matias J, Rosendo G, Monge RM, et al, 2008)



Gambar 8. Tampak ultrasonografi Doppler warna pada kanker serviks yang menunjukkan vaskularisasi yang banyak (Dikutip, Matias J, Rosendo G, Monge RM, et al, 2008)

Pulsatil indeks terendah secara bermakna lebih rendah pada pasien yang membutuhkan terapi lebih

Kemampuan Doppler transvaginal berwarna untuk menilai aliran darah intratumor pada kanker serviks, indeks velosimetridan sinyal warna berhubungan dengan sejumlah faktor prognostik pada kanker serviks. Semakin tinggi VI, maka semakin tinggi pula stadium tumor, semakin dalam invasi ke stroma.

lanjut. Kurva ROC menunjukkan bahwa nilai *cutoff* terbaru untuk PI adalah 0,82. Pasien dengan $PI < 0,82$ membutuhkan terapi pascaoperasi yang lebih sering. Untuk memprediksikan secara prospektif pasien yang akan menjadi kandidat terapi pascaterapi, dievaluasi kombinasi jumlah vaskularisasi dan $PI < 0,82$ berdasarkan faktor prognostik. Adanya vaskularisasi sedikit-sedang dengan $PI < 0,82$ atau vaskularisasi berlebihan dengan $PI > 0,82$ atau $PI < 0,82$ berhubungan prognostik kanker serviks yang buruk.^{10,11}

Kemampuan *Doppler transvaginal* berwarna untuk menilai aliran darah intratumor pada kanker serviks, indeks velosimetridan sinyal warna berhubungan dengan sejumlah faktor prognostik pada kanker serviks. Semakin tinggi VI, maka semakin tinggi pula stadium tumor, semakin dalam invasi ke stroma. VI ini berhubungan baik dengan densitas pembuluh darah mikrointratumor seperti yang dinilai secara imunohistokimia. Pada kanker serviks stadium awal di mana angiogenesis tumor dinilai dengan *power Doppler* tiga dimensi, ditemukan bahwa vaskularisasi tumor berhubungan dengan volume tumor. Aliran vaskular seperti yang dinilai dengan indeks velosimetrik (PI terendah) berhubungan hanya dengan invasi ke stroma yang lebih dari 10 mm.

Vaskularisasi tumor dan perannya untuk memprediksikan terapi kanker serviks, jumlah vaskularisasi dan PI terendah yang ditemukan di dalam tumor berhubungan dengan prognostik. Vaskularisasi yang meningkat setelah mendapat terapi adjuvan dan radiasi, lebih sering baik respon dengan ataupun tanpa kemoterapi simultan, terutama jika $PI < 0,82$.

Penggunaan indeks vaskular *power Doppler* tiga dimensi, sampai saat ini tidak ditemukan adanya hubungan antara indeks *power Doppler* tiga dimensi dengan ciri tumor. Indeks *power Doppler* tiga dimensi secara bermakna lebih tinggi pada tumor stadium lanjut dengan perluasan lokal jika dibandingkan

dengan kanker serviks stadium awal.

Hubungan antara angiogenesis tumor dan faktor prognostik untuk rekurensi pada kanker serviks. Vaskularisasi meningkat dan PI terendah berhubungan dengan respons dan prognostik dari kanker serviks.

Daftar Pustaka

- Jurado M, Galvan R, Martinez-Monge R, Mazaira J, Alcazar JL. Research: neoangiogenesis in early cervical cancer: correlation between color Doppler and risk factor. A prospective observational study. *Word Journal Of Surgical Oncology* 2008; 6:126-32
- Kerimoglu U, Akata D, Hazirolan T, Ergen FB, Kose F, Ozyar E, et al. Evaluation of radiotherapy response of cervical carcinoma with gray scale and color Doppler ultrasonography : resistance index correlation with magnetic resonance findings. *Diagnosis Intervensi Radiology* 2006; 6:155-60
- Zalud I. Doppler ultrasonography for gynecologic malignancies. In : Maulik D (ed), *Doppler ultrasound in obstetrics and Gynecology*, 2nd revised and enlarged edition, Springer:Germany; 2005.p.599-608
- Cheng WF, Lee CN, Chu JS, Chen CA, Chen TM, Shau WY. Vascularity index as novel parameter for the in vivo assessment of angiogenesis in patient with cervical carcinoma. *American Cancer Society* 1999:651-57
- Aschoush, S., Naggar, E. The technique and value of Doppler Ultrasonography. *Ain Sham Journal Obstetric Gynecology* 2005; vol 2 : 403- 06
- Maulik D. Spectral doppler: Basic principles and instrumentation. In: Maulik D (ed), *Doppler Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 2nd revised and enlarged edition, Springer:Germany; 2005.p.19-34
- Maulik D. Spectral doppler sonography: waveform analysis and hemodynamic interpretation. In: Maulik D (ed), *Doppler ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 2nd revised and enlarged edition. Springer:Germany; 2005.p.35-56
- Chudleigh T, Thilaganathan B. (2004) The physics of Doppler ultrasound and Doppler equipment. In: *Obstetric Ultrasound How, Why and when*. Elsevier Churchill Livingstone: United of Kingdom; 2004.p.209-22
- Dangoroe SB, Degwekar SS, Bhowate RR. Research: evaluation of the efficacy of colour Doppler ultrasound in diagnosis of cervical lymphadenopathy. *Dentomaxillofacial Radiology* 2008; 37:205-12
- Shung KK. Doppler flow measurements. In: Shung Kirk (ed). *Diagnostik Ultrasound Imaging and Blood Flow Measurements*. Taylor and Francis :USA; 2006.p.103-17
- Alcazar JL. Three dimensional ultrasound in gynecology: current status and future perspectives. *Current Women's Health Reviews* 2005; 1:1-14
- Schaberle W. Fundamental principles. In: *Ultrasonography in Vascular Diagnosis, a Therapy Oriented Textbook and Atlas*, Springer: Germany; 2005.p.1-26
- Alcazar JL. Transvaginal color Doppler in the assessment of cervical carcinoma, review article. *Cancer therapy* 2005; 13:139-46
- Trush A, Hartshorne T. Blood flow and its appearance on color flow imaging. In: *Peripheral Vascular Ultrasound How, Why and When*. 2nded. Elsevier Churchill Livingstone: China; 2005.p.49-62
- Zalud I. Doppler ultrasonography for benign gynecologic disorders, ectopic pregnancy, and infertility. In: Maulik D (ed), *Doppler Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 2nd Revised and Enlarged edition, Springer: Germany; 2005.p.569-94
- Zalud I, Platt LD. Three dimensional Doppler ultrasound in gynecology. In: Maulik D (ed). *Doppler Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2nd revised and enlarged edition. Springer:Germany 2005.p.557-67
- Breyer B. Physical principles of the Doppler effect and its application in medicine. In: Kurjaks A, Arenas JB (eds), *Donald School Text Book of Transvaginal Sonography*. Taylor and Francis:USA; 2005.p.343-54
- Bidus MA, Elkas JC. Cervical and vaginal cancer. In: Berek JS, Rinehart RD (eds). *Berek & Novaks Gynecology*. 14th edition. USA; 2007.p.1403-56
- Edianto D. (2006) Kanker serviks. Dalam: Aziz FM, Andrijono, Saifuddin AB, ed. *Buku Acuan Nasional Onkologi Ginekologi*. Jakarta, Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2006.p. 442-56
- Erak M, Baucal M. 3-D planning for gynecological tumors (cervix uteri) : procedure description. *Archieve of Oncology* 2005; 13(1):31-3
- Greene FL, Fritz AG, Winchester PD, et al. (2006) American Joint Committee on Cancer (AJCC) Cancer Staging Atlas : Cervix uteri. United States America:Springer Science; 2006.p. 249-57
- Hellweg GD, Doberitz MK, Trunk MJ. *Color atlas of histopathology of the cervix uteri*. 2nd edition. Berlin Germany:Springer Science; 2006
- Iyer R. Imaging gynecologic malignancies. In: Eifel PJ, Gershenson DM, Kavanagh JJ, et al. (eds), *Gynecologic Cancer*, Springer:USA; 2006.p.49-63
- acombe JA, Priore GD, Hiller. Cervical cancer. In: Smith JL, Healy J, Priore, eds. *Atlas Of Staging In Gynecological Cancer*. London:Springer Science; 2008.p.1-5
- Mahazer M, Sharifkashani SH, Sharifan H. Triplex ultrasonographic assessment of cervical lymph nodes. *Tehran Iran. Tehran University of Medical Sciences*; 2004
- Mardjikoeno P. Tumor ganas alat genital: Serviks uteri. Dalam: Wiknjosastro H, Saifuddin AB, Rachimadhi T, ed. *Buku Ilmu Kandungan*. Jakarta:Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 1997.p.380-89
- Masciullo V, Giardano A. Molecular genetic of cervical cancer. In: Giardano A, Bovicelli, Kurman JR, eds. *Molecular Pathology of Gynecologic Cancer*.United States of America:Humana Press; 2007.p.113-20
- Morris M, Levenback CS. Cervical cancer. In: Barakat R, Bevers MW, Gersherson GM, et al, eds. *Handbook Of Gynecologic Oncology*. United Kingdom:Martin Dunitz; 2001, p.225-42
- Suwiyoga K. Disertasi: Peran protein 53 (p53) dan protein retinoblastoma (pRB) pada karsinogenesis kanker serviks terinfeksi Human Papilloma virus tipe 16 dan 18: studi kasus kontrol. Denpasar, Program Doktor Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Udayana; 2005
- Rock JA, Jones HW. (2008) *Surgical of the anatomy pelvis*. In: *The Linde Operative gynecology 10th edition*. Lippincott Williams & Wilkins:USA; 2008.p.84 -113

Prof. dr. H. Endy Muhardin Moegni, SpOG(K) "Perlakukan Semua Pasien Sama"



Prof. dr. H. Endy Muhardin Moegni, SpOG(K)

Prof. dr. Endy Muhardin Moegni, SpOG(K) merupakan Guru Besar yang menjadi dosen dan konsultan Obstetri-Ginekologi di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia serta sebagai Ketua Himpunan Obstetri-Ginekologi Sosial (HOGSI) di POGI untuk kurun waktu 2009-2012.

Prof. yang dilahirkan di kota Lahat pada 26 Januari, yang pada awalnya sudah di terima di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan ITB Bandung berkeinginan menjadi insinyur dan sempat sudah mendaftar di ITB tetapi karena dorongan kedua orangtua yang sangat mengenal karakter beliau, menganggap bahwa beliau lebih cocok menjadi seorang dokter daripada seorang insinyur. Akhirnya beliau mendaftar kembali di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. "Setelah saya masuk kedokteran ternyata saya pun sangat menyenangkan dan menikmatinya", ujarnya.

"Kebetulan juga ketika saya masuk Fakultas Kedokteran pada tahun 1965, karena masalah politik waktu itu perplonconan ditiadakan sehingga diganti baris berbaris saja", ujarnya sambil tertawa.

Pilihannya untuk mengambil spesialisasi Obstetri-Ginekologi didasarkan karena di bidang ini bisa menolong 2 nyawa yaitu ibu dan anak. "Rasanya senang apabila bisa menolong keduanya de-

ngan selamat dan sehat, memang alasannya agak klasik ya?", tutur Prof. Endy sambil tersenyum.

Prof. Endy yang pernah menjabat sebagai Ketua Departemen Obstetri dan Ginekologi FKUI/RSCM (2000-2008) dan Kepala Laboratorium Patologi Obstetri Ginekologi, Subbagian Sitopatologi di Bagian Obstetri dan Ginekologi FKUI/RSCM mengatakan bahwa hal yang paling membanggakannya selama menjalani profesi sebagai dokter spesialis Obstetri-Ginekologi ada 2 yaitu pelayanan dan pendidikan. Yang pertama sebagai seorang yang bisa menolong pasien yang membutuhkan pertolongan. Menurutnya kepuasaan dalam menolong orang yang hamil dan melahirkan ada suatu kepuasan yang mungkin tidak bisa dinilai dengan uang. Apalagi melihat pasien yang tadinya belum hamil menjadi hamil dan melahirkan, terlihat kebahagiaan yang terpancar dari wajah mereka. Yang kedua adalah sebagai pendidik dilingkungan FKUI dan juga dalam memberikan informasi di acara-acara seminar dan simposium di mana dalam acara ini tidak hanya ilmu yang diberikan atau ilmu yang didapatkan tetapi di sini juga bisa menambah relasi baik dikalangan dokter maupun awam.

Menurut Prof. Endy, menjadi seorang dokter itu memang berat tetapi apabila kita bisa menikmati apa yang kita kerjakan, pekerjaan seberat apapun pasti bisa dijalani dengan senang. Tetapi yang terpenting buat beliau adalah di waktunya yang sibuk beliau akan meminta waktu istirahat paling tidak selama 30-45 menit di sore hari untuk memulihkan staminanya.

Tip Mengatasi Pasien yang Sulit Mempunyai Anak

"Ada hal-hal yang menurut saya masih perlu diperhatikan yang dapat saya pelajari dari almarhum Prof. Dr. dr. Sudraji Sumapraja bahwa dalam menangani masalah infertilitas harus secara sistematis karena sebagian besar masalah tersebut bisa diatasi dengan pemeriksaan dan pengobatan dasar infertilitas. Misalnya pemeriksaan ginekologi, laboratorium, analisa sperma, patensi tuba dan masa subur. Dengan pemeriksaan tersebut sebenarnya keberhasilannya sudah cukup tinggi. Kadang-kadang mereka yang sulit hamil itu tidak tahu kapan masa suburnya. Kalau semua pemeriksaan ini sudah dilakukan belum berhasil juga baru mulai meningkatkan pemeriksaan lanjutan misal-

nya pemeriksaan laparoskopi sampai bayi tabung, ujanya.

Pola Hidup Sehat

Menurut Prof. Endy, pola hidup sehat adalah pola hidup yang teratur. Contohnya pada diri beliau adalah sebarangpun sibuknya, beliau harus makan dan istirahat secara teratur. Apabila memang sudah waktu jam makan, beliau akan makan terlebih dulu baru melanjutkan aktivitasnya. Dimanapun itu baik di rumah sakit maupun tempat praktek. Prof. Endy juga masih rajin berolahraga, walaupun sangat sibuk beliau tidak pernah meninggalkan olahraga.

Prof. Endy mengatakan, "Orang juga pasti bingung bagaimana saya bisa mengatur waktu olahraga saya. Padahalnya yang namanya olahraga harus dilakukan secara kontinu paling tidak 3-4 kali seminggu. Walaupun pada awalnya agak kesulitan membagi waktunya. Saya mendapatkan suatu cara yang cukup efektif dan menyaranakan yaitu aerobik. Saya membeli 1 video gym yang bagus yang waktunya sekitar 30-45 menit. Itu diputar saja di TV kemudian saya ikutin. Dari sini bisa dikatakan, saya kontinu melakukan olahraga paling sedikit 4 kali seminggu tanpa terganggu masalah cuaca. Biasanya saya lakukan pada waktu setelah solat subuh. Itu saya lakukan sudah hampir 10 tahun ini". Kadang-kadang cara tersebut beliau sarankan juga ke pasien-pasiennya. Beliau juga melakukan *chek up* darah 3 bulan sekali. Keluarga beliau juga melakukan hal seperti itu walaupun olahraganya terkadang tidak sama seperti yang beliau lakukan. Tapi setidaknya mereka juga melakukan pola hidup yang teratur.

Kesibukkan, memang banyak sekali memakan waktu sehingga waktu bersama keluarga sangat sempit. Apalagi di hari-hari biasa beliau jarang bertemu keluarga, karena pagi-pagi sudah harus berangkat dan pulang malam selesai praktek. Tapi beliau selalu menyempatkan setiap malam minggu, hari minggu atau hari-hari libur merupakan waktu untuk keluarga seperti mengajak anggota keluarga keluar untuk makan bersama, rekreasi, berkumpul di rumah untuk sekedar menikmati kebersamaan bersama anak dan cucu-cucunya yang kini berjumlah 5 orang.

Harapan di Masa Mendatang

"Saya bersyukur bahwa anak-anak saya sudah pada berhasil. Anak pertama adalah seorang dokter spesialis kulit; dr. Erawita, SpKK, anak kedua adalah

seorang dokter spesialis obstetri dan ginekologi; dr. Fernandi, SpOG yang juga staf di Departemen Obgin FKUI/RSCM dan anak ketiganya sedang menyelesaikan kuliah di Fakultas Psikologi Internasional Universitas Indonesia. Saya sangat bersyukur kepada Allah SWT bahwa semua anak-anak bisa mendapatkan pendidikan yang baik dan menjadi manusia-manusia yang berhasil dibidangnya masing-masing. Di masa mendatang saya hanya ingin menikmati masa pensiun saya. Biarlah anak-anak saya yang nanti menggantikan pekerjaan saya baik untuk mendidik di Departemen Obgin FKUI/RSCM maupun menjalankan klinik yang sudah saya rintis (Moegni Klinik Spesialis di Jl. Teuku Cik Ditiro 45A Jakarta). Walaupun sekarang mereka memang sudah mulai menggantikan sebagian pekerjaan saya. Misalnya, persalinan normal di malam hari saya serahkan ke anak saya karena saya juga harus menjaga kesehatan saya sendiri. Tapi di masa mendatang saya masih tetap ingin memberikan kuliah untuk memberikan wawasan dan sharing ilmu untuk para mahasiswa kedokteran", ujar Prof. Endy.

Menurut Prof. Endy semua anak-anak beliau memilih bidangnya sendiri-sendiri. Beliau sendiri tidak pernah memaksakan kedua anaknya untuk mengikuti jejaknya. Tetapi beliau selalu mengatakan tidak hanya pada anaknya tapi juga pada para mahasiswa-nya bahwa, "apabila Anda telah memilih bidang yang Anda sukai maka lakukanlah secara bersungguh-sungguh dan profesional. Semua orang apabila bisa menekuni bidang yang dipilihnya secara sungguh-sungguh dan profesional maka akan sukses. Tapi apabila tidak dilakukan secara sungguh-sungguh atau terpaksa akhirnya malah akan menjadi beban dan bahkan mereka tidak bisa menikmatinya".

Dan satu lagi yang beliau tekankan pada anaknya maupun pada para mahasiswa-nya, yaitu bahwa profesi dokter ini tidak akan membuat kita miskin tapi juga tidak akan dapat menjadi kaya-raya. Kalau mau menjadi kaya raya jadilah pedagang. Karena prinsipnya menjadi dokter itu adalah untuk menolong orang tanpa memperhatikan status sosialnya. Perlakukan semua orang atau pasien itu sama tidak boleh ada perbedaan-perbedaan dalam memperlakukan pasien. Menjadi seorang dokter itu memang tugasnya menyembuhkan pasien tanpa terlalu memikirkan imbalannya. Karena sebenarnya kita sudah mempunyai rezeki disitu dan yang terpenting adalah selalu mensyukuri apa yang kita dapat dari Allah SWT. Karena dengan bersyukur rezeki akan terus datang walaupun kita tidak memintanya. *Redaksi*

Vitamin B6 menjadi kebutuhan bakteri patogen dalam menimbulkan infeksi kronis

Helicobacter pylori merupakan bakteri penyebab timbulnya ulkus peptik dan beberapa bentuk kanker perut. Namun bagaimana mekanisme *H. pylori* dalam menimbulkan infeksi kronis pada manusia belum dapat dipastikan. Saat ini, beberapa antibiotik tersedia dalam jumlah terbatas yang sesuai untuk terapi infeksi akibat *H. pylori*. Efikasi dari beberapa komponen antibiotik mulai berkurang, akibat dari munculnya resistensi *H. pylori*. Oleh karena itu, diperlukan suatu strategi baru dalam manajemen terapi infeksi akibat *H. pylori*. Hal ini dapat dicapai dengan meningkatkan pemahaman pada dasar molekular dari *H. pylori*.

Sebuah penelitian dilakukan oleh Grubman, Monash University di Melbourne, Australia, yang memaparkan hubungan antara Vitamin B6 dan bakteri patogen, *H. pylori*. Grubman dan tim menggunakan pendekatan secara *in vitro attenuation* dan *gene expression profiling* untuk mengidentifikasi faktor virulens dalam *H. pylori*. Berdasarkan pendekatan tersebut, dapat diidentifikasi bahwa PdxA, enzim yang terlibat dalam biosintesis vitamin B6, merupakan faktor penting yang diperlukan *H. pylori* dalam menciptakan kolonisasi kronis pada tikus. Meskipun, vitamin B6 merupakan kofaktor di dalam berbagai reaksi metabolik selular, penelitian ini merupakan yang pertama dilakukan untuk menggambarkan hubungan antara vitamin B6 dan bakteri patogen. Secara khusus di dalam penelitian ini dijelaskan bahwa vitamin B6 merupakan faktor penting untuk struktur flagela, glikosilasi dan motilitas pada bakteri patogen. Sedangkan, tubuh mamalia sendiri tidak dapat melakukan biosintesis vitamin B6 de novo karena tidak memiliki enzim PdxJ dan PdxA tersebut.

Vitamin B6 merupakan kofaktor enzim di dalam berbagai reaksi selular, meliputi transaminasi, dekarboksilasi, dan rasemisasi. Enzim PdxA dan PdxJ merupakan enzim yang terlibat dalam biosintesis vitamin B6 pada *H. pylori* menjadi bentuk aktifnya yaitu PLP (*pyridoxal-5'-phosphate*). Dalam penelitian ini, PLP diidentifikasi sebagai kofaktor dari aminotransferase yang terlibat dalam glikosilasi flagela pada *H. pylori*. Glikosilasi flagela pada *H. pylori* diperlukan untuk pembentukan filamen flagela fungsional, motilitas, dan infektivitas.

Penelitian yang baru dipublikasikan minggu ini dalam *online journal mBio* mengidentifikasi PdxJ dan PdxA sebagai potensial target terapeutik dalam terapi infeksi mikroba patogen. Berbagai enzim yang berkaitan dengan PLP telah diidentifikasi sebagai target obat untuk terapi beberapa penyakit. Namun, Grubman dan tim mengusulkan penghambatan jalur biosintesis PLP de novo dengan menghambat enzim PdxJ dan PdxA akan memberikan nilai tambah dalam menghambat secara selektif pertumbuhan mikroba tanpa mempengaruhi fungsi vital dari sel tubuh inang yang terinfeksi. Dengan adanya penelitian ini, membuka peluang baru untuk mengembangkan inovasi target terapeutik dalam mengatasi bakteri patogen.

Sumber:

Grubman A, Phillips A, Thibonnier M, et al. Vitamin B6 is required for full motility and virulence in *Helicobacter Pylori*. *mBio* 2010; 1(3): e00112-10.

Downloaded from <http://mbio.asm.org/content/1/3/e00112-10.full.pdf+html>, on August 22, 2010

Tai Chi dapat Mengurangi Gejala Fibromialgia

Fibromialgia merupakan sindrom klinis yang umum dan kompleks, ditandai dengan adanya nyeri otot dan tulang yang tersebar luas dan berlangsung lama, rasa lelah, gangguan tidur, gangguan fisik dan psikologis. *Evidence based* terapi fibromialgia merupakan terapi yang sangat kompleks, melibatkan terapi medis, terapi kognitif, edukasi, dan latihan fisik.

Meskipun latihan fisik dapat membantu bagi penderita fibromialgia dan dianjurkan sebagai komponen utama terapi, banyak pasien yang masih mengalami nyeri bertahun-tahun setelah terdiagnosis untuk pertama kali, sehingga memerlukan pengobatan untuk mengontrol gejala. Perlu suatu pendekatan baru untuk mengurangi nyeri otot dan tulang pada pasien fibromialgia sehingga dapat meningkatkan kemampuan fisik, emosi dan kualitas hidupnya.

Tai chi adalah seni bela diri yang melibatkan tubuh dan pikiran yang berasal dari Cina. Seni bela diri ini mencampurkan antara meditasi yang lambat, lembut, dan pergerakan yang anggun serta pernafasan yang dalam dan relaksasi untuk memindahkan energi vital ke seluruh tubuh.

Tai chi telah dipraktikkan di Amerika oleh pasien penderita gangguan otot dan tulang serta kesehatan mental. Suatu studi menunjukkan bahwa dengan melakukan tai chi dapat mengurangi gejala fibromialgia dan dapat meningkatkan kualitas hidup pasien. Seni bela diri tai chi juga mempunyai kelebihan dan keuntungan untuk terapi pasien penderita reumatik kronis, seperti reumatoid arthritis dan osteoarthritis.

Suatu penelitian dilakukan oleh Chenchen Wang dkk, dan hasilnya diterbitkan tanggal 19 Agustus 2010 oleh *The New England Journal of Medicine*, dikatakan bahwa seni bela diri tai chi secara signifikan dapat meringankan gejala fibromialgia. Pada studi tersebut, peneliti *Tufts Medical Center* di Boston mengelompokkan sebanyak 33 pasien yang menderita fibromialgia untuk mengikuti program tai chi dan 33 pasien mengikuti program pemberian edukasi dan teknik peregangan. Tai chi dilakukan 2 kali seminggu selama 12 minggu dan setiap sesi berlangsung selama 60 menit. Kelompok tai chi dibimbing oleh seorang guru tai chi dengan pengalaman lebih dari 20 tahun. Setiap sesi termasuk pemanasan dan pemijatan (*self-massage*) kemudian diikuti dengan ulasan tentang prinsip, gerakan, teknik pernafasan, dan relaksasi. Selama studi ini berlangsung, pasien diinstruksikan untuk berlatih tai chi di rumah selama kurang lebih 20 menit setiap hari. Pada akhir minggu ke 12 penelitian, pasien dianjurkan untuk meneruskan latihan menggunakan DVD tai chi sampai 24 minggu.

Hasil yang didapatkan, pasien kelompok tai chi mengalami pengurangan gejala lebih baik dibandingkan dengan kelompok kontrol dan juga mempunyai kualitas hidup yang lebih baik. Pasien kelompok tai chi merasakan kualitas tidur yang lebih baik, rasa nyeri dan depresi berkurang. Mekanisme mengapa tai chi dapat mempengaruhi efek klinis fibromialgia masih belum diketahui. Sebagai latihan fisik yang kompleks dengan banyak komponen, tai chi dapat mempunyai mekanisme kerja melalui banyak jalur untuk memperbaiki kesehatan pasien.

Latihan fisik dapat meningkatkan kekuatan otot dan kadar asam laktat di dalam darah pada beberapa pasien yang menderita fibromialgia. Adanya latihan tubuh dan

pikiran dapat memperbaiki faktor psikososial, meningkatkan kepercayaan diri, dan membantu pasien untuk mengatasi rasa takut terhadap nyeri. Dengan melakukan latihan pernafasan dan mengatur gerakan, mendorong timbulnya rasa tenang dan damai yang dapat meningkatkan ambang rasa nyeri dan membantu memecah siklus nyeri. Semua faktor tersebut dapat mempengaruhi neuroendokrin dan fungsi imunitas begitu juga dengan neurochemical dan jalur analgesik yang mengarah kepada peningkatan perbaikan keadaan fisik, psikologis, dan psikososial yang kemudian secara keseluruhan akan meningkatkan kualitas hidup pasien fibromialgia.

Sumber:

Wang C, Schmid CH, Rones R, et al. 2010. A Randomized Trial Tai Chi for Fibromyalgia. The New English Journal of Medicine 2010
Available at: www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa0912611

Antiphospholipid Syndrome (APS)

Antiphospholipid syndrome adalah kumpulan gejala akibat trombosis arteri dan atau vena dari salah satu organ tubuh pada penderita dengan antibodi antifosfolipid (APA, antara lain antibodi antikardiolipin [ACA] kadar sedang atau tinggi). Mekanisme terjadinya trombosis karena antibodi antikardiolipin sebagai berikut:

1. Penghambatan koagulasi tidak efektif
ACA menghambat konversi Protein C menjadi Protein C aktif. Akibatnya Protein C aktif berkurang dan penghancuran F Va dan F VIII juga berkurang. Menghambat aktivitas trombin sehingga trombomodulin bersama trombin kurang mengaktifkan protein C yang disebut APC resisten yang bukan molekuler.
2. Meningkatnya aktivasi trombosit
Interaksi ACA dengan fosfolipid membran trombosit menyebabkan aktivasi trombosit.
ACA menurunkan sintesis prostasiklin sebagai anti agregasi menurun.
3. Gangguan fibrinolisis
ACA meningkatkan penghambat aktivator plasminogen (PAI1) di dalam darah, sehingga plasminogen yang dikonversi menjadi plasmin berkurang.
4. Mengaktifkan koagulasi
ACA meningkatkan sintesis faktor jaringan (*tissue factor*) oleh endotel, sehingga aktivasi koagulasi melalui sistem ekstrinsik meningkat.
5. Menghambat protein S secara langsung
6. Menghambat *annexin V*
7. Menghambat pelepasan tPA dari endotel

Gejala APS terjadi akibat trombosis pada arteri dan vena dari semua ukuran, diantaranya:

- Manifestasi kulit, antara lain livido retikularis disertai

trombosis arteri dan vena yang berulang (misalnya purpura nekrosis, ulkus stasis pada mata kaki juga dapat disertai trombosis vena dalam), valvular yang tidak normal, trombosis serebrovaskular, bersamaan dengan hipertensi esensial.

- Manifestasi neurologi yang beragam, antara lain migrain, demensia dan gejala psikiatrik karena multi infark akibat trombosis serebri yang tidak diobati, TIA, *small stroke syndrome*, oklusi arteri dan vena retina, penyakit DeGo, sindroma Sneddon, sindroma Guillian Barre, korea, kejang dan neuritis optikus.
- Manifestasi penyakit jantung
- Obstetrik, antara lain abortus yang diduga karena trombosis pada daerah plasenta yang sudah dimulai sejak permulaan kehamilan.

Diagnosis APS ditegakkan bila ada 1 kriteria klinik dan 1 kriteria laboratorium:

a. Kriteria klinis:

1. Trombosis
 - pembuluh darah kecil
2. Morbiditas kehamilan pembuluh darah satu atau lebih episode
 - arteri dan vena
 - tiga atau lebih keguguran berurutan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya dengan disangkakan kelainan anatomis, genetik, hormonal.
 - satu atau lebih kematian fetus dengan morfologi normal yang tidak dapat diterangkan penyebabnya, atau kematian fetus sesudah 10 bulan kehamilan
 - satu atau lebih kelahiran prematur neonatus morfologi normal, atau sebelum 34 minggu kehamilan disertai preeklamsia berat atau insufisiensi plasenta.

b. Kriteria laboratorium

1. Antibodi antikardiolipin (ACA)
 - IgG dan IgM dengan titer sedang atau tinggi pada 2 atau lebih pada pemeriksaan laboratorium dengan tenggang waktu 12 minggu.
 - *Beta 2 glycoprotein* (B2BPI) >99 persentil dalam tenggang waktu 12 minggu.
2. Lupus antikoagulan
Positif dalam 2 atau lebih pemeriksaan dalam waktu 6 minggu atau lebih.

Pengobatan APS bila dilihat dari etiopatogenesisnya, maka yang logis adalah antikoagulan dan antiagregasi trombosit. Khusus APS sekunder, tetapi ditambah dengan obat immunosupresi untuk menghilangkan antibodi (karena kompleksitas APS serta terjadinya trombosis). Pada infark miokardium karena ACA, trombolisis lebih efektif dibandingkan antikoagulan.

Rekomendasi pengobatan anti-trombosis pada APS dengan heparin intravena atau heparin berat molekul rendah sub kutan dalam jangka waktu lama dengan aspirin 81 mg. Khusus trombosis pada retina dianjurkan pemberian antikoagulan dan *pentoxiphilin*.

Dirangkum dari:

Antiphospholipid Syndrome (APS) yang dibawakan oleh Prof. Dr. Karmel Lidow Tambunan, SpPD, KHOM dalam Kegiatan Simposium Women's Health di Jakarta, 25 Juli 2010

Tips Sukses Inisiasi Menyusu Dini

Lubbi Ilmiawan

Medical Affairs Department, PT Dexa Medica, Jakarta,

Inisiasi Menyusu Dini (IMD) merupakan proses pemberian kesempatan kepada sang bayi untuk memulai (inisiasi) menyusu sendiri segera setelah lahir (dini). Dengan IMD, dapat menurunkan angka kematian bayi secara signifikan. Salah satu studi di Ghana menunjukkan bahwa dengan pemberian ASI di hari pertama kelahiran, dapat menurunkan angka kematian bayi sebesar 16%. Dan apabila ASI diberikan dalam 1 jam pertama setelah melahirkan, maka angka kematian bayi dapat diturunkan hingga 22%.

Ketika sang bayi lahir, segera bayi diletakkan di atas perut-dada ibu sedemikian rupa sehingga kulit bayi melekat pada kulit ibu (*skin to skin contact*) dan dibiarkan dalam posisi ini selama 1 jam, sampai bayi menemukan ASI sendiri. Manfaat *skin to skin contact* diantaranya menjaga suhu tubuh bayi tetap hangat (menurunkan kematian karena hipotermia), memindahkan bakteri normal dari kulit ibu ke bayi (menghindari serangan bakteri berbahaya/infeksi dari lingkungan sekitar), ibu dan bayi merasa lebih tenang. Banyak sekali manfaat lain yang bisa didapatkan dengan IMD, baik untuk bayi, ibu maupun ayah. Berbagai manfaat yang didapatkan dengan IMD dan ASI, diantaranya:

Manfaat untuk ibu:

1. Sentuhan, jilatan dan emutan bayi pada puting ibu akan merangsang produksi hormon oksitosin yang berfungsi merangsang sekresi ASI, merangsang kontraksi uterus (membantu melahirkan plasenta dan mengurangi risiko perdarahan), meningkatkan ambang rangsang nyeri dan membuat ibu tenang.
2. Mengurangi risiko kanker payudara, ovarium dan rahim.
3. Mengurangi risiko osteoporosis, diabetes maternal, dan *arthritis rheumatoide*.
4. Metode KB yang aman.

Manfaat untuk bayi:

1. Bayi mendapatkan kolostrum yang kaya dengan berbagai nutrisi, faktor pertumbuhan, vitamin A, sel imunologi dan antibodi, yang berfungsi melindungi bayi dari berbagai infeksi dan membantu perkembangan sistem imun bayi.
2. IMD menurunkan 22% kematian bayi dan 8.6% kematian balita.
3. ASI eksklusif yang diteruskan dengan ASI sampai 11 bulan saja dapat menurunkan 13% kematian balita. Namun demikian, dianjurkan ASI sampai 2 tahun.
4. ASI dapat menurunkan 40-47% kejadian infeksi gastrointestinal, mengurangi 17 kali risiko terjadinya pneumonia, mengurangi 6-8 kali risiko kanker pada anak (leukemia, neuroblastoma, limfoma maligna) dan juga mengurangi 40-50% risiko asma.

Manfaat untuk ibu, bayi dan ayah:

1. Jalinan kasih sayang antara ibu, bayi dan ayah lebih

- baik karena bayi lebih siaga dalam 1-2 jam pertama.
2. Dengan IMD akan meningkatkan keberhasilan menyusu eksklusif dan lebih lama disusui.
3. Ayah dapat mengadzankan dan mendoakan anaknya di dada ibu.

Berikut ini beberapa tips agar "Inisiasi Menyusu Dini" berjalan lancar:

1. Berikan suasana yang layak, nyaman dan penuh dukungan pada ibu saat proses kelahiran. Dianjurkan suami atau keluarga mendampingi ibu di kamar bersalin.
2. Setelah bayi lahir, segera dikeringkan terutama kepala (kecuali tangannya), tanpa menghilangkan *vernix*. Mulut dan hidung bayi dibersihkan, tali pusat diikat kemudian diperlihatkan ke ibu. Bisa dilakukan kontak pipi sebentar antara ibu dan bayi, ibu juga bisa mencium bayi.
3. Bila bayi tidak memerlukan resusitasi, telungkupkan bayi di dada-perut, di antara payudara ibu dengan kulit bayi melekat pada kulit ibu dan mata bayi setinggi puting susu. Bayi dan ibu tidak menggunakan baju, sehingga ada *full skin-to-skin contact*. Tetapi keduanya boleh diselimuti.
4. Anjurkan ibu menyentuh bayi untuk merangsang bayi mendekati puting. Biarkan bayi mencari puting sendiri.
5. Biarkan kulit bayi bersentuhan dengan kulit ibu selama minimal satu jam sampai proses menyusu awal selesai. Bila menyusu awal terjadi sebelum 1 jam, tetap biarkan kulit ibu – bayi bersentuhan sampai setidaknya 1 jam.
6. Bau payudara merupakan stimulus kuat yang akan mendorong bayi ke arah puting ibu. Bayi baru lahir indera penciumannya sudah berkembang.
7. Bila dalam 1 jam menyusu awal belum terjadi, bantu ibu dengan mendekatkan bayi ke puting, tetapi jangan memasukkan puting ke mulut bayi. Berikan waktu kulit melekat pada kulit 30 menit atau 1 jam lagi.
8. Proses menimbang, mengukur, suntikan vitamin K, dapat ditunda sampai proses menyusu awal selesai.
9. Ibu melahirkan dengan tindakan seperti operasi caesar, diberikan kesempatan untuk kontak kulit.
10. Rawat gabung bayi, dimana ibu dan bayi dirawat dalam satu kamar, dalam jangkauan ibu selama 24 jam. Berikan ASI saja tanpa minuman atau makanan lain kecuali atas indikasi medis. Jangan diberikan dot atau empeng.

IMD juga termasuk tahapan yang penting dalam mendukung kesuksesan program "10 Langkah Menuju Keberhasilan Menyusui" yang disampaikan oleh Menteri Kesehatan Dr. dr. Endang Rahayu Sedyaningsih, MPH dalam acara "Pekan ASI Sedunia 2010" pada awal Agustus 2010 ini di Jakarta. Untuk itu kita harus selalu memberikan edukasi dan mempromosikan pentingnya IMD kepada seluruh masyarakat Indonesia.

(Sumber: UNICEF, http://www.unicef.org/childsurvival/index_55388.html; www.depkes.go.id; World Breastfeeding Week (WBW) 2007 Action Folder; <http://selasi.net/>)



Produgen

100%
ASLI
KALSIMUM
SUSU

PRO Tulangmu dengan Produgen

Perkuat Tulang Anda dengan Kalsium

Tulang adalah komponen tubuh yang sangat penting, karena fungsinya sebagai penyangga tubuh. Kita bisa berdiri tegak karena tulang yang sehat dan kuat. Karena itu perlu diperhatikan bagaimana caranya agar tulang tetap sehat dan kuat sehingga bisa tetap berdiri tegak dan penuh percaya diri.

Tulang tersusun oleh mineral-mineral makro, antara lain kalsium dan fosfor sebanyak 70 persen. Sedangkan 30 persen lainnya adalah bahan organik yang berfungsi sebagai pembentuk tulang rawan agar tulang menjadi lentur. Bisa dibayangkan apabila asupan kalsium dalam makanan sehari-hari kurang, maka bahan pembentuk tulang keras juga berkurang. Bila hal ini berlangsung secara terus menerus maka akan terjadi osteoporosis atau biasa disebut kekeroposan tulang.

Tulang mengalami proses pembentukan yang dipengaruhi oleh sel Osteoblas. Proses pembentukan ini dapat tercapai secara maksimal apabila diimbangi dengan asupan kalsium yang cukup, makanan yang seimbang dan olahraga teratur. Selain itu tulang juga mengalami proses pelapukan yang dipengaruhi oleh sel Osteoklas. Proses pembentukan dan pelapukan ini berjalan seimbang sampai usia 30-35 tahun. Massa tulang mencapai puncaknya pada usia 20-30 tahun, yang sering disebut dengan 'peak bone mass'.

Pada usia 35 tahun massa tulang mulai mengalami penurunan, dan saat ini proses osteoklas lebih banyak dari pada osteoblas. Pada gambar berikut dapat dilihat grafik *Peak Bone Mass*.

Kalsium adalah salah satu mineral makro pembentuk massa tulang. Sumbernya bisa diperoleh dari makanan kita sehari-hari antara lain susu dan hasil olahannya, ikan teri, ikan dalam kaleng, sayuran hijau seperti daun singkong, tahu, tempe.

Menurut Dr. Samuel Oetoro, MS. Sp. Gizi Klinik, kebutuhan kalsium paling tinggi adalah saat remaja (9-18 tahun) diikuti dengan dewasa di atas 51 tahun dan 19-50 tahun. Mempersiapkan kepadatan tulang ini sebetulnya sepanjang hidup mulai dari masa anak-anak sampai hari tua. Dengan mengetahui kebutuhan kalsium untuk masing-masing umur, kita dapat memenuhi kebutuhan tersebut secara maksimal.

Kekurangan kalsium jelas menjadi masalah bagi tubuh terutama tulang. Pertumbuhan tulang menurut beberapa peneliti hanya bisa terjadi sampai di usia 20 tahun. Padahal remaja seumuran itu justru berhenti mengonsumsi susu. Di Indonesia, kebiasaan minum susu hanya terjadi pada masa bayi dan balita saja. Setelah itu, mayoritas masyarakat Indonesia tidak peduli akan pentingnya konsumsi kalsium ini.

Padahal salah satu cara yang mudah untuk memenuhi kebutuhan kalsium adalah dengan mengonsumsi susu tinggi kalsium. Susu tersebut lebih efektif penyerapan dan penggunaannya bagi tubuh karena sekaligus mengandung protein, vitamin D3, magnesium dan vitamin mineral lainnya.

Banyak orang yang takut mengonsumsi susu karena mengandung banyak lemak sehingga badan menjadi gemuk. Sebetulnya hal itu tidak perlu dikhawatirkan karena susu kalsium tinggi banyak yang diformulasikan tanpa lemak atau rendah lemak. Jadi dengan mengonsumsi susu tinggi kalsium disertai olahraga yang teratur dapat membantu merangsang proses osteoblas sehingga massa tulang padat dan terhindar dari osteoporosis. (www.produgen.com)

STIMUNO[®] Forte

immunomodulator

Jaga Daya Tahan Tubuh Anda Saat Sibuk



Di saat kita dituntut untuk selalu siap beraktivitas, penurunan daya tahan tubuh merupakan halangan yang sangat mengganggu. Oleh karena itu jaga daya tahan tubuh anda, apalagi pada masa-masa pancaroba sekarang dengan cuaca yang tak menentu, kadang panas kadang hujan.

Bila perlu minum STIMUNO Forte, Penjaga Sistem Imun, yang :

- Meningkatkan sistem imun tubuh.
- Dibuat dari bahan herbal (ekstrak *Phyllanthus niruri*/meniran)
- Memiliki sertifikat fitofarmaka (standart herbal tertinggi) dari BPOM

Komposisi :

Setiap kapsul mengandung :
Ekstrak *Phyllanthus niruri* 50 mg

Dosis yang disarankan :

3x1 kapsul sehari

GRANON[®]

Granisetron 1 mg



Praktis & Efektif mengontrol PONV selama **24 jam**¹



KEMASAN DAN NO.REG.
Kotak, 5 ampul @ 1 ml,
No.Reg: DKL0905044343A1
Merk Daftar R No.: IDM 000173782

- **Praktis**, pemberian single dose dapat mengontrol PONV selama 24 jam.
- Sangat **selektif** dengan afinitas yang tinggi sehingga efek samping lebih minimal dan durasi kerja lebih panjang.
- Lebih **efektif** dalam mengatasi PONV dibandingkan *ondansetron*.
- **Cost therapy terjangkau**.

 **Dexa** *limited* *tea*
Expertise for the Promotion of Health

Clozer®

clozapine 25 mg & 100 mg

Reintegration to the Society



Distribusi oleh:

 **inmark**
INDONESIA

Taman Cendek 11.7, J. Boulevard Selatan Blok B201 Box B
Kawasan Industri Kencana 1, Tangerang Selatan, DKI Jakarta
Telp: 021-5520-1000 / Fax: 021-5520-1001