

PENELITIAN**POLA ISOZIM LACTATE DEHYDROGENASE (LDH) HATI PADA HIPOKSIA SISTEMIK KRONIK: HUBUNGANNYA DENGAN METABOLISME GLUKOSA****Agus Evendi***Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kaltim*

Abstrak. Hipoksia adalah kondisi suplai oksigen yang tidak mencukupi keperluan sel, jaringan atau organ. Sebagai respon terhadap hipoksia, terjadi peningkatan glikolisis anaerob yang ditandai dengan peningkatan enzim laktat dehidrogenase (LDH). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari konsumsi glukosa, aktivitas spesifik LDH dan pola isozim LDH pada kondisi hipoksia sistemik kronik. Penelitian dilakukan terhadap hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik 1, 3, 7 dan 14 hari. Konsumsi glukosa diukur dengan metode enzimatik Trinder. Aktivitas spesifik LDH diukur dengan metode *German Society of Clinical Chemistry* (DGKC). Pola isozim LDH dianalisis dengan elektroforesis *Titan Gel*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsumsi glukosa pada hipoksia sistemik kronik cenderung meningkat walaupun tidak berbeda dengan kontrol. Aktivitas spesifik LDH ditemukan paling tinggi pada hipoksia 3 hari sedangkan pola elektroforesis isozim LDH menunjukkan perbedaan pada hari ke-3 dan ke-7 hipoksia dengan kontrol. Tidak terdapat hubungan antara konsumsi glukosa dengan aktivitas spesifik LDH.

Kata Kunci : Hipoksia, glukosa, LDH, elektroforesis

Abstract. Hypoxia is a condition of the supply of oxygen is insufficient for cell, tissue or organ. In response to hypoxia, an increase in anaerobic Glycolysis which is characterized by an increase in the enzyme lactate dehydrogenase (LDH). The aim of this study was to observe glucose consumption, specific activity of LDH and electrophoretic LDH isoenzyme patterns on systemic chronic hypoxia. The study was carried out with liver tissue of rats exposed to systemic hypoxia for 1, 3, 7 and 14 days. Glucose consumption was measured by Trinder method. The specific activity of LDH was performed using *German Society of Clinical Chemistry* (DGKC) method, while LDH isoenzyme patterns were analyzed using *Titan Gel* electrophoresis. Results indicated that glucose consumption showed tendencies to increase compared to control group, although the difference were not significant. The specific activity of LDH was highest on day 3 of the hypoxic group. Electrophoretic patterns of LDH isoenzyme showed differences on day 3 and day 7 of hypoxia with control. It is concluded that glucose consumption is not related to specific activity of LDH.

Key words: hypoxia, glucose, LDH, electrophoresis

PENDAHULUAN

Hipoksia merupakan suatu kondisi dimana suplai oksigen tidak mencukupi untuk keperluan sel, jaringan atau organ. Oksigen diketahui merupakan akseptor elektron terakhir dalam rantai transport elektron. Bila oksigen tidak mencukupi, transport elektron menjadi terganggu, terjadi deplesi ATP sehingga kebutuhan energi tidak dapat dipenuhi. Oleh karena pembentukan ATP dalam keadaan hipoksia harus diper-

tahankan, maka metabolisme akan beralih ke glikolisis anaerob.

Selama lebih dari satu dekade terakhir, pemahaman mengenai mekanisme adaptasi terhadap hipoksia pada level molekuler telah jauh berkembang. Sebagai respon terhadap hipoksia, terjadi peningkatan glikolisis anaerob yang ditandai dengan peningkatan enzim laktat dehidrogenase (LDH) (Lee,2004).

Selain menyebabkan peningkatan LDH, hipoksia juga menyebabkan pe-

ningkatan HIF. *Hypoxia Inducible Factor* merupakan molekul protein heterodimer, terdiri dari subunit α dengan berat molekul 120 kDa yang sensitif terhadap perubahan kadar oksigen dan subunit β dengan berat molekul 91-94 kDa yang merupakan protein konsitutif. HIF-1 α merupakan protein yang labil karena pada kondisi normal HIF-1 α didegradasi oleh sistem ubiquitin proteasom dan mengalami stabilisasi sebagai respon terhadap hipoksia (Bartrons,2007). Agar aktif, HIF-1 α harus membentuk kompleks dengan HIF-1 β , dan bertranslokasi ke inti untuk kemudian berikatan dengan *hypoxia response element* (HRE) pada promoter gen sasaran HIF-1 dan menginisiasi ekspresi gen. Banyak gen yang terlibat dalam *uptake* glukosa dan glikolisis ternyata merupakan gen sasaran dari HIF-1 α . HIF-1 α meregulasi ekspresi gen *Glucose Transporter* (GLUT) serta LDH (Semenza, 2007). Pada kondisi hipoksia, peningkatan ekspresi gen GLUT akan meningkatkan jumlah GLUT sehingga akan menyebabkan peningkatan *uptake* glukosa, yang merupakan salah satu mekanisme untuk memenuhi kebutuhan ATP. Pada kondisi hipoksia, peningkatan ekspresi gen LDH akan meningkatkan pembentukan laktat, oleh karena itu laktat sering digunakan sebagai petanda hipoksia (Pathak,2005). Ada dua jenis subunit LDH yang berbeda pada organisme yaitu subunit H terutama dihasilkan di otak dan otot jantung dan subunit M terutama dihasilkan di hati dan otot skeletal, yang disandi oleh gen berbeda dan sebagai konsekuensinya masing-masing organ mempunyai karakteristik pola LDH.

Pada kondisi hipoksia terjadi penurunan ATP. Untuk mengatasinya, metabolisme beralih menjadi anaerob. Pada metabolisme anaerob, terjadi peningkatan *uptake* glukosa dan peningkatan aktivitas LDH. Hati merupakan organ yang sangat aerob dengan fungsi yang sangat vital. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka yang menjadi perumusan masalah adalah apakah terjadi perubahan metabolisme pada jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik?

Tujuan umum penelitian ini adalah mempelajari proses glikolisis dalam jaringan hati tikus yang mengalami hipoksia sistemik. Adapun tujuan khususnya adalah membandingkan konsumsi glukosa antara jaringan hati tikus hipoksia dengan normoksia, membandingkan aktivitas enzim LDH antara jaringan hati tikus hipoksia dengan normoksia, membandingkan pola isoenzim LDH antara jaringan hati tikus hipoksia dengan normoksia dan menganalisis hubungan antara konsumsi glukosa, aktivitas LDH dan pola isozim LDH pada jaringan hati tikus hipoksia dan normoksia

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan cara eksperimen *in vivo* pada hewan coba tikus. Bahan yang diperiksa dari hewan coba adalah organ hati. Organ hati diperoleh dari 5 kelompok tikus perlakuan, yaitu: kelompok hipoksia 1 hari, kelompok hipoksia 3 hari, kelompok hipoksia 7 hari, kelompok hipoksia 14 hari dan kelompok kontrol (normoksia).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jalan Salemba

Raya No. 6, Jakarta Pusat. Penelitian berlangsung sekitar 6 bulan, mulai bulan Juli 2009 sampai dengan Desember 2009.

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur *Sprague Dawley* jantan yang berusia 6 minggu dengan berat antara 130-200g. Etik penelitian diperoleh dari Departemen Kesehatan R.I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan No. : LB.03.02/KE/4783/08. Perlakuan hipoksia diberikan selama 1, 3, 7 dan 14 hari. Setelah perlakuan tikus dieuthanasia dengan menggunakan eter, dan jaringan hatinya diambil melalui pembedahan. Jaringan hati hasil perlakuan hipoksia ini, bila tidak langsung dikerjakan disimpan di *deep freezer* bersuhu -86°C .

Jaringan hati dikeluarkan dari *deep freezer* -86°C dan suhu sekitar jaringan tetap dijaga 4°C dengan meletakkan es kering di sekitar jaringan. Kemudian jaringan hati ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dimasukkan ke dalam *microtube*. Proses pembuatan homogenat dilakukan dengan menggunakan *micro homogenizer* dalam kondisi dingin (dalam es). Jaringan kemudian ditambah larutan dapar fosfat 0,1M pH 7,4 sebanyak 0,5 mL. Endapan dipisahkan dengan sentrifugasi pada suhu 4°C , 5000 rpm, selama 10 menit. Kemudian supernatan diambil dan disimpan pada suhu -4°C (homogenat hati).

Penentuan kadar protein homogenat hati menggunakan metode Warburg-Christian. Masing-masing larutan BSA (standar protein) dibuat dalam berbagai kadar (0,1mg/mL, 0,2mg/mL, 0,3mg/mL, 0,4mg/mL, 0,5mg/mL, 0,6mg/mL, 0,7mg/mL, 0,8mg/mL, 0,9mg/mL dan 1mg/mL).

Masing-masing kadar larutan BSA dibaca serapannya pada λ 280 nm. Hasil serapan masing-masing kadar larutan BSA dibuat menjadi satu kurva standar dengan menggunakan kadar larutan BSA sebagai sumbu x dan serapan sebagai sumbu y.

Sebanyak 5 μL homogenat hati ditambahkan akuabides hingga volume akhir 1000 μL . Tiap larutan homogenat hati dibaca serapannya pada λ 280 nm. Jika serapan homogenat hati melebihi serapan kadar standar, maka dilakukan pengenceran dengan akuabides. Kadar protein homogenat hati diukur berdasarkan serapan homogenat hati dan kurva standar. Nilai kadar protein homogenat hati yang dihasilkan kemudian dikalikan dengan pengenceran.

Pengukuran kadar glukosa homogenat hati menggunakan metode enzimatik TRINDER. Sebanyak 100 μL homogenat hati ditambah 100 μL glukosa (50mg/dL). Campuran ini kemudian divorteks dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Kemudian campuran ini ditambah 10 μL larutan TCA 8% dan divorteks lagi dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil untuk pemeriksaan selanjutnya, sedangkan endapannya dibuang.

Sebanyak 10 μL supernatan diambil dan ditambahkan 1000 μL reagensia warna. Campuran ini divorteks dan di inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Untuk blanko, sebanyak 10 μL akuabides diambil dan ditambahkan 1000 μL reagensia warna. Campuran ini divorteks dan di inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Untuk standar, sebanyak 10 μL larutan glukosa standar (200 mg/dL) diambil dan ditambahkan 1000 μL reagensia

warna. Campuran ini divorteks dan di inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Masing-masing sampel dilakukan dua pengukuran (duplo). Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 507nm.

Perhitungan kadar glukosa dilakukan duplo untuk tiap sampel. Hasil kemudian dirata-ratakan untuk tiap sampel yang sama dan penghitungan kadar glukosa dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar glukosa(mg/dL)} = \frac{\text{Serapan uji} \times 200 \text{ mg/dL}}{\text{Serapan standar}}$$

Pengukuran aktivitas LDH homogenat hati menggunakan metode *German Society of Clinical Chemistry* (DGKC). Sebanyak 10 μ L homogenat hati ditambah 500 μ L monoreagen, kemudian campuran di kocok-kocok. Masing-masing sampel dilakukan dua pengukuran (duplo). Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada λ 340 nm. Serapan dibaca setelah 1 menit dan serapan dibaca lagi setelah 1, 2 dan 3 menit.

Perhitungan aktivitas LDH dilakukan duplo untuk tiap sampel. Hasil kemudian dirata-ratakan untuk tiap sampel yang sama dan penghitungan aktivitas LDH dengan menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas LDH (U/L)} = \frac{\Delta \text{serapan uji}}{\text{Menit}} \times 8095$$

Isozim LDH dipisahkan berdasarkan pergerakannya dalam agarose menggunakan metode TITAN GEL LD *Isoenzyme*.

Uji statistik dilakukan dengan bantuan program *statistic computer* yaitu SPSS 12.0. Urutan uji diawali dengan

uji normalitas dan homo-genitas. Evaluasi perbedaan antara dua kelompok yakni kelompok jaringan hati tikus normoksia dan jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik menggunakan ANOVA

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian terhadap kadar glukosa, aktivitas LDH dan pola isozim LDH jaringan hati tikus normoksia dan jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik.

Konsumsi glukosa jaringan hati tikus normoksia dan jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik

Dari perhitungan didapatkan sebaran nilai pada konsumsi glukosa jaringan hati tikus normoksia dan jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik 1 hari, 3 hari, 7 hari, 14 hari, seperti ditampilkan pada Tabel 1.

Setelah dilakukan analisis statistik menggunakan uji Saphiro-Wilk, didapat data bahwa konsumsi glukosa berdistribusi normal ($p > 0,05$). Karena data berdistribusi normal maka analisis statistik parametrik dapat dilakukan. Analisis parametrik yang digunakan adalah ANOVA dan didapat hasil tidak berbeda bermakna antara kelompok perlakuan ($p > 0,05$).

Meskipun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, namun Tabel 1. memperlihatkan bahwa konsumsi glukosa pada kelompok hipoksia 1 hari, 3 hari dan 14 hari menunjukkan konsumsi glukosa yang lebih tinggi dibanding kelompok normoksia, namun lebih rendah konsumsi glukosanya pada kelompok hipoksia 7 hari.

Tabel 1. Konsumsi glukosa jaringan hati tikus ($\mu\text{g}/\text{mg}$ jaringan) kelompok normoksia dan jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik

Ulangan	Normoksia	Hipoksia			
		1 hari	3 hari	7 hari	14 hari
1	2.87	1.90	1.90	1.97	2.52
2	2.35	2.09	2.13	2.28	2.56
3	1.80	2.43	2.02	1.75	2.36
4	1.59	1.76	2.26	1.55	2.33
5	1.06	2.09	2.29	1.81	1.80
Mean \pm SE	1.93 \pm 0.31	2.05 \pm 0.11	2.12 \pm 0.07	1.87 \pm 0.18	2.31 \pm 0.13

Peningkatan konsumsi glukosa yang tidak berbeda bermakna ini diduga adanya sumber energi lain yang digunakan untuk menghasilkan energi, seperti oksidasi beta pada metabolisme asam lemak.

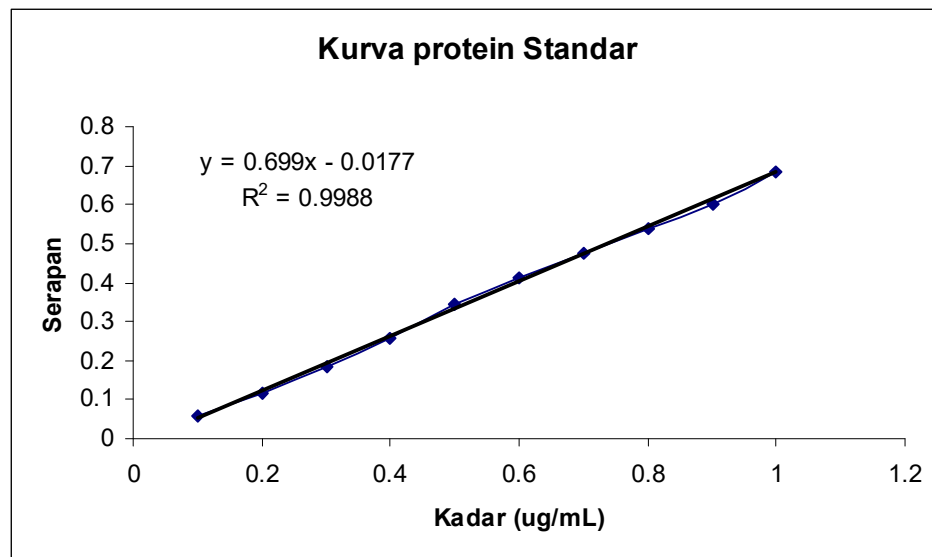
Aktivitas LDH jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik dan jaringan hati tikus normoksia

Penetapan aktivitas LDH dilakukan berdasarkan protein jaringan, oleh ka-

rena itu dilakukan pemeriksaan kadar protein jaringan hati.

Perhitungan kadar protein jaringan hati

Perhitungan protein jaringan dilakukan pada tiap sampel berdasar-kan kurva standar dengan meng-gunakan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan kadar 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 dan 1 mg/mL (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva standar protein *Bovine Serum Agar* (BSA)

Dari persamaan yang didapat dan setelah dikoreksi dengan pengenceran yang dilakukan, didapat kadar protein jaringan hati (mg/mL) pada masing-masing sampel seperti Tabel 2.

Perhitungan aktivitas LDH

Perhitungan aktivitas LDH dilakukan duplo untuk tiap sampel dan kemudian dihitung aktivitas spesifiknya per miligram protein. Dari perhitungan tersebut didapatkan sebaran nilai yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Analisis statistik terhadap aktivitas spesifik LDH jaringan hati menggunakan uji Saphiro-Wilk menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($p>0,05$). Oleh karena data berdis-

tribusi normal maka analisis yang dapat dilakukan adalah analisis parametrik. Uji parametrik yang dilakukan adalah uji ANOVA untuk menguji kemaknaan suatu kelompok perlakuan. Uji ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar semua kelompok perlakuan ($p<0,05$). Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana saja yang saling berbeda bermakna dilakukan uji LSD.

Tabel 3. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna aktivitas spesifik LDH antar kelompok perlakuan. Tampak bahwa pada awal hipoksia (kelompok hipoksia 1 hari), aktivitas spesifik LDH langsung menu-

Tabel 2. Kadar protein jaringan hati tikus (mg/mL) kelompok normoksia dan yang diinduksi hipoksia sistemik

Ulangan	Perlakuan				
	Normoksia (Kontrol)	Hipoksia 1 hari	Hipoksia 3 hari	Hipoksia 7 hari	Hipoksia 14 hari
1	48.84	39.54	55.42	48.27	54.99
2	55.99	42.69	52.99	37.83	41.40
3	51.56	42.69	51.13	45.55	42.55
4	57.14	45.84	52.99	46.55	42.55
5	58.43	43.98	44.41	48.56	53.71
Mean ± SE	54.39±1.81	42.95±1.03	51.39±1.87	45.35±1.96	47.04±3.00

Tabel 3. Aktivitas spesifik LDH jaringan hati tikus (U/µg protein) kelompok kontrol dan yang diinduksi hipoksia

Perlakuan	Normoksia (Kontrol)	Hipoksia			
		1 hari	3 hari	7 hari	14 hari
1	0.80	0.72	0.66	0.64	0.32
2	0.72	0.70	0.99	0.46	0.55
3	0.60	0.57	1.11	0.44	0.54
4	0.71	0.44	1.27	0.46	0.48
5	0.76	0.64	1.06	0.31	0.50
Mean ± SE	0.72±0.03	0.61±0.05	1.02±0.10	0.46±0.05	0.48±0.04

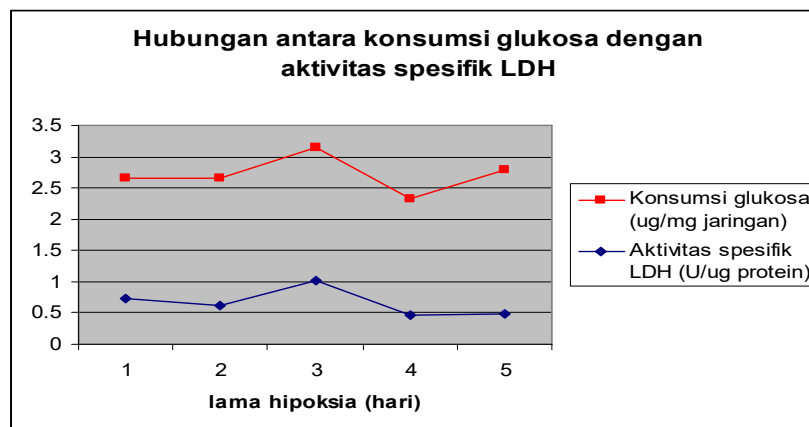
run secara tidak bermakna dibanding kelompok normoksia. Hal ini menunjukkan sel masih dapat beradaptasi terhadap kondisi hipoksia. Aktivitas spesifik LDH tertinggi terjadi pada kelompok hipoksia 3 hari, meningkat secara bermakna dibanding kelompok normoksia dan hipoksia 1 hari. Hal ini diduga pada kondisi hipoksia 3 hari terjadi peningkatan ekspresi HIF1 yang menyebabkan peningkatan regulasi ekspresi gen LDH. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Sadikin, A. H. (2008), pada hasil *Western Bolt* yang memperlihatkan adanya peningkatan ekspresi HIF1 yang signifikan dari kelompok normoksia dibanding kelompok hipoksia 3 hari. Aktivitas spesifik LDH kelompok hipoksia 7 hari dan 14 hari mengalami penurunan secara bermakna dibanding kelompok normoksia. Hal ini menunjukkan adanya penurunan aktivitas spesifik enzim LDH sejalan dengan lamanya hipoksia yang diduga adanya apoptosis sel. Ferdinal (2008), menyatakan bahwa pemaparan hipoksia secara terus me-

nerus dapat menyebabkan kondisi sel menurun, bahkan dapat menyebabkan terjadinya apoptosis.

Analisis hubungan antara konsumsi glukosa dengan aktivitas spesifik LDH jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik dan jaringan hati tikus normoksia

Konsumsi glukosa jaringan hati antara kelompok normoksia, kelompok hipoksia 1 hari, 3 hari, 7 hari dan 14 hari tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna dan cenderung konstan. Glukosa merupakan substrat dalam glikolisis yang menggambarkan aktivitas LDH. Jika peningkatan LDH yang ditimbulkan akibat hambatan aliran elektron di mitokondria dalam kondisi hipoksia.

Pada kelompok hipoksia hari pertama aktivitas spesifik LDH menurun, sedangkan konsumsi glukosa meningkat secara tidak bermakna dibanding dengan kelompok normoksia. Hal ini menunjukkan sel masih dapat beradaptasi terhadap kondisi hipoksia.



Gambar 2. Perbandingan konsumsi glukosa dengan aktivitas spesifik LDH pada jaringan hati tikus kelompok normoksia dan yang diinduksi hipoksia sistemik kronik

Pada kelompok hipoksia hari ke-3 aktivitas spesifik LDH meningkat secara bermakna dibandingkan kelompok normoksia dan kelompok hipoksia 1 hari, sedangkan konsumsi glukosa meningkat secara tidak bermakna dibanding kelompok normoksia dan kelompok hipoksia 1 hari. Hal ini menggambarkan bahwa sel menggunakan sumber energi lain selain dari pemecahan glukosa (glikolisis), seperti energi dari oksidasi beta pada metabolisme asam lemak yang berakibat konsumsi glukosa tidak banyak berubah.

Pada kelompok hipoksia hari ke-7 dan hari ke-14 aktivitas spesifik LDH semakin menurun secara bermakna dibanding kelompok normoksia sedangkan konsumsi glukosa menurun secara tidak bermakna dibanding kelompok normoksia.

Untuk mengetahui adanya korelasi antara konsumsi glukosa dengan aktivitas spesifik LDH jaringan hati, dilakukan uji korelasi. Karena kedua data berdistribusi normal, maka uji korelasi yang digunakan adalah uji korelasi Pearson. Dari hasil uji korelasi Pearson tidak didapatkan adanya korelasi antara konsumsi glukosa dengan aktivitas spesifik LDH, hasil yang ditunjukkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa stabilnya konsumsi glukosa tidak ada hubungannya dengan aktivitas spesifik LDH.

Elektroforesis isozim LDH jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik dan jaringan hati tikus normoksia

Hasil elektroforesis menunjukkan adanya 5 isozim LDH (LDH5, LDH4, LDH3, LDH2 dan LDH1) baik pada jaringan hati tikus yang di-induksi

hipoksia sistemik kronik maupun jaringan hati tikus normoksia (Gambar 3).

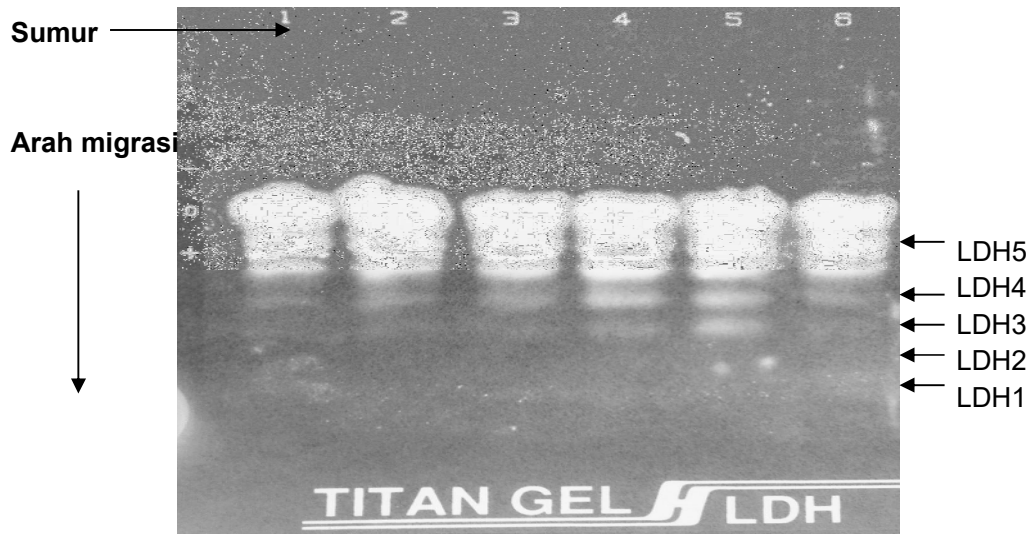
Gambar 3 menunjukkan bahwa isozim LDH1 bermigrasi paling cepat ke arah kutub positif sedangkan isozim LDH5 bermigrasi paling lambat ke arah kutub positif pada elektroforesis isozim LDH jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik maupun jaringan hati tikus normoksia. Hal ini karena isozim LDH1 mengandung lebih sedikit residu asam amino bersifat basa dan lebih banyak mengandung asam amino dengan residu bersifat asam sehingga bermuatan negatif daripada isozim LDH5. Pola distribusi isozim LDH tetap sama dan selalu didominasi oleh isozim LDH5 dan LDH4 diikuti dalam jumlah kecil isozim LDH3, LDH2 dan LDH1.

Nilai bercak masing-masing isozim LDH jaringan hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik maupun jaringan hati tikus normoksia, seperti ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. menunjukkan bahwa nilai bercak isozim LDH5 cenderung lebih tinggi dibanding keempat isozim LDH lainnya, baik pada kelompok normoksia maupun hipoksia. Nilai bercak seluruh isozim LDH (LDH5, LDH4, LDH3, LDH2 dan LDH1) pada kelompok hipoksia 1 hari lebih rendah dibanding kelompok normoksia, namun pada kelompok hipoksia 3 hari, 7 hari dan 14 hari hanya isozim LDH5, LDH4 dan LDH3 yang nilai bercaknya lebih rendah dibanding kelompok normoksia, isozim LDH2 dan LDH1 nilai bercaknya lebih tinggi dibanding kelompok normoksia. Isozim LDH2 nilai bercaknya paling tinggi pada kelompok hipoksia 3 hari, sedangkan isozim

LDH1 nilai bercaknya paling tinggi pada kelompok hipoksia 7 hari. Isozim LDH2 dan LDH1 merupakan isozim yang masing-masing mempunyai subunit H3M1 dan H4 yang bekerja optimal mengkonversi laktat menjadi

piruvat dalam kondisi aerob. Hal ini menunjukkan bahwa adanya usaha dari tubuh di jaringan hati dalam kondisi cukup oksigen untuk menghasilkan energi.



Gambar 3. Elektroforesis isozim LDH jaringan hati tikus. Sumur 1 (normoksia 1), sumur 2 (normoksia 2), sumur 3 (hipoksia 1 hari), sumur 4 (hipoksia 3 hari), sumur 5 (hipoksia 7 hari), dan sumur 6 (hipoksia 14 hari)

Tabel 4. Rata-rata nilai bercak isozim LDH (pixel. mg/dL) tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik maupun jaringan hati tikus normoksia

Isozim	Normoksia	Hipoksia			
		1 hari	3 hari	7 hari	14 hari
LDH5	95.95	83.23	88.45	82.95	90.18
LDH4	93.86	63.69	67.64	64.14	69.40
LDH3	39.89	35.29	39.15	36.44	38.67
LDH2	25.22	24.79	32.17	30.95	27.43
LDH1	13.98	12.91	15.55	18.26	14.92

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan penelitian ini adalah tidak ada perbedaan yang bermakna terhadap peningkatan konsumsi glukosa pada kelompok hipoksia dengan kelompok normoksia. Ada perbedaan yang bermakna terhadap aktivitas spesifik LDH pada kelompok hipoksia dengan kelompok normoksia. Aktivitas spesifik LDH tertinggi terjadi pada kelompok hipoksia 3 hari. Tidak ada hubungan bermakna antara konsumsi glukosa dengan aktivitas spesifik LDH. Hasil elektroforesis menunjukkan terdapat isozim LDH5, LDH4, LDH3, LDH2 dan LDH1 pada jaringan hati tikus kelompok hipoksia dan normoksia serta mempunyai pola isozim yang sama.

Diharapkan dapat melakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan jaringan lain yang bergantung metabolisanya terhadap oksigen, seperti otak, sehingga dapat dibandingkan mekanisme adaptasi metabolisme anaerobnya

DAFTAR PUSTAKA

- Lee, J.W. 2002. *Hypoxia-Inducible Factor (HIF-1 α): Its Protein Stability and Biological Functions*. Exp. Mol. Med, 36: 1-12.
- Bartrons, R., Can, J. 2007. *Hypoxia, glucose metabolism and the warburg's effect*. J. Bioenerg Biomembr, 39: 223-229.
- Semenza, G.L. 2007. *HIF-1 mediates the Warburg effect in clear cell renal carcinoma*. J. Bioenerg Biomembr, 39: 231-234.
- Stryer, L. 2000. *Biokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Pathak, J.W., Vinayak, M. 2005. *Modulation of lactate dehydrogenase isozymes by modified base queine*. Molecular Biology Reports, 32: 191-196.
- Wenger, R. 2002. *Cellular Adaptation to Hypoxia: O₂-Sensing Protein Hydroxylases, Hypoxia-inducible Transcription Factors, and O₂-regulated Gene Expression*. FASEB, 16: 1151-62.
- Koolman, J.; Roehm, K.H. 2005. *Color Atlas of Biochemistry*. Thieme.
- Vaupel, P. 2004. *Tumour Hypoxia: Causative Factors, Compensatory Mechanism, and Cellular response*. Oncologist, 9: 4-9.
- Giordano, F.J. 2005. *Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and liver failure*. J Clin Invest, 115: 500-5008.
- Semenza, G.L. 2001. *HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing*. Curr Opin Cell Biol, 13(2):167-71.
- Bender, David, A. 2009. *Carbohydrates of physiologic significance In: Harper's Illustrated Biochemistry*. McGraw-Hills:149-155.
- Lieberman, M., Allan, D.M. 2009. *Basic medical biochemistry. Williams and Wilkins*. Philandelpia: 341-420.
- Alberti, K., *The biochemical consequences of hypoxia*. J. Clin. Path, 30: 14-20
- Webster, K.A. 2003. *Evolution of the coordinate regulation of glycolytic enzyme genes by hypoxia*. The Journal of experimental biology, 206: 2911-2922.
- Farco, V., and Gabrielle, A. 2005. *Lactate as a maker of energy failure in critically ill patients:Hypothesis*. Bio-med central ltd.
- Mayes, P.A. 2003. *Glycolysis and Piruvat Oxidation In: Murray, R. K., Granner, D. K. M., Rodwell, V. W.,*

- editors. Harper's Biochemistry. McGraw-Hills. Newyork.
- Dufour, J.F., Clavien, P.A. 2005. *Signaling Pathways in Liver Disease*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter 26.
- Carraway, M.S., et al. 2000. *Expression of Heme Oxygenase-1 in The Lung in Chronic Hypoxia*. Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol, 278: L806-L12.
- Semenza, G.L. 2001. *HIF-1 and mechanisms of hypoxia sensing*. Curr Opin Cell Biol, 13(2):167-71.
- Sadikin, A.H. 2008. *Stres oksidatif pada hati tikus yang diinduksi hipoksia sistemik*. Tesis S2 Biokimia dan Biologi Molekuler. Jakarta
- Ferdinal, F. 2008. *Mekanisme molekuler gagal jantung pada tikus yang diinduksi hipoksia sistemik kronik: peran HIF1 dalam regulasi ekspresi gen B-type natriuretic eptide-45*. Disertasi S3 Biokimia dan Biologi Molekuler. Jakarta.