

Pengaruh Hemodialisis Terhadap Kadar Glutation Tereeduksi (GSH) Plasma Pasien Hemodialisis RSUD Arifin Ahmad

Hannan Khairu Anami¹, W. Ristua Butar-Butar², Enikarmila Asni³

ABSTRACT

Chronic kidney disease patients who received hemodialysis therapy have higher risks to get atherosclerosis, inflammation, and cancer than general population at the same age. Imbalance of free radicals level and antioxidants defense which defined as oxidative stress may cause these complications. This study investigated the influence of hemodialysis on reduced glutathione (GSH) level, one of antioxidant, in blood plasma of hemodialysis patient at RSUD Arifin Ahmad. This was a cross sectional study that compare plasma GSH level before and after hemodialysis process. Population of this study was 72 patient in RSUD Arifin Ahmad but only 17 patient fulfilled all the inclusion and exclusion criteria. Plasma GSH level was measured by using Ellman method. The result showed that there were no significant difference of plasma GSH level in patient before and after hemodialysis process ($p=0,426$).

Keywords: chronic kidney disease, hemodialysis, free radical, reduced glutathione

Hemodialisis merupakan tindakan yang paling sering digunakan pada gagal ginjal kronik.¹ Pasien gagal ginjal kronik yang diterapi hemodialisis memiliki resiko terkena aterosklerosis, inflamasi, dan kanker yang lebih tinggi dibandingkan populasi umum pada usia yang sama. Pasien hemodialisis beresiko mengalami kelainan kardiovaskular 5-25 kali lebih tinggi dibandingkan populasi umum, dan mortalitas akibat kelainan kardiovaskular pada pasien hemodialisis lebih tinggi dibandingkan pada pasien yang menerima peritoneal dialisis atau transplantasi ginjal. Salah satu faktor yang berperan dalam meningkatkan resiko ini adalah stres oksidatif.^{1,3,4,5}

Stres oksidatif terjadi sebagai akibat ketidakseimbangan kadar radikal bebas dan antioksidan, yang disebabkan oleh kondisi-kondisi pada pasien gagal ginjal kronik yang diterapi hemodialisis. Pasien yang dihemodialisis mengalami

peningkatan kadar radikal bebas akibat aktivasi leukosit, akumulasi besi yang berlebihan di tubuh, gangguan struktur dan pemendekan umur eritrosit. Sebaliknya, antioksidan yang berguna untuk mencegah kerusakan sel akibat adanya radikal bebas menurun kadarnya akibat hemodialisis. Salah satu antioksidan penting di tubuh yang menurun kadarnya adalah glutathione tereduksi (GSH).^{6,7}

Glutathione merupakan salah satu antioksidan di tubuh manusia. Glutathione di dalam tubuh berada dalam bentuk tereduksi (GSH).⁸ Peran utama GSH adalah menjaga keseimbangan redoks seluler. GSH dibutuhkan dalam berbagai fungsi biologis penting, diantaranya transpor membran, detoksifikasi xenobiotik, dan perlindungan sel-sel dari radikal bebas.⁹

Meskipun penelitian mengenai kadar GSH pada pasien hemodialisis telah banyak dilakukan, namun masih didapatkan hasil yang berbeda-beda.^{10,11} Sedangkan di RSUD Arifin Ahmad belum pernah dilakukan penelitian tentang kadar GSH plasma pada pasien hemodialisis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh hemodialisis terhadap stres oksidatif, yang dinilai berdasarkan kadar glutathione tereduksi (GSH) plasma pada pasien

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Riau

² Bagian Ilmu Penyakit Dalam RSUD Arifin Ahmad, Pekanbaru

³ Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Riau
Fakultas Kedokteran Universitas Riau, Jl. Diponegoro No.1
Pekanbaru, Riau, 28111, Telp.0761-839264 Fax.0761-839265 email: eni93@yahoo.com

gagal ginjal kronik yang mendapat terapi hemodialisis di RSUD Arifin Ahmad Pekanbaru.

METODE

Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini berasal dari pasien gagal ginjal kronik di RSUD Arifin Ahmad yang menjalani terapi hemodialisis. Sampel penelitian ini pasien gagal ginjal kronik yang menjalani terapi hemodialisis di RSUD Arifin Ahmad yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel penelitian ini telah menjalani hemodialisis minimal 1 bulan, bersedia diikutkan dalam penelitian ini dan menandatangani *informed consent*. Pasien yang termasuk ke dalam kriteria eksklusi penelitian, yaitu merokok aktif, inflamasi berat, usia lebih dari 70 tahun, menerima terapi antioksidan secara rutin dan menerima terapi besi intravena dalam kurun waktu 3 bulan terakhir.

Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah diambil langsung dari pasien hemodialisis melalui akses yang terdapat pada pasien, baik sebelum dan sesudah proses hemodialisis dilaksanakan pada pasien. Darah yang didapat ini ditampung sebanyak 5 ml dalam tabung EDTA yang telah berisi antikoagulan dan dibolak-balik perlahan agar tidak menggumpal. Darah kemudian disentrifus, kemudian dipisahkan antara plasma dan sel-sel darah.

Penentuan Kadar GSH Plasma

Penentuan kadar GSH plasma dilakukan

menurut metode Ellman. Sebanyak 50 μ L plasma/standar ditambah 200 μ L larutan TCA 5%. Campuran divorteks sampai keruh kemudian ditambah PBS 0,1 M pH 8,0 sampai volume menjadi 2 ml. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan dipisahkan untuk pemeriksaan selanjutnya, sedangkan presipitatnya dibuang. Sebanyak 1 ml dari supernatan diambil dan ditambahkan 12,5 μ L DTNB. Campuran ini didiamkan selama 1 jam. Sisa larutan dijadikan blanko. Masing-masing sampel dilakukan dua kali pengukuran (duplo). Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 412 nm.¹²

Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan diolah dan dianalisis. Uji normalitas data dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) dan didapatkan sebaran data yang normal pada penelitian ini. Berdasarkan hasil tersebut, maka dipilih uji t-berpasangan untuk menguji perbedaan antara kadar glutathione tereduksi (GSH) sebelum dan sesudah hemodialisis dilakukan. Perbedaan dinyatakan bermakna jika $p < 0,05$.

HASIL

Sebanyak 72 orang pasien hemodialisis rutin di RSUD Arifin Ahmad menjadi populasi penelitian ini. Dua belas pasien yang memiliki tes HbsAg positif tidak diikutkan sebagai sampel dalam penelitian ini. Hanya 49 pasien yang bersedia untuk berpartisipasi aktif, namun hanya 17 pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dari penelitian ini. Demografi dan kadar GSH plasma penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Kebanyakan penelitian terdahulu, menggunakan sampel darah pasien hemodialisis yang menjalani

No	Nama	Umur	Jenis Kelamin	Lama hemodialisis (Bulan)	Kadar GSH Plasma (mg/ml)		Δ GSH
					PraHD	PascaHD	
1	Pasien A	31	L	2	0,0034	0,0006	-0,0028
2	Pasien B	31	P	29	0,0027	0,0013	-0,0014
3	Pasien C	30	L	18	0,0024	0,0008	-0,0016
4	Pasien E	26	L	12	0,0028	0,0031	0,0002
5	Pasien F	58	L	2	0,0010	0,0024	0,0014
6	Pasien G	59	L	4	0,0029	0,0051	0,0023
7	Pasien H	57	L	24	0,0083	0,0027	-0,0056

8	Pasien I	47	L	1	0,0035	0,0036	0,0001
9	Pasien J	44	P	48	0,0026	0,0033	0,0008
10	Pasien K	60	P	12	0,0036	0,0018	-0,0018
11	Pasien L	55	L	30	0,0045	0,0030	-0,0015
12	Pasien M	40	L	8	0,0043	0,0011	-0,0031
13	Pasien N	51	L	84	0,0033	0,0029	-0,0004
14	Pasien O	29	L	132	0,0055	0,0013	-0,0042
15	Pasien P	63	P	12	0,0025	0,0068	0,0043
16	Pasien Q	50	L	72	0,0003	0,0038	0,0035
17	Pasien R	41	L	48	0,0036	0,0036	0,0000
Rerata					32,35	0,0034	0,0028
Standar deviasi					35,419	0,0018	0,0016

$p > 0,05$: Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok data sebelum dan setelah hemodialisis

Setelah dilakukan uji normalitas data Shapiro-Wilk, didapatkan bahwa sebaran data normal ($p > 0,05$). Kemudian, untuk menguji perbedaan kadar GSH sebelum dan sesudah hemodialisis, dilakukan uji statistik t berpasangan dan diperoleh hasil perbedaan yang tidak bermakna ($p = 0,379$).

PEMBAHASAN

Stres oksidatif pada pasien hemodialisis berhubungan dalam patogenesis penyakit kardiovaskular dan anemia, serta memiliki kontribusi dalam meningkatkan morbiditas dan mortalitas pasien gagal ginjal kronik. Saat hemodialisis terjadi interaksi antara membran dialisis dan netrofil di darah yang memicu pelepasan radikal bebas oksigen dan agen-agen pengoksidasi lain seperti anion superoksida, hidrogen peroksida, dan mieloperoksidase. Molekul-molekul ini berkontribusi dalam oksidasi lipid biproduk, protein, dan asam nukleat.¹³

Dari hasil penelitian ini, terjadi penurunan kadar glutathione tereduksi (GSH) plasma setelah proses hemodialisis pada lebih dari 50% sampel. Namun, juga terjadi peningkatan kadar GSH plasma pada 7 sampel. Dari rerata kadar GSH plasma tersebut, terjadi penurunan yakni kadar GSH sebelum hemodialisis sebesar $0,0034 \pm 0,0018$ mg/ml menurun menjadi $0,0028 \pm 0,0016$ mg/ml setelah hemodialisis. Secara statistik, tidak terdapat penurunan yang bermakna antara kadar GSH plasma sebelum dan setelah hemodialisis.

Berbagai penelitian terdahulu telah memperlihatkan terjadinya stres oksidatif pada pasien gagal ginjal kronik yang menerima terapi

hemodialisis, yang ditandai dengan meningkatnya oksidasi atau peroksidasi oleh radikal bebas. Namun, masih terdapat perbedaan hasil mengenai respon pertahanan antioksidan terhadap peningkatan radikal bebas, khususnya pada sistem antioksidan glutathione.^{10,11,14,15}

Tubuh memiliki mekanisme kompensasi terhadap peningkatan radikal bebas, yakni dengan meningkatkan produksi antioksidan.¹² Penelitian yang dilakukan oleh Koken et al, menunjukkan bahwa kadar GSH masih meningkat pada 7 tahun pertama pasien menjalani hemodialisis, meskipun kadar *marker* kerusakan oksidatif lainnya seperti MDA, karbonil protein dan *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS) juga meningkat.¹⁴ Pada penelitian ini, rerata lama pasien menjalani hemodialisis adalah $32,35 \pm 35,419$ bulan yang menunjukkan bahwa sampel penelitian ini masih dalam rentang waktu terjadinya kompensasi terhadap stres oksidatif.

Selain itu, dari jenis dialiser yang digunakan, RSUD Arifin Ahmad hanya menggunakan dialiser dengan membran berbahan selulosa diasetat, yang meskipun lebih bersifat bioinkompatibel, namun dari hasil penelitian ini tidak memiliki pengaruh yang bermakna terhadap penurunan kadar GSH. Sedangkan penelitian lain lebih banyak menggunakan jenis membran dialiser polisulfon, cupropan, sintetik dan semisintetik.^{11,14,15}

Faktor yang berhubungan dengan makanan yang dikonsumsi oleh pasien sehari-hari juga berpengaruh terhadap peningkatan atau penurunan kadar GSH plasma, namun faktor ini tidak dianalisis pada penelitian ini.¹⁴

dialis 3 kali seminggu dengan lama 4-5 jam.^{14,15,16} Sementara itu, di unit hemodialisis RSUD Arifin Ahmad, pasien hanya menjalani hemodialisis 2 kali seminggu dengan lama 4-5 jam. Hal ini menunjukkan bahwa pada penelitian terdahulu, darah pasien lebih sering terpapar membran dializer dan dialisat yang dianggap sebagai penyebab terjadinya stres oksidatif.

Penelitian-penelitian terdahulu juga memperlihatkan perbedaan hasil dan berbagai faktor yang mempengaruhi perbedaan-perbedaan tersebut. Hasil penelitian Mimic-oka *et al* memperlihatkan terjadinya penurunan GSH plasma setelah hemodialisis.¹⁰ Penelitian yang dilakukan oleh Muller *et al* juga menunjukkan terjadinya penurunan kadar total GSH setelah proses hemodialisis.¹⁵ Sedangkan, Koken *et al* mendapatkan adanya peningkatan kadar GSH serum pada pasien yang menjalani hemodialisis kurang dari 7 tahun, dan adanya penurunan pada pasien yang menjalani hemodialisis lebih dari 7 tahun.¹⁴

Penurunan kadar GSH dapat disebabkan oleh berbagai faktor. Menurut Marjani, proses hemodialisis menyebabkan terbuangnya antioksidan melalui membran hemodialisis.¹⁸ Penurunan kadar GSH pada pasien hemodialisis juga dapat disebabkan oleh hambatan terhadap produksi GSH, peningkatan ekstrusi GSH dari eritrosit sebagai GSSG, atau peningkatan konsumsi untuk menekan stres oksidan.¹⁹ Sedangkan menurut Muller *et al*, penurunan ini terjadi akibat reaksi antara GSH dengan elektrofili-elektrofili seluler yang berasal dari peroksidasi lipid dan bukan akibat terbuangnya GSH karena kelemahan pada membran dialiser saat hemodialisis berlangsung.¹⁵ Perbedaan jenis membran dialiser juga dapat mempengaruhi kadar GSH.¹⁶

Penurunan kadar GSH yang menunjukkan terjadinya stres oksidatif pada pasien hemodialisis juga disebabkan oleh kerusakan-kerusakan yang terjadi akibat lamanya pasien menjalani hemodialisis, dan diantaranya adalah gangguan pada sintesis enzim-enzim antioksidan di ginjal, depleksi antioksidan yang berhubungan dengan makanan seperti glutathion dan selenium, anemia dan atau berbagai modalitas terapeutik yang digunakan untuk terapi gagal ginjal kronik.¹⁴

Sebaliknya, hasil studi oleh Rico *et al* menyatakan bahwa hemodialisis dapat

meningkatkan kadar GSH secara bermakna.¹¹ Peningkatan kadar GSH plasma ini dapat terjadi akibat adanya hemolisis yang menyebabkan keluarnya GSH di dalam eritrosit selama hemodialisis berlangsung.¹⁷ Alhamdani *et al* menyatakan bahwa terdapat faktor-faktor yang berkaitan dengan uremia pada pasien gagal ginjal kronik yang menyebabkan turunnya kadar GSH pada eritrosit pasien tersebut dan faktor-faktor tersebut dapat dihilangkan dengan hemodialisis menggunakan membran dialiser polisulfon sehingga kadar GSH pasca dialisis akan meningkat. α 2-mikroglobulin adalah toksin uremik yang dianggap bertanggung jawab dalam menurunkan kadar GSH. Beta 2-mikroglobulin secara signifikan menurun kadarnya setelah hemodialisis dengan menggunakan membran polisulfon.²⁰

Penelitian yang dilakukan mengenai aktivitas GSSG reduktase (GSSG-Rd), suatu enzim yang bertanggung jawab terhadap daur ulang glutathion teroksidasi (GSSG) menjadi glutathion tereduksi (GSH) juga menunjukkan hasil yang berbeda. Alhamdani *et al* dan Melissinos *et al* menyatakan adanya peningkatan aktivitas GSSG-Rd pada pasien hemodialisis, yang dianggap sebagai mekanisme kompensasi terhadap stres oksidatif pada uremia.^{20,21} Hasil ini bertolak belakang dengan Martin- Mateo *et al* yang mendapatkan adanya penurunan kadar GSSG-Rd pada pasien hemodialisis.²² Hal ini juga menjadi penyebab adanya perbedaan kadar GSH pada pasien.

Dalam penelitian ini, etiologi dan penyakit penyerta yang diderita oleh pasien tidak dimasukkan dalam kriteria inklusi dan eksklusi. Sedangkan, pada beberapa penyakit, misalnya diabetes melitus, juga terjadi stres oksidatif yang dapat mempengaruhi hasil penelitian ini.²³

Kendala yang terjadi pada penelitian ini antara lain yaitu jumlah sampel yang sedikit. Jumlah sampel yang sedikit disebabkan karena dari 72 orang pasien hemodialisis rutin di RSUD Arifin Ahmad, hanya 17 orang pasien yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dari penelitian ini.

SIMPULAN DAN SARAN

Sebagai kesimpulan, rerata kadar GSH plasma pada pasien sebelum hemodialisis adalah $0,0034 \pm 0,0018$ mg/ml. Rerata kadar GSH plasma

pada pasien setelah hemodialisis adalah $0,0028 \pm 0,0016$ mg/ml. Hemodialisis tidak menurunkan kadar GSH plasma pada pasien hemodialisis RSUD Arifin Ahmad secara signifikan.

Perlu dilakukan penelitian untuk melihat pengaruh hemodialisis terhadap *marker* stres oksidatif lainnya. Sebaiknya dilakukan penelitian untuk melihat pengaruh pemberian suplementasi prekursor antioksidan dan antioksidan terhadap stres oksidatif pada pasien hemodialisis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada pimpinan dan staf Unit Hemodialisis RSUD Arifin Ahmad, Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Riau, dan seluruh pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Singh AK, Brenner BM. Dialysis in the treatment of renal failure. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hausen SL, Longo DL, Jameson JL, editor. Harrison's principles of internal medicine. 16th edition. New York: Mc Graw Hill; 2005. p. 1653-1663.
2. Himmelfarb J. Hemodialysis complication. American Journal of Kidney Diseases, Vol 45, No 6 (June), 2005: pp 1122-1131.
3. López EG, Carrero JJ, Suliman ME, Lindholm B, Stenvinkel P. Risk factors for cardiovascular disease in patients undergoing peritoneal dialysis. Perit Dial Int 2007; 27(S2):S205–S209.
4. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi, konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi keempat. Jakarta: EGC; 1995.
5. Sukandar E. Stres oksidatif sebagai faktor resiko penyakit kardiovaskular pada penyakit ginjal kronis tahap 1 sampai tahap 4. Farmacia (6.1); 2006 [Diakses pada: 13 Januari 2010]. Diunduh dari: http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/one_news.asp?IDNews=216.
6. Elshamaa MF, Sabry S, Nabih M, Elghoroury EA, El-Saaied GS, Ismail AAG. Alteration in plasma total antioxidant capacity, cardiotoxic lipid peroxidation product and c-reactive protein: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in children on hemodialysis. J Clin Basic Cardiol 2008; 11 (online): 2.
7. Durak I, Kacmaz M, Elgun S, Ozturk HS. Oxidative stress in patients with chronic renal failure: effects of hemodialysis. Med Princ Pract. 2004;13:84–87.
8. Kidd PM. Glutathione: Systemic Protectant Against Oxidative and Free Radical Damage. Alt Med Rev 1997; 2(3):155-176.
9. Adams DJ, Wasserstein MP. Glutathione synthetase deficiency. 2009 [Diakses pada: 13 Januari 2010]. Diunduh dari: <http://emedicine.medscape.com/article/944368-overview>.
10. Mimia-Oka J, Simia T, Djukanovia L, Reljia Z, Davicevia Z. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. Clin Nephrol. 1999 Apr;51(4): 233-41
11. Rico MG, Puchades MJ, Ramon RG, Saez G, Tormos MC, Miguel A. Effect of hemodialysis therapy on oxidative stress in patients with chronic renal failure. Nefrologia 2006; 26:1–9.
12. Asni E. Pengaruh hipoksia berkelanjutan terhadap kadar malondialdehid, glutathion tereduksi dan aktivitas katalase ginjal tikus [tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia; 2008.
13. Sosa MA, Balk EM, Lau J, Liangos O, Balakrishnan VS, Madias NE, et al. A systematic review of the effect of the Excebrane dialyser on biomarkers of lipid peroxidation. Nephrol Dial Transplant (2006) 21: 2825–2833.
14. Köken T, Serteser M, Kahraman A, Gokce C, Demir S. Changes in serum markers of oxidative stress with varying periods of haemodialysis. Nephrology 2004; 9 , 77–82.
15. Müller C, Eisenbrand G, Gradinger M, Rath T, Albert FW, Vienken J, et al. Effects of Hemodialysis, Dialyser Type and Iron Infusion on Oxidative Stress in Uremic Patients. Free Radical Research 2004 Vol. 38/10: 1093–1100.
16. Varan HI, Dursun B, Dursun E, Ozben T, Suleymanlar G. Acute effects of hemodialysis on oxidative stress parameters in chronic uremic patients: Comparison of two dialysis membranes. International Journal of Nephrology and Renovascular Disease 2010;3 39–45.

17. Himmelfarb J, Mcmenamin E, Mcmonagle E. Plasma aminothiols oxidation in chronic hemodialysis patients. *Kidney International* 2002, Vol. 61, pp. 705–716.
18. Marjani A. Clinical effect of haemodialysis on plasma lipid peroxidation and erythrocyte antioxidant enzyme activities in Gorgan (south east of Caspian sea). *Indian J Nephrol* 2005;15: 214-7.
19. Ahmadpoor P, Eftekhari E, Zadeh JN, Servat H, Makhdooni K, Ghafari A. Glutathione, glutathione related enzymes, and total antioxidant capacity in patients on maintenance dialysis. *IJKD* 2009, Vol. 3: 22-7
20. Alhamdani MS, Al-najjar AF, Al-kassir AH. The effect of hemodialysis and dialyzer biocompatibility on erythrocyte glutathione-defense system in chronic hemodialysis patients. *The International Journal of Artificial Organs* 2005 Vol. 28/6 , pp. 576-582.
21. Melissinos KG, Delidou AZ, Varsou AG, Begietti SS, Drivas GJ. Serum and erythrocyte glutathione reductase activity in chronic renal failure. *Nephron* 1981; 28: 76-9.
22. Martin-Mateo MC, Sanchez-Portugal M, Iglesias S, de Paula A, Bustamante J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Ren Fail* 1999; 21: 155-67.
23. Setiawan B, Suhartono E. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan dalam Diabetes Mellitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Februari 2005; 55 (2): 86-90.