

ARTIKEL PENELITIAN

**BIOMARKER STRES OKSIDATIF DAN SATURASI OKSIGEN PADA
TIKUS DENGAN HIPOKSIDIA HIPOBARIK INTERMITEN**

***OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS AND OXYGEN SATURATION IN
RATS EXPOSED TO INTERMITTENT HYPOBARIC HYPOXIA***

**Sri Nurbowo Ardi¹, Wiwien Heru Wiyono², Muhammad Arza Putra³, Dewi Sukmawati⁴,
Puspita Eka Wuyung^{5,6}, Wawan Mulyawan^{7,8}, Wardaya⁸**

¹ Program Doktor Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430

² Departemen Pulmonologi dan Kedokteran Respirasi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – Rumah Sakit Umum Pusat Persahabatan, Jl. Persahabatan Raya No. 1, Jakarta Timur 13230

³ Divisi Bedah Toraks, Kardiak dan Vaskular, Departemen Ilmu Bedah, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430

⁴ Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430

⁵ Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430

⁶ *Animal Research Facility, Institute of Medical Education and Research in Indonesia (IMERI)*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jl. Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430

⁷ Program Pendidikan Dokter Spesialis Kedokteran Penerbangan, Departemen Ilmu Kedokteran Komunitas Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jl. Pegangsaan Timur No. 16, Jakarta Pusat 10320

⁸ Lembaga Kesehatan Penerbangan dan Ruang Angkasa dr. Saryanto, Jl. MT Haryono No. 41, Jakarta Selatan 12770

* **Korespondensi:** wiyono_heru@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: Intermittent hypobaric hypoxia (IHH) may disturb redox homeostasis and reduce oxygen saturation. Malondialdehyde (MDA) reflects lipid peroxidation, whereas reduced glutathione (GSH) represents endogenous antioxidant capacity. This study evaluated plasma MDA and GSH and peripheral oxygen saturation (SpO₂) after acute and repeated IHH exposure in rats.

Methods: Twenty-five male Sprague-Dawley rats were randomly allocated to five groups (n=5/group): normobaric control and IHH 1×, 3×, 7×, or 14×. IHH was delivered once daily in a hypobaric chamber simulating 25,000 ft (7,620 m) for 5 minutes. Plasma MDA was measured using TBARS and GSH using the DTNB assay. SpO₂ was recorded immediately after exposure with rodent pulse oximetry. Group differences were analyzed by one-way ANOVA and Tukey HSD.

Results: GSH differed among groups (F=30.022; p<0.001) and was lower in every IHH group than in controls, reaching its lowest value after 7 exposures. MDA also differed among groups (F=14.481; p<0.001), peaking after 3 exposures; IHH 3× was higher than control (p<0.001) and IHH 14× (p=0.007). SpO₂ was lower in all IHH groups than in controls (p<0.001), with the lowest mean after 3 exposures (61.2±4.66%).

Conclusion: IHH was associated with oxygen desaturation and altered circulating oxidative-stress biomarkers. The non-linear MDA and GSH patterns are compatible with a time-dependent redox response but do not establish physiological adaptation.

Key Words: GSH, intermittent hypobaric hypoxia, MDA, oxidative stress, oxygen saturation

ABSTRAK

Pendahuluan: Hipoksia hipobarik intermiten (IHH) dapat mengganggu homeostasis redoks dan menurunkan saturasi oksigen. Malondialdehid (MDA) mencerminkan peroksidasi lipid, sedangkan reduced glutathione (GSH) menggambarkan kapasitas antioksidan endogen. Penelitian ini mengevaluasi MDA dan GSH plasma serta saturasi oksigen perifer (SpO₂) setelah paparan IHH akut dan berulang pada tikus.

Metode: Sebanyak 25 tikus jantan Sprague-Dawley dibagi acak ke dalam lima kelompok (n=5/kelompok): kontrol normobarik dan IHH 1×, 3×, 7×, atau 14×. IHH diberikan sekali sehari dalam ruang hipobarik setara 25.000 kaki (7.620 m) selama 5 menit. MDA plasma diukur dengan TBARS dan GSH dengan uji DTNB. SpO₂

dicatat segera setelah paparan menggunakan pulse oximetry untuk rodensia. Perbedaan antarkelompok dianalisis dengan ANOVA satu arah dan Tukey HSD.

Hasil: GSH berbeda bermakna antarkelompok ($F=30,022$; $p<0,001$) dan lebih rendah pada seluruh kelompok IHH dibanding kontrol, dengan nilai terendah setelah 7 kali paparan. MDA juga berbeda bermakna ($F=14,481$; $p<0,001$), dengan nilai tertinggi setelah 3 kali paparan; IHH $3\times$ lebih tinggi daripada kontrol ($p<0,001$) dan IHH $14\times$ ($p=0,007$). SpO_2 lebih rendah pada seluruh kelompok IHH dibanding kontrol ($p<0,001$), dengan rerata terendah setelah 3 kali paparan ($61,2\pm4,66\%$).

Simpulan: IHH berkaitan dengan desaturasi oksigen dan perubahan biomarker stres oksidatif sirkulasi. Pola MDA dan GSH yang tidak linear konsisten dengan respons redoks yang bergantung waktu, tetapi belum membuktikan adaptasi fisiologis.

Kata Kunci: GSH, hipoksia hipobarik intermiten, MDA, saturasi oksigen, stres oksidatif

PENDAHULUAN

Hipoksia hipobarik terjadi ketika penurunan tekanan barometrik di ketinggian menurunkan tekanan parsial oksigen inspirasi sehingga gradien difusi oksigen dari alveolus ke darah dan ketersediaan oksigen jaringan ikut berkurang. Respons awal terhadap keadaan ini mencakup perubahan ventilasi dan sirkulasi, tetapi pada tingkat sel hipoksia juga dapat meningkatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan mengganggu homeostasis redoks. Berbagai model eksperimental hipoksia akut maupun intermiten menunjukkan peningkatan stres oksidatif pada hati, otak, dan organ lain, meskipun besarnya respons bergantung pada model dan jaringan yang dievaluasi.¹⁻³ ROS berlebih dapat memicu peroksidasi lipid membran dan menghasilkan malondialdehid (MDA), sedangkan *reduced glutathione* (GSH) berfungsi sebagai komponen penting pertahanan antioksidan non-enzimatik. Karena MDA mencerminkan kerusakan oksidatif lipid dan GSH mencerminkan kapasitas reduktif seluler, evaluasi keduanya dapat menggambarkan dua sisi keseimbangan redoks selama paparan hipoksia.

Respons biologis terhadap hipoksia tidak hanya ditentukan oleh derajat penurunan oksigen, tetapi juga oleh perubahan vaskular, regulasi transkripsi, metabolisme mitokondria,

dan aktivasi jalur pensinyalan yang peka terhadap oksigen. Hipoksia dapat memengaruhi proliferasi sel otot polos vaskular dan remodeling pembuluh, sementara paparan intermiten menghasilkan respons transkriptomik yang berbeda menurut jenis sel.⁴⁻⁶ Jalur *hypoxia-inducible factor-1 α* (HIF-1 α) dan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) berperan dalam pengaturan respons terhadap hipoksia dan stres oksidatif. Pada tikus yang terpapar IHH, perubahan MDA, GSH, enzim antioksidan, HIF-1 α , dan Nrf2 telah dilaporkan pada jantung, menunjukkan bahwa paparan hipobarik berulang dapat menghasilkan respons molekuler yang dinamis.⁷ MDA sendiri banyak digunakan sebagai biomarker peroksidasi lipid dalam penelitian stres oksidatif.⁸ Walaupun respons tersebut bersifat sistemik, sistem respirasi dan sirkulasi pulmonal memiliki relevansi khusus karena secara langsung menentukan pertukaran gas dan derajat desaturasi saat tekanan parsial oksigen inspirasi menurun.

Besarnya respons terhadap hipoksia intermiten bergantung pada intensitas, durasi setiap sesi, jumlah paparan, interval normoksia, serta jaringan yang dievaluasi. Studi pada pankreas, hati, otak, dan metabolisme sistemik menunjukkan bahwa respons biologis terhadap hipoksia intermiten tidak selalu

meningkat secara linear seiring bertambahnya jumlah atau lama paparan.⁹⁻¹³ Pada sebagian model, fase awal ditandai peningkatan stres oksidatif atau gangguan metabolik, sedangkan paparan yang lebih lama dapat diikuti respons kompensatorik; pada model lain, cedera tetap berlanjut atau bahkan meningkat. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa istilah 'adaptasi' perlu digunakan secara hati-hati dan sebaiknya didukung oleh pengukuran mekanistik, bukan hanya oleh penurunan satu biomarker pada kelompok dengan paparan lebih lama. Dengan demikian, pengamatan pada beberapa jumlah paparan penting untuk memetakan waktu beban oksidatif meningkat, waktu pertahanan antioksidan menurun, dan melihat perubahan oksigenasi bergerak searah dengan perubahan biomarker redoks atau tidak.

Kajian mengenai paparan ketinggian menegaskan bahwa hipoksia hipobarik dapat meningkatkan stres oksidatif, memengaruhi fungsi mitokondria, dan mengubah homeostasis redoks, sedangkan proses aklimatisasi dapat melibatkan penyesuaian ventilasi, metabolisme, dan sistem antioksidan.¹⁴⁻¹⁶ Data eksperimental pada hipoksia intermiten juga menunjukkan adanya inflamasi dan stres oksidatif pada berbagai organ; pada model hipobarik jangka lebih panjang, perubahan oksidatif dan cedera jaringan paru telah dilaporkan.^{15,17,18} Namun, bukti mengenai dinamika MDA dan GSH plasma yang dinilai bersama SpO₂ pada paparan IHH singkat dengan intensitas tinggi masih terbatas. Protokol penelitian ini menggunakan paparan singkat pada simulasi 25.000 kaki, sehingga

dapat menggambarkan respons terhadap tantangan hipobarik berat yang berulang, bukan paparan ketinggian rutin. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kadar MDA dan GSH plasma serta SpO₂ pada tikus Sprague-Dawley setelah paparan IHH 1×, 3×, 7×, dan 14×, serta menggambarkan pola perubahan ketiga parameter tersebut menurut jumlah paparan.

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental acak dengan desain paralel yang membandingkan satu kelompok kontrol normobarik dengan empat kelompok paparan *intermittent hypobaric hypoxia* (IHH). Variabel utama yang dievaluasi adalah kadar MDA plasma, kadar GSH plasma, dan saturasi oksigen perifer (SpO₂). Setiap kelompok mewakili jumlah paparan yang berbeda sehingga respons setelah paparan akut dapat dibandingkan dengan respons setelah paparan berulang. Penelitian dilaksanakan di Lembaga Kesehatan Penerbangan dan Ruang Angkasa (Lakespra) TNI AU dr. Saryanto, Jakarta, bekerja sama dengan Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler serta Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Seluruh prosedur eksperimental telah ditinjau dan disetujui oleh Komite Etik Ilmiah Lakespra dr. Saryanto (Nomor persetujuan: 000267/KEP Lakespra dr. Saryanto/2025). Seluruh kelompok menjalani prosedur pemeliharaan yang sama, sedangkan perbedaan perlakuan utama adalah jumlah sesi IHH. Prosedur terminal dan pengambilan sampel

dilakukan setelah kelompok menyelesaikan jumlah paparan yang telah ditetapkan.

Sebanyak 25 ekor tikus jantan galur Sprague-Dawley (*Rattus norvegicus*), berusia 8 minggu dengan berat 200-250 g, diperoleh dari Kemuning, penyedia hewan coba laboratorium bersertifikat. Hewan dengan penyakit pernapasan atau kondisi kesehatan dasar yang dinilai buruk tidak diikutsertakan. Dua puluh lima hewan dibagi secara acak ke dalam lima kelompok (n=5 per kelompok): kontrol normobarik, IHH 1×, IHH 3×, IHH 7×, dan IHH 14×. Hewan dipelihara pada suhu 22-25°C dan kelembapan relatif 50-60% dengan siklus terang-gelap 12:12 jam. Pakan standar dan air minum diberikan *ad libitum*. Lingkungan pemeliharaan dijaga bebas dari asap rokok dan paparan polutan udara lain selama periode penelitian. Kelompok kontrol dipelihara pada kondisi atmosfer normal dan tidak menjalani paparan hipobarik.

Kelompok IHH ditempatkan dalam ruang hipobarik pelatihan manusia yang dimodifikasi untuk percobaan hewan kecil. Sebelum penelitian, ruang hipobarik dikalibrasi dan tekanan barometrik dipantau menggunakan indikator tekanan bawaan untuk memastikan kondisi yang ekuivalen dengan ketinggian simulasi 7.620 m (25.000 kaki). Suhu di dalam ruang dipertahankan pada kisaran suhu ruang selama sesi paparan. Pada setiap sesi, hewan dipaparkan pada kondisi hipobarik target selama 5 menit. Paparan diberikan satu kali per hari pada hari berturut-turut sesuai kelompok: satu sesi untuk IHH 1×, tiga sesi untuk IHH 3×, tujuh sesi untuk IHH 7×, dan empat belas sesi untuk IHH 14×. Dengan

pendekatan ini, setiap kelompok mewakili titik paparan yang berbeda dalam rangkaian IHH, sedangkan kelompok kontrol tetap berada pada kondisi normobarik.

Setelah kelompok menyelesaikan protokol paparannya, hewan diberi ketamin 50 mg/kg dan xylazine 5 mg/kg secara intraperitoneal sebelum pengambilan darah terminal. Darah dikumpulkan secara bedah dari arteri pulmonalis. Sampel darah kemudian diproses untuk memperoleh plasma yang digunakan pada pemeriksaan MDA dan GSH. Seluruh kelompok menjalani prosedur terminal yang sama untuk mengurangi perbedaan sistematis yang berasal dari prosedur pengambilan sampel.

Konsentrasi *reduced glutathione* (GSH) ditentukan dengan uji kolorimetrik berdasarkan reaksi gugus tiol GSH dengan 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). Reaksi antara gugus sulfhidril dan DTNB menghasilkan 5-thio-2-nitrobenzoic acid (TNB), yaitu produk berwarna kuning yang dapat dikuantifikasi secara spektrofotometrik. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 412 nm. Nilai GSH selanjutnya digunakan sebagai indikator kapasitas antioksidan dan dilaporkan dalam satuan µg/mL protein sesuai hasil analisis yang tersedia.

Malondialdehid (MDA), sebagai produk akhir peroksidasi lipid, diukur menggunakan metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS). Pada kondisi asam dan pemanasan, MDA bereaksi dengan asam tiobarbiturat membentuk aduk berwarna yang dapat diukur secara spektrofotometrik. Besarnya absorbansi digunakan untuk memperkira-

kan konsentrasi produk reaktif terhadap TBA sebagai indikator tidak langsung peroksidasi lipid. Konsentrasi MDA plasma dilaporkan dalam nmol/mL.

Saturasi oksigen perifer (SpO_2) diukur secara non-invasif menggunakan alat *pulse oximetry* untuk hewan kecil (MouseOx Plus) yang dilengkapi *probe* khusus rodensia. Sebelum pencatatan, hewan ditempatkan dalam *restrainer* untuk meminimalkan artefak gerakan dan memperoleh sinyal yang stabil. Sensor ditempatkan pada area tanpa rambut dengan perfusi yang memadai, seperti ekor, telapak kaki belakang, atau paha yang telah dicukur. Pada kelompok IHH, pengukuran dilakukan segera setelah sesi paparan sehingga nilai yang diperoleh mencerminkan kondisi pasca-paparan. Pemilihan lokasi sensor disesuaikan dengan kualitas sinyal pada masing-masing hewan tanpa mengubah prinsip pengukuran antarkelompok.

SpO_2 dipantau secara kontinu selama sekitar 1 menit. Setelah sinyal stabil, rerata nilai yang stabil dicatat sebagai nilai SpO_2 untuk analisis. Seluruh pengukuran dilakukan pada kondisi normotermia untuk mengurangi perubahan perfusi perifer akibat suhu, karena perfusi yang buruk dapat mengganggu pembacaan *pulse oximetry*. Kalibrasi dan *zeroing* alat dilakukan sesuai spesifikasi pabrikan sebelum sesi pengukuran untuk menjaga konsistensi pencatatan.

Distribusi data dan homogenitas varians diuji menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene. Karena variabel yang dianalisis dibandingkan pada lima kelompok independen, perbedaan MDA, GSH, dan SpO_2 dievaluasi

dengan *one-way analysis of variance* (ANOVA). Apabila terdapat perbedaan bermakna secara keseluruhan, analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey honestly significant difference* (HSD) untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang berbeda. Seluruh uji bersifat dua arah dan nilai $p < 0,05$ dianggap bermakna secara statistik. Data disajikan sebagai rerata $\pm$ simpangan baku (SD), sedangkan ukuran efek η^2 dilaporkan bila tersedia. Analisis dilakukan menggunakan IBM SPSS Statistics versi 20.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

HASIL

Kadar GSH berbeda bermakna antarkelompok ($F=30,022$; $p < 0,001$). Dibandingkan kelompok kontrol ($2,123 \pm 0,211$ $\mu\text{g/mL}$ protein), seluruh kelompok IHH menunjukkan kadar GSH yang lebih rendah ($p < 0,001$ untuk seluruh perbandingan dengan kontrol). Nilai terendah terdapat pada kelompok IHH 7 $\times$ ($1,254 \pm 0,113$ $\mu\text{g/mL}$ protein). Kelompok IHH 14 $\times$ menunjukkan nilai $1,562 \pm 0,155$ $\mu\text{g/mL}$ protein, lebih tinggi daripada IHH 7 $\times$ dan mendekati nilai pada IHH 1 $\times$ ($1,596 \pm 0,075$ $\mu\text{g/mL}$ protein). Tidak ditemukan perbedaan bermakna antara IHH 1 $\times$ dan IHH 14 $\times$ ($p=0,994$). Distribusi rerata dan simpangan baku seluruh kelompok disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

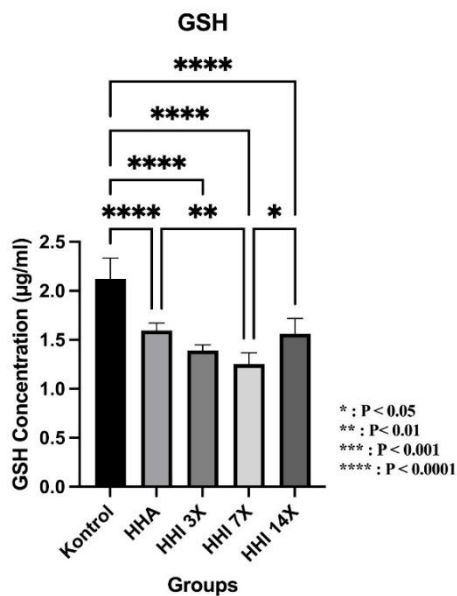
Kadar MDA juga berbeda bermakna antarkelompok ($F=14,481$; $p < 0,001$) dengan ukuran efek $\eta^2=0,743$. Nilai tertinggi terdapat pada IHH 3 $\times$ ($0,70 \pm 0,12$ nmol/mL), lebih tinggi dibanding kontrol ($0,39 \pm 0,03$ nmol/mL; $p < 0,001$) dan IHH 14 $\times$ ($0,54 \pm 0,02$ nmol/mL;

$p=0,007$). Dibanding kontrol, MDA juga lebih tinggi pada IHH 1 $\times$ ($p=0,012$), IHH 7 $\times$ ($p=0,001$), dan IHH 14 $\times$ ($p=0,014$). Secara deskriptif, rerata MDA meningkat dari kontrol

hingga mencapai puncak pada IHH 3 $\times$, kemudian lebih rendah pada IHH 7 $\times$ dan IHH 14 $\times$. Nilai tiap kelompok ditampilkan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 1. Kadar GSH plasma pada berbagai kelompok paparan.

Grup	GSH ($\mu\text{g/mL protein}$)
Kontrol	$2,123 \pm 0,211$
IHH 1 $\times$	$1,596 \pm 0,075$
IHH 3 $\times$	$1,391 \pm 0,058$
IHH 7 $\times$	$1,254 \pm 0,113$
IHH 14 $\times$	$1,562 \pm 0,155$

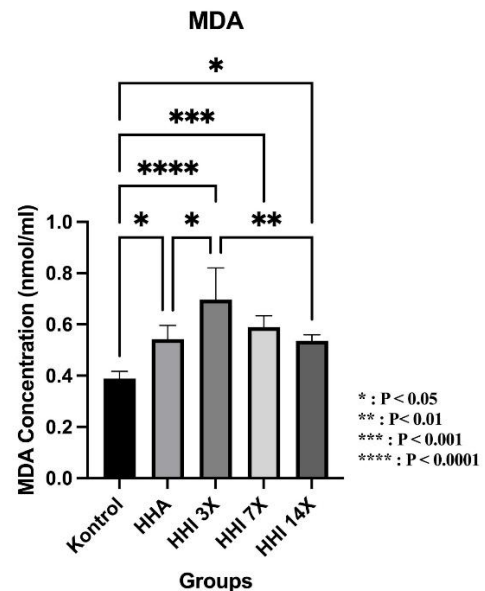


Gambar 1. Kadar GSH plasma pada berbagai kelompok.

SpO_2 menunjukkan penurunan nyata setelah paparan IHH. Kelompok kontrol memiliki rerata $96,0 \pm 2,0\%$, sedangkan seluruh kelompok IHH memiliki nilai yang lebih rendah ($p < 0,001$ dibanding kontrol). Rerata terendah terdapat pada IHH 3 $\times$ ($61,2 \pm 4,66\%$). Nilai tersebut lebih rendah dibanding IHH 1 $\times$ ($79,4 \pm 4,16\%$; $p < 0,001$) dan IHH 14 $\times$ ($71,6 \pm 7,33\%$; $p = 0,033$). Kelompok IHH 7 $\times$ memiliki rerata $69,8 \pm 5,97\%$. Pada perban-

Tabel 2. Kadar MDA plasma pada berbagai kelompok paparan.

Grup	MDA (nmol/mL)
Kontrol	$0,39 \pm 0,03$
IHH 1 $\times$	$0,54 \pm 0,05$
IHH 3 $\times$	$0,70 \pm 0,12$
IHH 7 $\times$	$0,59 \pm 0,04$
IHH 14 $\times$	$0,54 \pm 0,02$

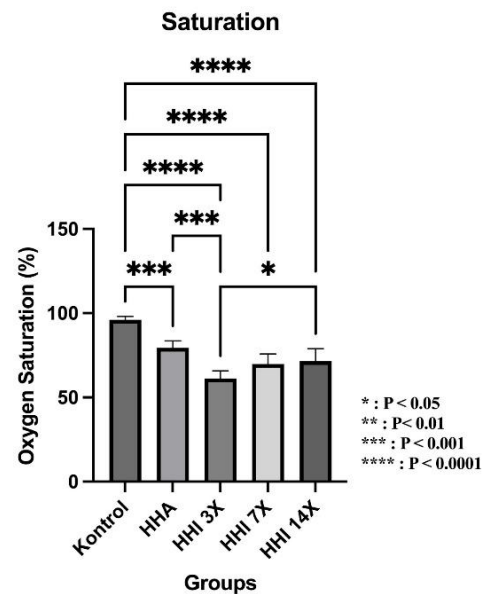


Gambar 2. Kadar MDA plasma pada berbagai kelompok.

dengan *post hoc* lain yang dilaporkan, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara IHH 1 $\times$, IHH 7 $\times$, dan IHH 14 $\times$ ($p > 0,05$). Dengan demikian, desaturasi paling nyata pada protokol ini terlihat pada kelompok IHH 3 $\times$, sedangkan kelompok dengan jumlah paparan lebih banyak menunjukkan rerata SpO_2 yang lebih tinggi daripada IHH 3 $\times$ tetapi tetap di bawah kontrol. Data lengkap ditampilkan pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Tabel 3. Saturasi oksigen perifer (SpO₂) pada berbagai kelompok paparan.

Grup	SpO ₂ (%)
Kontrol	96,00 ± 2,00
IHH 1×	79,40 ± 4,16
IHH 3×	61,20 ± 4,66
IHH 7×	69,80 ± 5,97
IHH 14×	71,60 ± 7,33

**Gambar 3.** Saturasi oksigen perifer pada berbagai kelompok.

DISKUSI

Penelitian ini menunjukkan bahwa paparan IHH berhubungan dengan perubahan biomarker stres oksidatif sirkulasi dan penurunan SpO₂, tetapi ketiga parameter tidak menunjukkan pola waktu yang identik. MDA mencapai nilai tertinggi pada kelompok IHH 3×, GSH mencapai nilai terendah pada IHH 7×, sedangkan SpO₂ paling rendah pada IHH 3×. Pada kelompok IHH 14×, MDA lebih rendah daripada IHH 3× dan GSH lebih tinggi daripada IHH 7×, sementara SpO₂ tetap lebih rendah daripada kontrol. Temuan tersebut penting karena memperlihatkan bahwa desaturasi dan respons redoks tidak selalu bergerak paralel. SpO₂ terutama mencerminkan konsekuensi fisiologis akut dari rendahnya ketersediaan oksigen, sedangkan MDA dan GSH mencerminkan proses biokimia yang dipengaruhi produksi ROS, konsumsi antioksidan, sintesis ulang GSH, serta kemungkinan aktivasi mekanisme kompensatorik.

Oleh sebab itu, pola yang berbeda antartetiga parameter lebih tepat dipandang sebagai respons multidimensi terhadap IHH daripada sebagai satu kurva adaptasi yang seragam.

Peningkatan MDA pada fase awal hingga IHH 3× konsisten dengan peningkatan peroksidasi lipid akibat stres oksidatif pada hipoksia. Kajian paparan ketinggian menunjukkan bahwa hipoksia dapat meningkatkan ROS melalui perubahan fungsi rantai transpor elektron mitokondria dan sumber oksidan lain, sehingga mendorong oksidasi lipid, protein, dan komponen seluler.¹⁴⁻¹⁶ Pada penelitian Wardaya, et al., IHH pada tikus juga memengaruhi MDA dan sistem antioksidan jantung, sedangkan Lüneburg, et al. menunjukkan peningkatan MDA dan aktivitas ROS pada paru tikus yang terpapar hipoksia hipobarik intermiten jangka panjang.^{7,15} Penelitian Yaman, et al. selanjutnya menunjukkan bahwa paparan hipobarik intermiten kronis dapat disertai stres oksidatif, inflamasi, dan perubahan histologis

paru.¹⁸ Perbedaan protokol antara studi-studi tersebut dengan penelitian ini cukup besar, khususnya dalam ketinggian simulasi, lama setiap sesi, dan total periode paparan. Hal ini dapat menjelaskan penyebab titik puncak biomarker tidak selalu sama. Karena desain penelitian ini menggunakan kelompok hewan yang berbeda pada setiap jumlah paparan, MDA yang lebih rendah pada IHH 7× dan 14× sebaiknya ditafsirkan sebagai pola antarkelempok yang konsisten dengan kemungkinan kompensasi redoks, bukan bukti langsung bahwa hewan yang sama mengalami 'pemulihan' setelah puncak IHH 3×.

GSH menurun pada seluruh kelompok IHH dibanding kontrol dan mencapai nilai terendah pada IHH 7×. Secara biologis, penurunan GSH dapat terjadi ketika GSH tereduksi digunakan untuk menetralkan peroksida dan mempertahankan lingkungan reduktif sel. Bila pembentukan ROS melampaui kapasitas regenerasi GSH, cadangan GSH dapat turun. Nilai GSH yang lebih tinggi pada IHH 14× dibanding IHH 7× dapat mengindikasikan perubahan keseimbangan antara konsumsi dan regenerasi antioksidan setelah paparan yang lebih panjang. Aklimatisasi terhadap hipoksia diketahui melibatkan penyesuaian fungsi mitokondria, redox homeostasis, HIF, dan jalur antioksidan.^{16,19} Respons tersebut tidak selalu bersifat protektif mutlak; jalur yang sama dapat mendukung adaptasi pada satu konteks tetapi berkontribusi pada cedera bila intensitas hipoksia berlebihan. Dalam penelitian ini, mekanisme peningkatan kembali GSH pada IHH 14× belum dapat ditentukan karena aktivitas *glutathione peroxidase*,

glutathione reductase, *superoxide dismutase*, katalase, rasio GSH/GSSG, HIF-1α, dan Nrf2 tidak dilaporkan. Dengan demikian, istilah respons adaptif sebaiknya tetap digunakan sebagai hipotesis yang konsisten dengan pola data, bukan kesimpulan mekanistik.

Penurunan SpO₂ merupakan temuan fisiologis yang paling langsung dari paparan IHH. Nilai terendah setelah tiga sesi menunjukkan desaturasi yang berat pada protokol simulasi 25.000 kaki, sedangkan rerata SpO₂ pada IHH 7× dan 14× lebih tinggi daripada IHH 3× tetapi tetap jauh di bawah kontrol. Respons terhadap hipoksia berulang dapat melibatkan perubahan ventilasi, kemoresepsi perifer, aktivitas simpatis, dan penyesuaian kardiovaskular. Badan karotis merupakan sensor penting terhadap penurunan oksigen dan berperan dalam respons ventilasi serta kardiovaskular terhadap hipoksia intermiten.²⁰ Kajian aklimatisasi ketinggian juga menunjukkan bahwa peningkatan ventilasi pada paparan berulang dapat membantu memperbaiki tekanan oksigen alveolar dan saturasi arteri, tetapi besar respons sangat bergantung pada dosis hipoksia dan waktu paparan.¹⁶ Dalam penelitian ini, peningkatan relatif SpO₂ pada IHH 7× dan 14× dibanding IHH 3× belum dapat dianggap sebagai bukti aklimatisasi ventilatorik karena hanya satu titik waktu pascapaparan yang dilaporkan dan tidak terdapat data ventilasi, PaO₂, PaCO₂, pH, atau gas darah. Selain itu, SpO₂ perifer pada rodensia dapat dipengaruhi kualitas perfusi dan sinyal, sehingga standarisasi kondisi pengukuran menjadi penting.

Secara keseluruhan, hasil penelitian men-

dukung konsep bahwa efek hipoksia intermiten bergantung pada dosis paparan dan dapat berbeda menurut jaringan. Penelitian pada pankreas, hati, dan otak menunjukkan variasi respons stres oksidatif dan metabolik menurut durasi hipoksia, sedangkan model IHH pada aorta menunjukkan perubahan struktur dan fungsi yang juga bergantung pada jumlah siklus paparan.^{9-13,21} Pola non-linear pada penelitian ini karena itu tidak berdiri sendiri, tetapi sesuai dengan konsep bahwa hipoksia berulang dapat menghasilkan kombinasi respons maladaptif dan kompensatorik. Meskipun demikian, ketinggian simulasi 25.000 kaki merupakan tantangan hipobarik berat dan durasi 5 menit per sesi sangat singkat dibanding banyak model aklimatisasi atau paparan okupasional. Kombinasi intensitas tinggi dan durasi singkat ini membatasi perbandingan langsung dengan studi hipoksia kronis yang menggunakan ketinggian lebih rendah selama beberapa jam per hari. Selain itu, kelompok penelitian diterminasi setelah jumlah paparan yang berbeda, sehingga variasi antarkelompok dapat mencerminkan gabungan efek jumlah sesi, lama waktu sejak awal protokol, dan respons biologis individual. Dari sisi translasi, hasil penelitian lebih tepat digunakan untuk memahami respons biologis terhadap paparan hipobarik berat yang berulang daripada untuk menentukan batas aman, jadwal pelatihan, atau manfaat *preconditioning* pada manusia. Penerbang dan personel yang bekerja pada lingkungan ketinggian juga menghadapi faktor lain seperti aktivitas fisik, suhu, tekanan psikologis, kecepatan perubahan ketinggian, dan penggunaan sistem oksi-

gen, yang tidak dimodelkan dalam penelitian ini. Oleh karena itu, generalisasi ke situasi operasional perlu dilakukan dengan sangat hati-hati dan sebaiknya didukung oleh studi fisiologi manusia dengan protokol yang sesuai.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan saat menafsirkan hasil. Pertama, jumlah hewan relatif kecil ($n=5$ per kelompok) dan seluruh subjek adalah tikus jantan, sehingga variasi biologis dan kemungkinan perbedaan berdasarkan jenis kelamin belum dapat dievaluasi. Kedua, desain paralel menggunakan kelompok hewan yang berbeda pada setiap jumlah paparan; karena itu, perbedaan IHH 3 $\times$, 7 $\times$, dan 14 $\times$ bukan perubahan serial pada individu yang sama. Ketiga, biomarker yang dianalisis terbatas pada MDA dan GSH plasma sehingga sumber organ dari perubahan biomarker tidak dapat dipastikan, dan klaim mengenai kerusakan atau adaptasi jaringan paru tidak dapat dibuat tanpa data jaringan. Keempat, tidak tersedia konfirmasi melalui histopatologi, marker inflamasi, aktivitas enzim antioksidan, atau marker molekuler seperti HIF-1 α dan Nrf2. Kelima, pengambilan sampel dilakukan setelah pemberian ketamin-xylazine. Walaupun prosedur yang sama diterapkan pada semua kelompok dan karena itu mengurangi bias sistematis antarkelompok, kemungkinan pengaruh prosedur terminal terhadap status oksidatif tetap perlu dipertimbangkan. Keenam, hubungan antara SpO₂, MDA, dan GSH belum dapat dinilai pada tingkat individual berdasarkan analisis yang dilaporkan; analisis asosiasi yang valid memerlukan data

tiap hewan, bukan hanya rerata kelompok. Selain itu, beberapa rincian metodologis yang penting untuk reproduksibilitas, seperti metode randomisasi, masa aklimatisasi, profil kenaikan dan penurunan tekanan ruang hipobarik, penanganan serta penyimpanan plasma, dan prosedur kontrol mutu pemeriksaan biokimia, perlu dilaporkan secara lebih lengkap bila datanya tersedia. Penelitian berikutnya sebaiknya menggunakan ukuran sampel yang direncanakan berdasarkan hipotesis utama, melaporkan strategi pengurangan bias sesuai pedoman penelitian hewan, menggunakan data individual untuk analisis hubungan antarparameter, dan menambahkan pengukuran molekuler serta histopatologi. Pengukuran serial SpO₂ pada beberapa titik setelah paparan, bersama gas darah dan parameter ventilasi, juga akan membantu membedakan desaturasi akut dari proses aklimatisasi. Pendekatan tersebut akan memperjelas penurunan MDA atau peningkatan kembali GSH pada paparan yang lebih lama benar-benar mencerminkan adaptasi protektif atau hanya variasi temporal dalam respons stres oksidatif.

SIMPULAN

Paparan IHH pada tikus Sprague-Dawley menyebabkan desaturasi oksigen dan perubahan biomarker stres oksidatif plasma. MDA mencapai nilai tertinggi dan SpO₂ mencapai nilai terendah setelah tiga kali paparan, sedangkan GSH mencapai nilai terendah setelah tujuh kali paparan. Pada kelompok IHH 14x, MDA lebih rendah dan GSH lebih tinggi dibanding beberapa kelompok paparan sebelumnya, menghasilkan pola

yang konsisten dengan kemungkinan penyesuaian redoks terhadap paparan berulang. Namun, desain antarkelompok dan keterbatasan biomarker tidak memungkinkan kesimpulan kausal mengenai mekanisme adaptasi. Temuan ini perlu dikonfirmasi dengan evaluasi individual, molekuler, histopatologi, serta studi translasi sebelum diekstrapolasi ke manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Para penulis menyampaikan terima kasih kepada Lembaga Kesehatan Penerbangan dan Ruang Angkasa dr. Saryanto (Lakespra), TNI Angkatan Udara, atas fasilitas ruang hipobarik dan dukungan teknis selama penelitian; Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, atas dukungan pemrosesan sampel dan analisis; serta staf laboratorium yang berperan dalam pemeliharaan hewan coba dan pelaksanaan prosedur penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Li Y, Chen Y, Kuang J, Deng S, Wang Y. Intermittent hypoxia induces hepatic senescence through promoting oxidative stress in a mouse model. *Sleep Breath*. 2024;28(1):183-191.
2. Fernandes JL, Martins FO, Olea E, Prieto-Lloret J, Braga PC, Sacramento JF, et al. Chronic intermittent hypoxia-induced dysmetabolism is associated with hepatic oxidative stress, mitochondrial dysfunction and inflammation. *Antioxidants (Basel)*. 2023;12(11):1910.
3. Dai S, Feng Y, Lu C, Zhang H, Ma W, Xie W, et al. Impairment of autophagic flux after hypobaric hypoxia potentiates oxidative stress and cognitive function disturbances in mice. *Neurosci Bull*. 2024;40(1):35-49.
4. Huang X, Akgün EE, Mehmood K, Zhang H, Tang Z, Li Y. Mechanism of hypoxia-mediated smooth

- muscle cell proliferation leading to vascular remodeling. *Biomed Res Int.* 2022;2022:3959845.
5. Lee J, Kang H. Hypoxia promotes vascular smooth muscle cell proliferation through microRNA-mediated suppression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Cells.* 2019;8(8):802.
6. Bhagavan H, Wei AD, Oliveira LM, Aldinger KA, Ramirez JM. Chronic intermittent hypoxia elicits distinct transcriptomic responses among neurons and oligodendrocytes within the brainstem of mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2024;326(6):L698-L712.
7. Wardaya W, Mulyawan W, Jusman SWA, Sadikin M. Oxidative stress, hypoxia-inducible factor-1 α , and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 in the hearts of rats exposed to intermittent hypobaric hypoxia. *Hayati J Biosci.* 2024;31(1):39-47.
8. Sulaiman AG, Sangging PRA. Malondialdehyde (MDA) sebagai marker stres oksidatif berbagai penyakit. *Medula.* 2024;14(2):321-5.
9. Zeng S, Wang Y, Ai L, Huang L, Liu Z, He C, et al. Chronic intermittent hypoxia-induced oxidative stress activates TRB3 and phosphorylated JNK to mediate insulin resistance and cell apoptosis in the pancreas. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2024;51(3):e13843.
10. Barnes LA, Xu Y, Sanchez-Azofra A, Moya EA, Zhang MP, Crotty Alexander LE, et al. Duration of intermittent hypoxia impacts metabolic outcomes and severity of murine NAFLD. *Front Sleep.* 2023; 2:1215944.
11. Zhang K, Ma D, Wu Y, Xu Z. Impact of chronic intermittent hypoxia on cognitive function and hippocampal neurons in mice: A study of inflammatory and oxidative stress pathways. *Nat Sci Sleep.* 2024;16:2029-43.
12. Gaucher J, Vial G, Montellier E, Guellerin M, Bouyon S, Lemarie E, et al. Intermittent hypoxia rewires the liver transcriptome and fires up fatty acids usage for mitochondrial respiration. *Front Med (Lausanne).* 2022;9:829979.
13. Luo Y, Chen Q, Zou J, Fan J, Li Y, Luo Z. Chronic intermittent hypoxia exposure alternative to exercise alleviates high-fat-diet-induced obesity and fatty liver. *Int J Mol Sci.* 2022;23(9):5209.
14. Pena E, El Alam S, Siques P, Brito J. Oxidative stress and diseases associated with high-altitude exposure. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(2):267.
15. Lüneburg N, Siques P, Brito J, Arriaza K, Pena E, Klose H, et al. Long-term chronic intermittent hypobaric hypoxia in rats causes an imbalance in the asymmetric dimethylarginine/nitric oxide pathway and ROS activity: a possible synergistic mechanism for altitude pulmonary hypertension? *Pulm Med.* 2016;2016:6578578.
16. Mallet RT, Bartscher J, Pialoux V, Pasha Q, Ahmad Y, Millet GP, et al. Molecular mechanisms of high-altitude acclimatization. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1698.
17. El Amine B, Fournier J, Minoves M, Baillieux S, Roche F, Perek N, et al. Cerebral oxidative stress, inflammation and apoptosis induced by intermittent hypoxia: a systematic review and meta-analysis of rodent data. *Eur Respir Rev.* 2024;33(174):240162.
18. Yaman MO, Sönmez OF, Ekiz-Yilmaz T, Sönmez D, Meydanlı EEG, Guner I, et al. The role of NMDA glutamate receptors in lung injury caused by chronic long-term intermittent hypobaric hypoxia. *Braz J Med Biol Res.* 2023;56:e12549.
19. Bartscher J, Mallet RT, Pialoux V, Millet GP, Bartscher M. Adaptive responses to hypoxia and/or hyperoxia in humans. *Antioxid Redox Signal.* 2022; 37:887-912.
20. Iturriaga R, Diaz HS. Reactive oxidative species in carotid body chemoreception: Their role in oxygen sensing and cardiorespiratory alterations induced by chronic intermittent hypoxia. *Antioxidants (Basel).* 2025;14(6):675.
21. Utrera A, Navarrete A, González-Candia A, García-Herrera C, Herrera EA. Biomechanical and structural responses of the aorta to intermittent hypobaric hypoxia in a rat model. *Sci Rep.* 2022;12:3790.