

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

Susunan Pengelola Jurnal Ilmiah Patologi Klinik Indonesia
(*Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*)
Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia Masa Bakti 2013–2016
(surat keputusan pengurus pusat PDSPATKLIN Nomor 008/PP-PATKLIN/III/2014)

Pelindung:

Ketua Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Ketua:

Puspa Wardhani

Wakil Ketua:

Maimun Zulhaidah Arthamin

Sekretaris:

Dian Wahyu Utami

Bendahara:

Bastiana Bermawi

Anggota:

Osman D. Sianipar

Penelaah Ahli:

Riadi Wirawan, AAG. Sudewa, Rustadi Sosrosuhardjo, Rahayuningsih Dharma, Mansyur Arif

Penelaah Pelaksana:

Prihatini, July Kumalawati, Ida Parwati, Tahono, FM. Judajana, Krisnowati, Nurhayana Sennang Andi Nanggung, Aryati, Purwanto AP, Jusak Nugraha, Sidarti Soehita, Maimun Zulhaidah Arthamin, Endang Retnowati, Noormartany, Edi Widjajanto, Budi Mulyono, Adi Koesoema Aman, Uleng Bahrun, Ninik Sukartini, Kusworini Handono, JB. Soeparyatmo, M. Yolanda Probahoosodo, Rismawati Yaswir

Berlangganan:

3 kali terbit per tahun

Anggota dan anggota muda PDSPATKLIN mulai Tahun 2011 gratis setelah melunasi iuran

Bukan Anggota PDSPATKLIN: Rp 175.000,-/tahun

Uang dikirim ke alamat:

Bastiana Bermawi dr, SpPK

Bank Mandiri KCP SBY PDAM No AC: 142-00-1079020-1

Alamat Redaksi:

d/a Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo Jl. Mayjend. Prof. Dr Moestopo 6–8 Surabaya.

Telp/Fax. (031) 5042113, 085-733220600 E-mail: majalah.ijcp@yahoo.com

Akreditasi No. 66/DIKTI/KEP/2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Perbedaan Kolagen IV di Kerusakan Hati dan Infeksi Hepatitis C di Pasien Talasemia dengan Kelebihan Zat Besi (<i>Diferrence of Collagen IV in Liver Damage and Hepatitis C Infection in Iron Overload Thalassemia Patients</i>) Nuri Dyah Indrasari, Ina Susianti Timan, Pustika Amalia	1-8
Pemeriksaan Tingkat sdLDL Serum Sebagai Petanda Diagnostik Stenosis Koroner (<i>Serum sdLDL Level as A Diagnostic Marker of Coronary Stenosis</i>) Indranila K. Samsuria, Laily Adninta	9-15
Hubungan <i>Glycated</i> Albumin dengan Angka Banding Kolesterol LDL/HDL di Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Association of Glycated Albumin with LDL/HDL Cholesterol Ratio in Type 2 Diabetics</i>) Tiwik Eriskawati, Tahono, M.I. Diah. P	16-21
Deteksi <i>Clostridium Difficile</i> Toksigenik Menggunakan Uji Cepat Toksin dan <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i> (<i>Toxigenic Clostridium Difficile Detection Using Toxin Rapid Test and Real Time Polymerase Chain Reaction</i>) Ika Yasma Yanti, Dalima Ari Wahono Astrawinata	22-26
Kloning dan Overekspresi Protein P24-Gag HIV (<i>Cloning and Overexpression P24-Gag of HIV</i>) Efrida, Andani Eka Putra	27-33
Analisis Kadar Serum Feritin di Karsinoma Payudara (<i>Analysis of Feritin Levels in Carcinoma Mammae</i>) Sriwati Atjo, Uleng Bahrun, Hardjoeno	34-37
<i>Turnaround Time</i> Uji Cocok Serasi di Pelayanan Bank Darah (<i>Turnaround Time Cross Match in the Blood Bank</i>) Glent Nurtanio, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	38-41
Fc γ II (CD32) Monosit di Infeksi Dengue Primer dan Sekunder { <i>FcγRII (CD32) Monocytes in Primary and Secondary Dengue Infection</i> } Umi S. Intansari, Usi Sukorini, Shanti Ika Sari	42-47
Kesahihan Pemeriksaan <i>Complex Specific Cocktail Antigen</i> Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Metode Cepat <i>Immuno-chromatography</i> pada Cairan Serebrospinal Pasien Meningitis Tuberkulosis { <i>Validity of Rapid Immuno-chromatography Complex Specific Cocktail Antigen Tb (Esat-6, Cfp-10, Mpt-64) Using Cerebrospinal Fluid of Tuberculous Meningitis Patient</i> } Livia Noviani, Ida Parwati, Ganiem AR, Turbawati DK	48-54

Kenasaban Kadar 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) Serum dengan Derajat Defisit Neurologis pada Strok Iskemik { <i>Correlation of Serum 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine (8-OHdG) with Neurological Deficits in Ischemic Stroke</i> }	
Liza, Ida Parwati, Andi Basuki Prima Birawa, Sylvia Rachmayati	55–59
LDL Teroksidasi dan Kepadatan Mineral Tulang (<i>Oxidized LDL Cholesterol and Bone Mineral Density</i>)	
Sheila Febriana, Yurdiansyah, Siti Rafiah, Ruland DN Pakasi, Uleng Bahrun	60–64
Perbedaan Kadar <i>Prolylcarboxypeptidase</i> di Pasien Sindrom Koroner Akut dengan Pasien Angina Stabil (<i>The Difference of Prolylcarboxypeptidase Level in Acute Coronary Syndrom and Stable Angina Patient</i>)	
Maenaka Smaratungga, Rita C, Indrati AR, Martha JW	65–71
Analisis Feritin dan AST to Platelet Ratio Index sebagai Petanda Derajat Fibrosis Penyakit Hati Kronis (<i>Analysis Ferritin and AST to Platelet Ratio Index As A Marker Degree of Fibrosis Chronic Liver Disease</i>)	
Yulianti Yasin, Uleng Bahrun, Ibrahim Abdul Samad	72–76
Neopterin dan Peroksida Serum Sebagai Petanda Makrofag Teraktivasi pada Tuberkulosis Paru Aktif dan Individu Berkebahayaan Tinggi (<i>Serum Neopterin and Peroxide As Marker of Activated Macrophages on Active Pulmonary Tuberculosis and Individuals at High Risk</i>)	
I Nyoman Wandu, Ni Made Linawati, I Made Bagiada, IWP Sutirta Yasa, AAN. Subawa	77–81
Indeks Aterogenik Plasma di Penyakit Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Atherogenic Index of Plasma in Type 2 Diabetes Mellitus</i>)	
Amarensi M Betaubun, Nurahmi, Uleng Bahrun, Ruland Pakasi	82–86
Nitrit Oksida dan Volume Edema Otak pada Strok Perdarahan dalam Otak dengan Polimorfisme G894T (<i>Nitrit Oxide and Cerebral Edema Volume in Intracerebral Hemorrhagic Strok with G894T Polymorphism</i>)	
Iskandar Zakaria, Arif Faisal, Sri Sutarni, Ahmad Hamim Sadewa, Imran	87–91
TELAAH PUSTAKA	
Fungsi dan Pemeriksaan Limfosit T $\gamma\delta$ (<i>Functions and Examination of $\gamma\delta T$ lymphocytes</i>)	
Yulia Nadar Indrasari, Jusak Nugraha	92–98
LAPORAN KASUS	
Mieloma Multipel Nonsecretory (<i>Nonsecretory Multiple Myeloma</i>)	
Maimun Zulhaidah Arthamin, Nyi R. Wahidah, Boy A. Sihite	99–103
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU.....	104

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol 22 No. 1 November 2015

Purwanto AP, AAG. Sudewa, Rismawati Yaswir, July Kumalawati, Sidarti Soehita, Ninik Sukartini,
Maimun Z. Arthamin, Rustadi Sosrosuhardjo, Tahono, Prihatini, Jusak Nugraha, Aryati,
Kusworini Handono, Endang Retnowati, Edy Widjajanto, FM. Judajana

NITRIT OKSIDA DAN VOLUME EDEMA OTAK PADA STROK PERDARAHAN DALAM OTAK DENGAN POLIMORFISME G894T

(Nitric Oxide and Cerebral Edema Volume in Intracerebral Hemorrhagic Stroke with G894T Polymorphism)

Iskandar Zakaria¹, Arif Faisal², Sri Sutarni³, Ahmad Hamim Sadewa⁴, Imran⁵

ABSTRACT

Nitric Oxide (NO) is a vasodilator that regulates vascular smooth muscle tone. Low levels of NO can cause vasoconstriction and hemodynamic disturbances. In stroke the levels of NO are increased. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (eNOS) is believed to reduce levels of NO in blood. NO levels decreased in stroke patients with G894T polymorphisms of eNOS gene. Mortality rate of hemorrhagic stroke are increased in case with increased peri focal edema volume. The mechanism of the increased of peri focal edema volume completely unknown yet, suspected genetics factor. This study was conducted to know the correlation between the NO and peri focal edema volume in stroke with eNOS gene G894T polymorphism by determination. The study was conducted by comparing the levels of NO and edema volume of intra cerebral hemorrhagic stroke of 46 subjects from Neurology department of dr. Zainoel Abidin general hospital in Banda Aceh from September 2014 through January 2015 with comparison to ischemic stroke patients the same amount. NO levels checked with Cayman Systems kit following the protocol Griess. G894T polymorphism was determined by PCR-RFLP method. The volume of edema was measured with semi-automatic CT volumetry. Chi Square test was used for comparison of two variables and Spearman correlation test to assess the relationship between the NO and perifocal edema volume. The result is significant, if p value was <0.05. The results of these study were levels of NO decreases if there were polymorphism (p=0.001). Peri focal edema volume was increased if there were G894T polymorphism (p=0.038). The correlation between low levels of NO and increase of edema volume was obtained p=0.040 and R=0.304. The researchers concluded that in intra cerebral hemorrhagic stroke the level of NO were decreased and peri focal edema volume increased if there was G894T polymorphism of eNOS gene. There was a less correlation between low levels of NO and peri focal edema volume.

Key words: eNOS gene Polymorphism, Nitric Oxide, peri focal edema, hemorrhagic stroke

ABSTRAK

Nitrit Oksida (NO) merupakan vasodilator yang mengatur ketegangan otot polos dinding vaskular. Apabila tingkat kadar NO rendah dapat terjadi vasokonstriksi dan gangguan peredaran darah. Di strok, kadar NO meningkat. Polimorfisme gen endotel pada pembuatan nitrit oksida *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) diyakini dapat menurunkan tingkat NO darah. Tingkat NO menurun di pasien strok, dengan polimorfisme G894T gen eNOS. Kematian akibat strok perdarahan bertambah jika terjadi peningkatan volume edema perifokal. Mekanisme peningkatan volume edema perifokal diduga berkaitan dengan genetiknya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan antara NO dan volume edema perifokal di strok dengan polimorfisme G894T gen eNOS dengan menentukannya. Penelitian dilakukan dengan membandingkan tingkat NO dan volume edema strok perdarahan dalam otak di 46 subjek yang berobat di bagian Ilmu Penyakit Saraf RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh mulai September 2014 sampai Januari 2015 dengan pembandingan jumlah yang sama pasien strok iskemik. Tingkat NO diperiksa dengan perangkat *Cayman Systems* mengikuti tatapemeriksaan Griess. Polimorfisme G894T gen eNOS ditentukan dengan metode PCR-RFLP. Volume edema diukur dengan CT scan secara *semi-automatic CT volumetry*. Uji Chi Kuadrat digunakan untuk perbandingan dua variabel dan uji kenasaban Spearman untuk menilai hubungan antara NO dan volume edema, hasilnya bermakna jika p <0,05. Hasil meneliti diperoleh tingkat NO menurun jika ada polimorfisme (p=0,001). Volume edema perifokal meningkat di strok perdarahan dalam otak jika ada polimorfisme G894T (p=0,038). Kenasaban antara tingkat NO yang rendah dan peningkatan volume edema diperoleh nilai p=0,040 dan R=0,304. Didasari telitian ini, dapat disimpulkan bahwa di strok perdarahan dalam otak tingkat NO menurun dan volume edema perifokal meningkat jika ada polimorfisme G894T gen eNOS. Ada kenasaban yang lemah antara tingkat NO yang rendah dan volume edema perifokal.

Kata kunci: Polimorfisme gen eNOS, nitrit oksida, edema perifokal, strok perdarahan dalam otak

¹ Bagian Radiologi FK Unsyiah, Banda Aceh. E-mail: iskandarzakaria@yahoo.com

² Bagian Radiologi FK UGM, Yogyakarta

³ Bagian Ilmu Penyakit Saraf FK UGM, Yogyakarta

⁴ Bagian Biokimia FK UGM, Yogyakarta

⁵ Bagian Ilmu Penyakit Saraf FK Unsyiah, Banda Aceh

PENDAHULUAN

Nitrit oksida dibuat oleh enzim sintase nitrit oksida (NOS) melalui molekul L-arginin yang menghasilkan L-sitrulin dan Nitrit Oksida (NO). Terdapat tiga (3) jenis isoform dari enzim ini yaitu: enzim sintase nitrit oksida endotel (eNOS), enzim sintase nitrit oksida neuron (nNOS) dan enzim sintase nitrit oksida (iNOS) terinduksi. Enzim sintase nitrit oksida endotel (eNOS) merupakan enzim yang aktivitasnya bergantung kalsium dan rangsangan terhadap enzim ini akan menghasilkan NO dalam jumlah sedikit. Enzim sintase nitrit oksida (iNOS) adalah enzim yang tidak bergantung kalsium dan diimbas oleh sitokin yang akan menghasilkan NO dalam jumlah banyak.^{1,2}

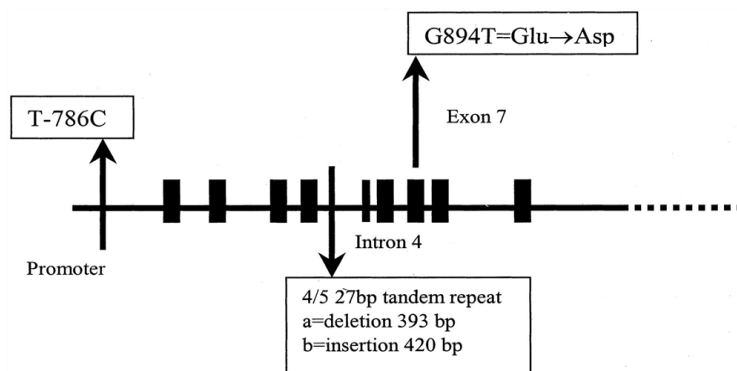
Peran nitrit oksida di strok bersifat rumit, NO dapat memberikan dampak perlindungan maupun merusak sel. Dalam kondisi iskemik, NO yang dihasilkan oleh nNOS dapat merusak sel otak melalui reaksi NO dengan superoksida yang menghasilkan peroksinitrit yang sangat reaktif. Sedangkan iNOS yang dihasilkan oleh makrofag terlibat dalam proses peradangan dan bersifat sitotoksik yang menyebabkan kematian sel. Nitrit oksida yang dihasilkan eNOS berdampak perlindungan, karena menurunkan agregasi trombosit, mencegah adhesi leukosit, meningkatkan vasodilatasi pembuluh darah arteri dan mengatur ketegangan otot dinding pembuluh darah.^{1,3}

Menurut Thuillez dan Richard⁴, tingkat nitrit oksida yang rendah karena gangguan fungsi endotel melalui mekanisme hasil NO yang turun atau degradasi NO yang bertambah. Hasil NO menurun disebabkan oleh: L-arginin yang berkurang; Kepekatan inhibitor endogen yang tinggi (*Asymetrical Dimethylarginin* atau ADMA); Kofaktor eNOS (*Tetrahydrobiopterine* atau BH4) yang berkurang; Ekspresi eNOS yang berkurang oleh beberapa faktor seperti: hipoksia, faktor nekrosis tumor α (TNF α) atau penurunan aliran darah; Gen eNOS yang berkurang; Waktu paruh eNOS mRNA

yang berkurang; Perubahan di Gi protein; Perubahan di *calcium-independent pathway* akibat aktivasi eNOS; Perubahan interaksi eNOS dengan *caveolin-HSP90*. Degradasi NO bertambah, yang disebabkan oleh: Ekspresi *Nicotinamid Adenine Dinucleotida Phosphate* (NADP) yang berkurang; Peningkatan *xanthine oxidase* yang menghasilkan O_2^- dan terjadi vasokonstriksi, adesi leukosit, agregasi trombosit dan proliferasi sel.⁴

Dalam kepekatan fisiologis NO sangat berguna, tidak hanya untuk sistem vaskular, tetapi juga untuk yang terkait saraf dan imun. Nitrit oksida memegang peran penting dalam mengatur fungsi vaskular, menghambat agregasi platelet, menghambat proliferasi sel otot polos dan menjaga kesatuan struktur vaskular. Di sisi lain NO dapat menyebabkan neurotoksik dan kerusakan sawar darah otak melalui oksigen radikal bebas jika hasil NO berlebihan di otak. Yaitu sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menghambat enzim katalase dan sitokrome P-450 yang akan melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Nitrit oksida yang meningkat juga menghambat enzim *ribonucleotide reductase* yang menyebabkan kerusakan DNA dan akhirnya terjadi kematian sel. Kepekatan NO yang tinggi juga menghasilkan pelepasan glutamat di otak yang bersama-sama dengan aktivitas *gelatinolytic matrix metalloprotein-9* yang dapat menyebabkan kerusakan sawar darah otak. Kerusakan sawar darah otak menyebabkan edema vasogenik.⁵

Setelah terjadi perdarahan dalam otak, trombin dan hasil lisis eritrosit, kemudian masuk ke dalam parenkim otak di sekitar hematoma mengaktifkan mikroglia dan astroglia dalam mengimbas ekspresi iNOS. Peningkatan iNOS juga terjadi melalui hasil sitokin pro-inflamasi (TNF α dan IL-1) lewat aktivitas mikroglia dalam 24 jam setelah perdarahan. Hipoperfusi sekitar hematoma, menyebabkan penurunan tingkat oksigen otak dan meningkatkan ekspresi nNOS. Ekspresi iNOS dan nNOS yang tinggi menghasilkan NO yang meningkat.⁶



Gambar 1. Lokasi polimorfisme gen eNOS. T-786C di daerah promotor, *Variable Number Tandem Repeat* (VNTR) di intron 4 dan G894T di ekson 7 kromosom 7.⁸

Faktor genetik telah dipercaya berhubungan erat dengan kejadian stroke. Banyak penelitian yang telah dilakukan menyangkut faktor genetik ini. Gen eNOS yang terletak kromosom 7 lokus q35, berperan dalam mengendalikan hasil NO, yaitu vasodilator tertentu yang sangat berkekuatan. Di manusia gen eNOS tersusun atas 24 Kilo basa (Kb), yang terdiri dari 26 ekson dan 25 intron. Polimorfisme Glu298Asp, terletak di ekson 7 dari kromosom 7. Zat ini dikenal juga sebagai polimorfisme G894T yang ditandai dengan pergantian *Guanin* oleh *Tymin* di posisi 894 dari gen, yang ditunjukkan di Gambar 1. Sebagai akibatnya asam amino di posisi 298 gen eNOS ini terjadi pergantian dari Glutamat ke Aspartat. Pergantian ini menyebabkan penurunan ikatan eNOS dengan *caveolin-1*, protein utama yang terletak di *caveolae* sel epitel yang berakibat cadangan enzim eNOS berkurang, sehingga hasilan NO juga menurun.⁷

METODE

Penelitian ini adalah kajian kasus dan pembandingnya. Kasus adalah pasien stroke perdarahan dalam otak dan kelompok sebagai pembanding adalah pengidap yang iskemik. Sampel diambil dari bagian/SMF Ilmu Penyakit Saraf FK Unsyiah/RSUD Dr. Zainoel Abidin Banda Aceh selama September 2014 sampai dengan Januari 2015. Setiap kelompok yang dipilih sebanyak 46 subjek secara berurutan. Pemeriksaan dilakukan dengan CT Scan kepala MSCT sebanyak 64 slices, *Somatom Volution* dari *Siemens AG* untuk penentuan jenis stroke, kemudian volume hematom dan edema diukur secara *semi-automatic CT volumetry*.⁹ Untuk pemeriksaan tingkat NO dan analisis genetik diperlukan lima (5) mL darah EDTA. Pemeriksaan kadar NO digunakan metode ELISA menggunakan perangkat *Cayman systems* mengikuti tata peraturan *Griess*. Dalam hal ini yang diperiksa adalah hasil metabolitnya, yaitu nitrit/nitrat dan dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm. Pemeriksaan genetik diawali dengan isolasi DNA menggunakan perangkat *Promega*, kemudian dilanjutkan dengan metode *Polymerase Chain Reaction-Retraction Fragment Length Polymerase (PCR/RFLP)*. Untuk memperoleh amplifikasi bagian tertentu DNA yang mengandung polimorfisme G894T digunakan primer *forward*: 5'-CAT GAG GCT CAGCCCCAGAAC-3' dan primer *reverse*: 5'-AGT CAATCCCTT TGG TGC TCAC-3'. Pencernaan hasil PCR dengan enzim pembatasan *BanII*. Dari 206 bp hasil PCR diperoleh fragmen hasil pencernaan sebesar 119 bp dan 87 bp untuk menentukan ada atau tidaknya nukleotida G pada posisi 894.²

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala. Uji Chi Kuadrat digunakan untuk perbandingan dua variabel dan uji kenasaban *Spearman* untuk menilai hubungan antara NO dan volume edema, yang bermakna jika $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ciri umum subjek penelitian; jenis kelamin laki-laki dan perempuan seimbang pada penelitian ini, kelompok umur lebih dari 50 tahun lebih banyak di bandingkan dengan kelompok umur di bawah atau sama dengan 50 tahun (78,3% berbanding 21,7%). Hipertensi didapat di 23 subjek, sisanya 69 orang adalah normotensi. Di polimorfisme G894T, mutan lebih banyak daripada *wild type*. Hasil PCR-RFLP ditunjukkan di Gambar 2. Rerata dan Simpang Baku (SB) tingkat NO 3,68 (2,89) $\mu\text{M/L}$, rerata dan SB volume edema 19,49 (19,03) cm^3 , rerata dan SB volume hematom adalah 35,41(19,46) cm^3 ditunjukkan di Tabel 1.

Dari 46 subjek penelitian stroke perdarahan dalam otak didapatkan lokasi hematom sebagai berikut: 26 (56,5%) di ganglia basalis kanan, 18 (39,1%) di yang kiri, 1 (2,2%) di region parietal kanan dan 1 (2,2%) di *occipital* kanan, sedangkan lokasi yang iskemik dari 46 subjek stroke iskemik adalah 25 (54,3%) di ganglia basalis kanan dan 13 (28,3%) yang kiri, 4 (8,6%) di region parietal kiri, 3 (6,6%) di region *occipital* kanan dan 1 (2,2%) di region frontal kanan. Analisis kurva *Receiver Operating Characteristic (ROC)* terhadap angka banding tingkat NO diperoleh nilai *cut off* sebesar 3 $\mu\text{M/L}$ dan terhadap volume edema diperoleh nilai sebesar 25 cm^3 .

Tabel 1. Ciri subjek penelitian

Variabel	Rerata (\pm SB)	Jumlah	Persentase (%)
Jenis kelamin			
Laki-laki		51	55,4%
Perempuan		41	44,6%
Umur (tahun)			
≤ 50		20	21,7%
> 50		72	78,3%
Hipertensi:			
Ya		23	25%
Tidak		69	75%
Polimorfisme: G894T			
GG		19	20%
GT		22	24%
TT		51	56%
Nitrit oksida ($\mu\text{Mol/L}$)	3,68 ($\pm 2,89$)		
Volume edema (cm^3)	19,49 ($\pm 19,03$)		
Volume hematom	35,41 ($\pm 19,46$)		

Di stroke perdarahan dalam otak dengan genotip GT dan TT atau mutan dari polimorfisme G894T diperoleh tingkat NO yang rendah, secara statistik ada perbedaan yang bermakna, $p=0,001$, tetapi tidak ada perbedaan bermakna di stroke akibat iskemik. Pengaruh polimorfisme gen eNOS terhadap tingkat NO dapat dilihat di Tabel 2, meskipun didapat kadar NO yang rendah di semua sampel penelitian, kekerapan polimorfisme G894T lebih banyak di subjek dengan kadar NO yang lebih rendah ($<3 \mu\text{Mol/L}$) dibandingkan dengan individu dengan genotip *wild type*. Kondisi ini disebabkan karena ada cacat genetik di gen eNOS yang menyebabkan gangguan di rangkaian proses yang menghasilkan NO.¹⁰

Rasyid dkk.¹¹, mendapatkan tingkat NO individu dengan stroke perdarahan dalam otak lebih rendah dibandingkan dengan yang iskemik. Tingkat NO di stroke iskemik $49,9 \mu\text{M/L}$, stroke perdarahan dalam otak $41,7 \mu\text{M/L}$ dan pembanding $64,0 \mu\text{M/L}$, $p<0,001$. Pada penelitian ini juga didapatkan tingkat NO yang lebih rendah di stroke perdarahan dalam otak.¹¹

Terpollili dkk.¹², mendapatkan bahwa pemberian NO secara inhalasi dapat menyebabkan vasodilatasi arteria otak, sehingga mengurangi daerah iskemik di mencit yang ditelitinya. Hal ini menunjukkan bahwa dalam kondisi iskemik tingkat NO rendah dan dengan pemberian NO secara inhalasi dapat memperbaiki peredaran darah.¹²

Dalam volume edema $\geq 25 \text{ cm}^3$ lebih banyak didapatkan genotip GT dan TT (mutan) polimorfisme G894T yaitu 27 dan secara statistik ada perbedaan yang bermakna $p<0,05$ stroke perdarahan dalam otak, sedangkan di stroke iskemik tidak tampak perbedaan yang bermakna. Hal ini ditunjukkan di Tabel 3.

Di stroke perdarahan dalam otak individu dengan polimorfisme G894T (mutan) mempunyai volume edema yang besar daripada individu *wild type* ($p=0,002$), tetapi tidak demikian yang stroke iskemik. Hal ini disebabkan karena ada interaksi atau modifikasi dampak dari kedua (2) jenis stroke tersebut. Menurut Thuillez⁴, jika ada cacat genetik atau polimorfisme gen eNOS akan menyebabkan waktu paruh eNOS mRNA menurun, sehingga hasil NO menjadi berkurang. Tingkat NO yang rendah menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah, gangguan aliran darah yang berpengaruh terhadap edema yang terjadi.⁴

Pada penelitian ini penentuan keberadaan polimorfisme gen eNOS dilakukan terhadap polimorfisme G894T dengan metode PCR-RFLP terhadap subjek penelitian. Hasil mencerna buatan PCR untuk menentukan polimorfisme G894T ditunjukkan di Gambar 2. Di stroke perdarahan dalam otak diperoleh genotip GG (19,6%), GT (30,4%) dan TT (50,0%), sedangkan di kelompok stroke iskemik diperoleh genotip GG (19,6%), GT (19,6%) dan TT (60,8%). Elbaz *et al.*¹³ mendapatkan genotip GG (50%), GT (41%) dan TT (9,9%) dengan *Odd Ratio* 1,57 (SK 95%, 1,00–2,50) di pasien stroke iskemik yang ditelitinya. Ada kesesuaian hasil meneliti ini dengan hasil yang didapat oleh Elbaz.¹³ Pada penelitian ini juga didapatkan polimorfisme gen eNOS lebih banyak di kelompok stroke perdarahan dalam otak (39 subjek) daripada kelompok stroke iskemik (34 subjek).

Hubungan antara tingkat NO dan volume edema menunjukkan kenasaban yang lemah ($R=0,304$) ditunjukkan di Tabel 4. Pada penelitian ini didapatkan tingkat NO yang rendah di stroke perdarahan dalam otak dan stroke iskemik, secara statistik mempunyai

Tabel 2. Perbedaan tingkat NO rendah di stroke perdarahan dalam otak dan iskemik dengan polimorfisme G894T

Jenis stroke	Polimorfisme	Tingkat NO ($\mu\text{M/L}$)		OR (95% SK)	p
		<3	≥ 3		
Perdarahan dalam otak	Mutan	28	10	19,60 (2,14–179,78)	0,001*
	<i>Wild</i>	1	7		
Iskemik	Mutan	19	17	2,61 (0,58–11,72)	0,180
	<i>Wild</i>	3	7		

Keterangan: SK= Selang Kepercayaan

Tabel 3. Pengaruh polimorfisme G894T terhadap volume edema perifokal

Jenis stroke	Polimorfisme	Volume edema (cm^3)		OR (95% SK)	p
		≥ 25	<25		
Perdarahan dalam otak	Mutan	27	11	17,18 (1,89-156,54)	0,002*
	<i>Wild</i>	1	7		
Iskemik	Mutan	3	33	1,30 (0,11-1,54)	0,470
	<i>Wild</i>	0	10		

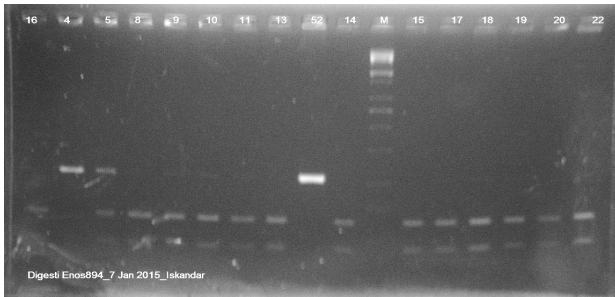
Keterangan: SK= Selang Kepercayaan

Tabel 4. Analisis kenasaban tingkat NO dengan volume edema

Variabel	R	R ²	Volume edema	Nilai p
NO	0,304	0,093	37,789–1,624	0,040*

*p dan R dihitung dengan uji kenasaban Spearman

GG GT TT TT TT TT TT GG TT



Gambar 2. Hasil mencerna buatan PCR polimorfisme G894T gen eNOS yang dilakukan dengan metode PCR-RFLP. M=marker. GT=perpindahan heterozygot; TT=perpindahan homozygot; GG=wild type

kenasaban bermakna terhadap volume edema ($p=0,040$). Keberadaan polimorfisme gen eNOS menyebabkan tingkat NO menurun dan karena salah satu fungsi NO adalah mengatur ketegangan (tonus) otot polos dinding vaskular, tingkat NO yang rendah dapat mengganggu pengaturan ini yang dapat berdampak di gangguan aliran darah dan keluasan edema.

SIMPULAN

Didasari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa dalam strok perdarahan dalam otak tingkat NO rendah jika ada polimorfisme G894T gen eNOS, begitu juga dengan volume edema perifokal akan meningkat jika terdapat polimorfisme. Antara tingkat NO yang rendah dan peningkatan volume edema terdapat kenasaban lemah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Faraci FM and Brian JE. Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke*, 1994; 25: 692–703.
2. Kim TG, Kim NK and Baek MJ. The relationships between endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and the formation of intracranial aneurisms in the Korea population. *Neurosurg Focus*, 2011; 30(6): 1–6.
3. Akhter MS, Biswas A and Saxena R. Role of endothelial nitric oxide synthase gene in vascular diseases. *Eastern J of Med*, 2009; 14: 46-50.
4. Thuillez G and Richard V. Targetting endothelial dysfunction in hypertensive subjects. *Jhh*, 2005; 19: 521–525.
5. Li J, Cun W, Tang WR, Li SN, Ouyang HR, Wu YR, Yu HJ and Xiao CJ. Association of eNOS gene Polymorphisms with essential hypertension in the Han population in southwestern China. *Genet. Mol. Res*, 2011; 10(3): 2202–2211.
6. Li N, Worthman H, Deb M, Chen S and Wessenborn K. Nitric oxide (NO) and asymmetrical dimethylarginine (ADMA): their pathophysiological role and involvement in intracerebral hemorrhage. *Neuro res*, 2011; 33(5): 541–548.
7. Josi MS, Mineo C and Shaul PW. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired respon to shear. *FASEB J*, 2007; 21: 2655–63.
8. Hassan A, Gormley K, Sullivan M, Knight J, Sham P, Psych, Vallanc and Markus. Endothelial Nitric Oxide Gene Haplotypes and Risk of Cerebral Small-Vessel Disease. *Stroke*, 2004; 35: 654–659.
9. Volbers B, Staykov D, Wagner I, Dörfler A, Saake M, Schwab S. and Bardutzky J. Semi-automatic volumetric assessment of perihemorrhagic edema with computed tomography. *Europ J Neurol*, 2011; 18(11): 1325–1326
10. Nerissa U, Rajendran P, Kim H, Rutkowski M, Pawlikowska L and Kwok PY. Endothelial Nitric Oxide Synthase Polymorphism (786T3C) and Increased Risk of Angiographic Vasospasm After Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*, 2008; 39: 1103–1108.
11. Rasyid PA, Whitehurst A, Lawon N and Bath PM. Plasma nitric oxide (nitrite/nitrate) level in acute stroke and their relationship with severity and outcome. *J stroke Cerebovasc Dis*, 2003; 12(3): 82–87.
12. Terpolilli NA, Kim SW, Thal SC, Kataoka H, Zeisig Nitzsche, SB Klaesner, B Zhu C, Schwarzmaier S, Meissner L, Mamrak U, Engel DC, Drzezga A, Patel R, Blomgren K, Barthel H, Boltze J, Kuebler WM and Nikolaus P. Inhalation of Nitric Oxide Prevents Ischemic Brain Damage in Experimental Stroke by Selective Dilatation of Collateral Arterioles. *Circulation Research*, 2012; 110: 727–738.
13. Elbaz A, Poirier O, Moulin T, Chedru F, Cambien F and Amarenco P. Association between the Glu298Asp Polymorphism in the Endothelial Constitutive Nitric Oxide Synthase Gene and Brain Infarction. *Stroke*, 2000; 31: 1634–1639.