

PENGARUH GLUTATION PEROKSIDASE MIMETIK PERORAL TERHADAP KADAR GLUTATION PEROKSIDASE DAN MALONDIALDEHID DARAH SERTA NILAI EMISI OTOAKUSTIK PADA PRAJURIT DENGAN RISIKO TRAUMA AKUSTIK AKIBAT LEDAKAN MERIAM HOWITZER 105

*Effect Of Orally Administered Glutathione Peroxidase Mimetic Towards
Glutathione And Malondialdehyde Blood Level And Otoacoustic
Emissions Result In Soldiers With Acoustic Trauma Risk
Caused By Howitzer 105 Artillery Weapon Blast*

Sigit Sasongko

RS. Dustira KESDAM III/Siliwangi
email korespondensi: sigitsasongkoht@yahoo.com

Abstrak

Bising impulsif berlebihan mengakibatkan kerusakan mekanik maupun metabolik (*stres oksidatif*) pada struktur telinga dalam (koklea), sehingga terjadi trauma akustik (TA). Stres oksidatif yang disebabkan peningkatan radikal bebas ROS/RNS di dalam organ Korti, mengakibatkan apoptosis serta nekrosis sel-sel rambut koklea. Stres oksidatif ditandai oleh peningkatan malondialdehid (MDA), penurunan enzim glutathione peroksidase (GPx), dan hasil emisi otoakustik abnormal (*refer*). Mekanisme pertahanan tubuh terhadap stres oksidatif dilakukan oleh enzim anti oksidan endogen (Superoksid dismutase/SOD, katalase/CAT dan GPx). Mekanisme kerja seluler glutathione peroksidase mimetik sama dengan GPx. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh glutathione peroksidase mimetik terhadap kadar glutathione peroksidase dan malondialdehid darah serta nilai emisi akustik pada prajurit dengan risiko TA akibat ledakan meriam Howitzer 105. Rancangan penelitian adalah *clinical trial pre and post design, randomized, double blind and placebo controllel*, yang dilakukan pada 34 orang prajurit siswa Tamtama baru Pusdik Armed saat latihan menembak meriam Howitzer 105 pada tanggal 7-10 Juli 2014 di Cimahi dan Batujajar. Subjek penelitian dibagi dua, yakni kelompok perlakuan dan kontrol. Kelompok perlakuan diberi glutathione peroksidase mimetik (Ebselen SPI 1005) 1x200 mg peroral saat latihan, sedangkan kelompok kontrol diberi plasebo. Kedua kelompok diukur kadar MDA dan GPx darah serta hasil audiometri nada murni dan nilai emisi otoakustik (DPOAEs) sebelum dan setelah latihan menembak. Data dianalisis menggunakan uji parametrik dan non parametrik, dan besarnya manfaat perlakuan dihitung menggunakan Number Needed to Treat (NNT, 95%CI). Kemaknaan hasil ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$. Hasil penelitian menunjukkan kejadian TA menggunakan pemeriksaan audiometri nada murni pada kelompok kontrol sebanyak 23,5%, dan pada kelompok perlakuan sebanyak 0%, sedangkan menggunakan pemeriksaan DPOAEs pada kelompok kontrol sebanyak 47,1% abnormal/refer dan pada kelompok perlakuan 100% normal/pass, dan perbedaan ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Pemberian Ebselen SPI 1005 pada kelompok perlakuan meningkatkan 82,4% kadar GPx eritrosit (NNT, 95%CI=1,889 [1,159-3,016]; $p=0,004$), meningkatkan 88,2% kadar GPx plasma (NNT, 95%CI=1,417 [0,970-1,775]; $p < 0,001$), menurunkan 100% kadar MDA eritrosit (NNT, 95%CI = 1,417 [0,994-1,836]; $p < 0,001$), dan menurunkan 94,1% kadar MDA plasma (NNT, 95%CI=2,125 [1,29-3,904]; $p=0,01$), serta menghasilkan 100% nilai DPOAEs normal/pass (NNT, 95%CI = 2,125 [1,335-3,987]; $p=0,01$). Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian Ebselen SPI 1005 pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105, meningkatkan kadar GPx darah, menurunkan kadar MDA darah, dan menghasilkan nilai DPOAEs normal/pass.

Kata kunci : Ebselen, Emisi otoakustik, GPx, MDA, Trauma akustik.

Abstract

Excessive noise exposure may cause mechanical and metabolic (oxidative stress) to the inner ear structure (cochlea), resulting in acoustic trauma (TA). Oxidative stress which caused by increasing of free radical ROS/RNS in the organs of Corti, causing apoptosis and necrosis of cochlear hair cell. Oxidative stress was characterized by increasing of malondialdehyde (MDA), decreasing of glutathione peroxidase (GPx) enzyme, and abnormal otoacoustic emission value (refer). Defense mechanism toward oxidative stress was mediated by endogenous antioxidant enzyme (superoxide dismutase/SOD, catalase/CAT, and GPx). Cellular mechanism of glutathione peroxidase mimetic was similar as Gpx. Aim of this study was to determine the impact of glutathione peroxidase mimetic to glutathione peroxidase and malondialdehyde level in blood, also otoacoustic emission value on soldiers with risk of TA due to explosion of Howitzer 105 artillery weapon. The design of this study was clinical trial pre and post design, randomized, double blind and placebo controlled, on 34 new recruit soldiers in Artillery Academy of Indonesian Army, during the soldiers were trained to firing Howitzer 105 artillery weapon, from 7th-10th July 2014 in Cimahi and Batujajar. Subjects were divided into 2 groups, the exposure group (group given treatment) and control group. Exposure group was given glutathione peroxidase mimetic (Ebselen SPI 1005) 200mg, orally once daily during the training, meanwhile control group was given. Malondialdehyde and Glutathione Peroxidase level in blood, pure tone audiometry and otoacoustic emission value (DPOAEs) was measured from those two groups, before and after firing training. The data was analyzed using parametric and non parametric, with Number Needed to Treat (NNT, 95%CI) and significance value ($p < 0.05$). The results of this study showed the number of acoustic trauma events in controle group based on pure tone audiometry test was 23.5%, exposure group was 0%, and based on DPOAEs test the controle group showed 47.1% abnormal/refer, exposure group showed 100% normally/pass, and this difference stastically significance ($p < 0.051$). The group which was given Ebselen SPI 1005 showed increasing 82.4% erythrocyte GPx level (NNT, 95%CI=1.889 [1.159-3.016]; $p=0.004$), showed increasing 88.2% plasma GPx level (NNT, 95%CI=1.417 [0.970-1.775]; $p < 0.001$), decreasing 100% erythrocyte MDA level (NNT, 95%CI = 1.417 [0.994-1.836]; $p < 0.001$), showed decreasing 94.1% plasma MDA level (NNT, 95%CI=2.125 [1.29-3.904]; $p=0.01$), and resulting 100% in normal/pass DPOAEs value (NNT, 95%CI = 2.125 [1.335-3.987]; $p=0.01$). This study concluded that giving Ebselen SPI 1005 to soldiers with risk of acoustic trauma during the firing Howitzer 105 artillery weapon, increasing GPx level in blood, decreasing MDA level in blood, and resulting normally DPOAEs value (pass)

Keywords : Acoustic trauma, Ebselen, GPx, MDA, Otoacoustic emission,

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Prajurit Tentara Nasional Indonesia (TNI) adalah bagian dari rakyat Indonesia, sehingga dalam melaksanakan tugas pokoknya harus profesional yang ditunjang kemampuan fisik prima, termasuk di dalamnya kemampuan optimal panca inderanya. Setelah purnawirawan, selayaknya masih memiliki kemampuan fisik (termasuk kemampuan panca inderanya) yang bagus, sehingga setelah kembali ke masyarakat, mempunyai kualitas hidup baik.

Pusat pendidikan Artileri medan (Pusdik Armed) sebagai lembaga pencetak prajurit Armed menggunakan meriam Howitzer 105 sebagai salah satu sarana latihan siswa sejak tahun 1985 sampai sekarang, dengan frekuensi latihan 34 kali per tahun. Saat menembak, para prajurit berada pada jarak +1 meter di samping meriam. Jumlah tembakan berkisar 210 kali per meriam, dan pada saat menembak, masih ada prajurit yang tidak memakai alat proteksi pendengaran. Data teoritis, menunjukkan tingkat tekanan suara pistol 9 mm=157 dB, senapan M-16=157 dB, granat=164 dB, dan meriam Howitzer 105=183 dB. Penelitian di Pusdik Armed Cimahi (2002) menunjukkan 30% prajurit penembak meriam Howitzer 105 terkena trauma akustik (TA).

Trauma akustik disebabkan oleh stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan radikal bebas (ROS/RNS) di dalam organ korti. Target radikal bebas antara lain membran sel, mengakibatkan peroksidasi lemak, dan terjadi nekrosis sel. Radikal bebas (ROS/RNS) di dalam sel tidak dapat diukur kadarnya, maka sebagai indikator utamanya adalah mengukur kadar malondialdehid (MDA) sebagai hasil peroksidasi lemak. Kadar MDA dalam darah perifer menggambarkan stres oksidatif yang terjadi di organ lain dalam tubuh. Makin tinggi kadar MDA, maka makin besar aktivitas radikal bebas. Target lain radikal bebas adalah inti sel, sehingga menyebabkan mutasi DNA mitokondria. Mutasi ini menyebabkan disfungsi selular dan jaringan, sehingga terjadi apoptosis. Indikator lain penurunan fungsi dengar, memakai alat emisi otoakustik, yang sensitif menilai kerusakan awal sel-sel rambut koklea.

Netralisasi radikal bebas (ROS/RNS) didalam koklea dilakukan enzim antioksidan endogen yakni glutathion peroksidase (GPx), superoksid dismutase (SOD) dan katalase (CAT) yang bekerja mengubah radikal bebas menjadi tidak toksik. Glutathion peroksidase, enzim yang penting mempertahankan fungsi dan viabilitas sel. Enzim ini mempunyai aktivitas yang tinggi pada sel-sel stria vaskularis, organ korti, dan mitokondria. Dalam darah, gambaran enzim tersebut dapat diukur di eritrosit (eGPx), yang menggambarkan GPx intraselular, serta plasma (pGPx) yang menggambarkan GPx ekstraselular. Pada mamalia, kadar GPx sama baik di hati maupun di telinga dalam.

Antioksidan eksogen akan meningkatkan kadar enzim antioksidan intra sel, sehingga dapat mencegah

apoptosis/nekrosis. Penelitian pada hewan coba maupun pada manusia menunjukkan glutathion peroksidase mimetik (ebselen) mempunyai mekanisme seluler sama dengan Gpx.

RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang, maka dirumuskan masalah:

1. Apakah pemberian glutathion peroksidase mimetik 200 mg 1x1 peroral pada prajurit saat latihan menembak meriam Howitzer 105, meningkatkan kadar GPx darah?
2. Apakah pemberian glutathion peroksidase mimetik 200 mg 1x1 peroral pada prajurit saat latihan menembak meriam Howitzer 105, menurunkan kadar MDA darah?
3. Apakah pemberian glutathion peroksidase mimetik 200 mg 1x1 peroral pada prajurit saat latihan menembak meriam Howitzer 105, menghasilkan nilai emisi otoakustik normal?

TUJUAN

Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi efektivitas pemberian glutathion peroksidase mimetik peroral terhadap stres oksidatif yang terjadi pada sel rambut koklea akibat pajanan bising keras dengan risiko terjadi TA, dengan:

1. Mengukur kadar glutathion peroksidase darah prajurit, yang diberi glutathion peroksidase mimetik 200 mg 1x1 peroral maupun plasebo, sebelum dan setelah latihan menembak meriam Howitzer 105.
2. Mengukur kadar malondialdehid darah pada prajurit yang diberi glutathion peroksidase mimetik 200 mg 1x1 peroral maupun plasebo, sebelum dan setelah latihan menembak meriam Howitzer 105.
3. Membandingkan nilai emisi otoakustik pada prajurit, yang diberi glutathion peroksidase mimetik 200 mg 1x1 peroral maupun plasebo, sebelum dan setelah latihan menembak meriam Howitzer 105.

KEGUNAAN

Kegunaan Ilmiah

1. Menyempurnakan teori etiopatogenesis trauma akustik yang berhubungan dengan antioksidan.
2. Mendukung teori etiopatogenesis trauma akustik yang berhubungan dengan kadar GPx dan MDA darah serta nilai emisi otoakustik.
3. Memberikan wawasan baru di bidang diagnostik terhadap trauma akustik menggunakan alat emisi otoakustik.
4. Memberikan wawasan baru di bidang pencegahan (preventif) terhadap trauma akustik menggunakan metode farmakoterapi (antioksidan eksogen peroral) yang berhubungan dengan pemeriksaan kadar enzim antioksidan endogen darah tepi.

Kegunaan Praktis

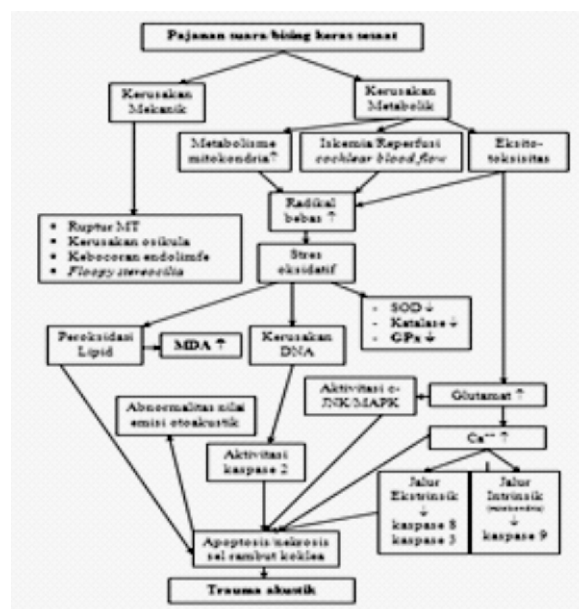
1. Melaksanakan deteksi dini terhadap risiko trauma akustik yang disebabkan bising impulsif berlebihan dengan cara pengukuran kadar GPx dan MDA darah maupun pemeriksaan fungsi dengar, tidak hanya dengan audiometri nada murni, tetapi juga menggunakan alat emisi otoakustik (DPOAEs).
2. Memberi pandangan baru mengenai tata laksana pencegahan terjadinya tuli okupasi (trauma akustik) menggunakan antioksidan eksogen peroral.
3. Memberi masukan pada unsur pimpinan TNI dalam membuat kebijakan baik pendidikan, latihan maupun operasional bagi para prajurit.
4. Merealisasikan dan mengimplementasikan program konservasi pendengaran, khususnya di jajaran TNI.

KAJIAN PUSTAKA

Klasifikasi gangguan pendengaran akibat bising (GPAB) adalah *Noise induced hearing loss temporary threshold shift* (NIHL-TTS), *noise induced hearing loss permanent threshold shift* (NIHL-PTS), dan *acute acoustic trauma* (AAT) atau lebih dikenal dengan istilah trauma akustik (TA). Trauma akustik (TA) adalah gangguan dengar yang disebabkan oleh bising keras sesaat pada telinga, yang disebabkan letusan/ledakan. Akibat bising impulsif berlebihan, kerusakan bukan hanya proses mekanik saja tetapi juga proses metabolik, yang bila berlebihan, akan terjadi stres oksidatif, sehingga terjadi apoptosis/nekrosis sel-sel rambut koklea yang mengakibatkan tuli sensorineural sementara atau bahkan tuli sensorineural permanen.

Diagnosis TA dapat dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan audiometri nada murni dengan gambaran khas yakni tuli sensorineural berupa takik di frekuensi antara 2–6 KHz, sedangkan kerusakan awal sel-sel rambut koklea yang merupakan risiko terjadinya TA dapat dinilai menggunakan alat emisi otoakustik. Pemeriksaan emisi otoakustik adalah suatu prosedur yang cepat, noninvasif, sensitif dan objektif untuk menyingkirkan atau memastikan gangguan fungsi sel-sel rambut luar koklea. Batas normal/pass pada alat emisi otoakustik (DPOAEs), yakni apabila *signal to noise ratio* (SNR) lebih dari 6 pada tiap frekuensi, dan abnormal/refer apabila SNR kurang dari 6 pada tiap frekuensi. Kerusakan fungsi dengar (TA) akibat stres oksidatif yang disebabkan oleh bising keras, digambarkan secara skematis sebagai berikut:

Gambar skematik 2.1 menunjukkan bahwa bising keras akan menyebabkan perubahan dramatis dalam aliran darah koklea (a. koklearis), termasuk peningkatan permeabilitas pembuluh darah, vasokonstriksi kapiler, dan stagnasi darah dalam kapiler strial. Hal ini membuat sel-sel rambut relatif anoksik dan dengan demikian mengalami kerusakan sekunder, sehingga menimbulkan peningkatan metabolisme yang berlebihan di mitokondria, sehingga akan memacu terbentuknya radikal bebas, yang cenderung toksik terhadap membran sel (peroksidasi lipid) maupun inti sel (DNA), dan akhirnya terjadi apoptosis maupun nekrosis sel-sel rambut koklea.



Gambar 2.1 Skema Gangguan Dengar Akibat Bising

Malondialdehid (MDA) adalah salah satu hasil akhir dari peroksidasi lipid. Kadar MDA digunakan sebagai indikator kerusakan radikal bebas. Peroksidasi lipid merupakan serangkaian reaksi oksidatif asam lemak rantai panjang tidak jenuh membran fosfolipid yang menghasilkan degradasi fosfolipid, kerusakan membran, pembentukan hidrokarbon jenuh (etana, pentana), MDA, dan lainnya. Pengambilan sampel darah dari vena perifer untuk mengukur kadar MDA mencerminkan stres oksidatif seluruh tubuh.

Enzim glutathion peroksidase (GPx) merupakan nama umum dari famili isoenzim multipel yang mengkatalisis reduksi H_2O_2 menjadi air atau alkohol dengan menggunakan GSH sebagai donor elektron. Glutathion peroksidase merupakan keluarga enzim yang terdapat intra dan ekstraseluler, dalam darah manusia, aktivitasnya dapat diukur dari GPx1/cGPx/eGPx sebagai gambaran GPx intraseluler dan mitokondria serta GPx3/pGPx sebagai gambaran GPx ekstraseluler. Glutathion peroksidase memiliki aktivitas yang tinggi pada hati, dan pada mamalia, konsentrasi glutathion dan enzim yang berkaitan hampir sama pada jaringan telinga dalam dan sama dengan di hati. Enzim GPx1 memainkan peran yang sangat penting untuk melindungi sel dari kerusakan oleh radikal bebas, dalam hal ini adalah lipid peroksidasi.

Mekanisme terbentuknya radikal bebas (ROS/RNS) dan pertahanan seluler terhadap stres oksidatif oleh enzim antioksidan endogen pada gambar 2.2.

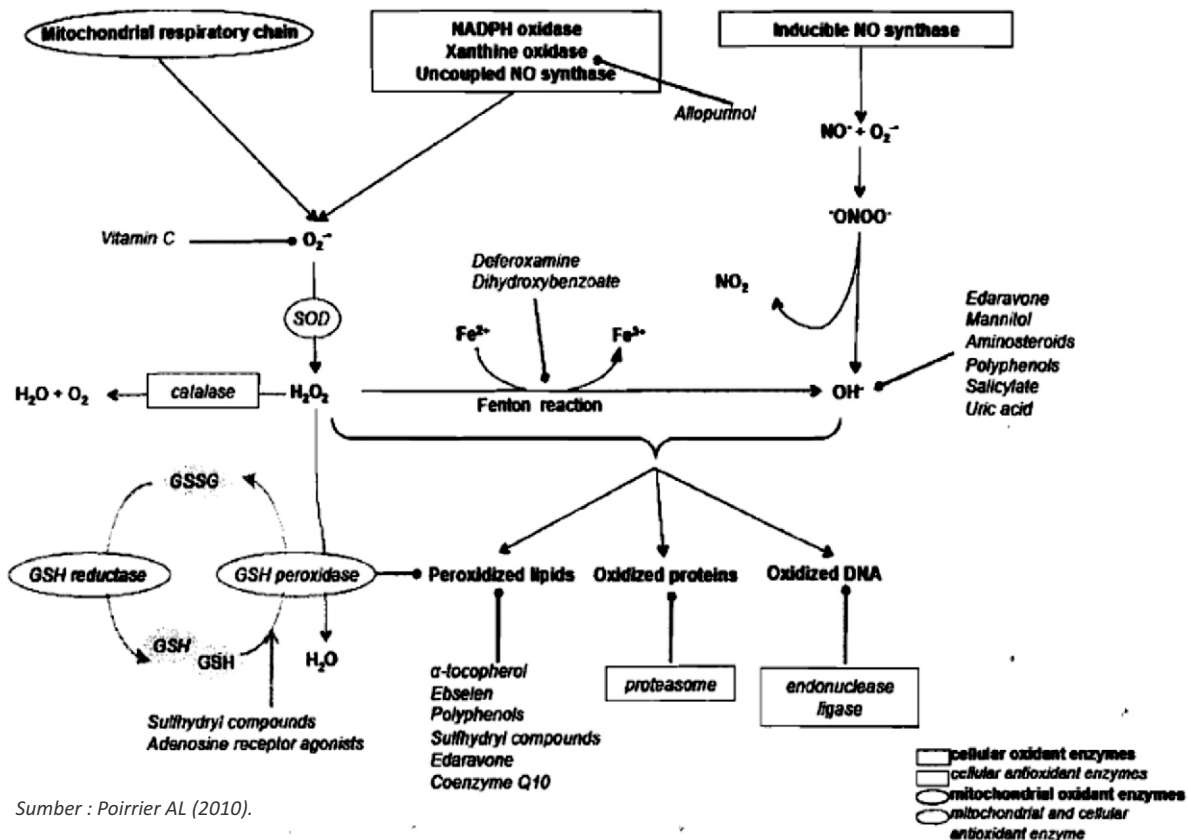
Gambar 2.2 menunjukkan mekanisme pertahanan terhadap ROS dengan cara menghilangkan ROS serta mengubahnya menjadi radikal bebas yang kurang toksik, dan ini diperankan oleh superoksid dismutase (SOD) yang mengubah superoksid anion menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Selanjutnya H_2O_2 oleh katalase (CAT) dan glutathion peroksidase (GPx), dan akan diubah menjadi O_2 dan H_2O , yang terlihat pada reaksi kimia berikut:

Superoksid dismutase : $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$

Katalase : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$

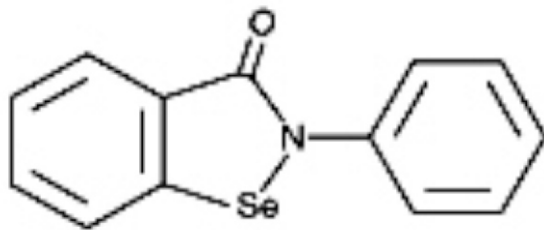
Glutathion peroksidase : $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{GSSG}$

Glutathion reduktase : $\text{GSSG} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{GSH} + \text{NADP}^+$



Gambar 2.2 Jalur utama pembentukan dan detoksifikasi ROS/RNS selular

Glutation peroksidase mimetik (ebselen) merupakan senyawa seleno-organik dengan aktivitas sama dengan enzim glutation peroksidase (GPx). Ebselen mempunyai nama formal 2-phenyl-1,2-benzisosenazole-3(2H)-one, dengan rumus molekul C₁₃H₉NSe, seperti pada gambar 2.3.



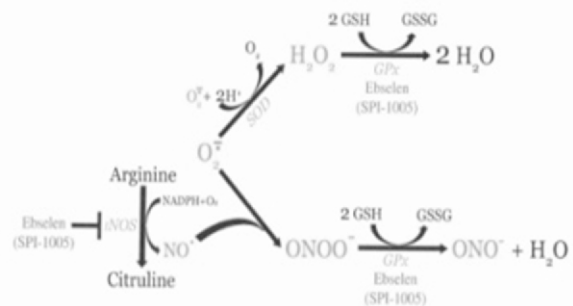
Sumber: Liu A. (2005).

Gambar 2.3 Struktur ebselen (C₁₃H₉NSe)

Ebselen berbentuk kristal putih (*white solid*), kemurnian (*purity*) >98%, larut dalam DMSO, dengan berat molekul M.W. 274,2, stabil selama 2 tahun pada suhu -200C, dan dapat disimpan pada suhu (*storage temperature*) 40C.

Ebselen (SPI 1005) juga merupakan pengumpul radikal bebas (*ROS scavenger*) yang sangat baik dengan tingkat konstan lebih tinggi daripada analog belerang. Ebselen menghambat peroksidasi lipid membran non-enzimatis dan enzimatis dalam sel. Dengan reaksi langsung bersama kelompok protein tiol, ebselen juga menghambat beberapa enzim yang terlibat dalam proses inflamasi, termasuk *lipoyxygenase*, *nitric oxide synthase*, *NADPH oksidase*, dan *protein kinase C*. Skema

mekanisme kerja ebselen (SPI-1005) terlihat pada gambar 2.4 berikut :



Sumber : Lynch ED. (2007).

Gambar 2.4 Mekanisme kerja ebselen (SPI-1005)

Penelitian klinik fase-2 ebselen SPI-1005 (*approval World Medical Association Declaration of Helsinki*, 2004), menunjukkan ebselen SPI-1005 mampu menurunkan gangguan dengar (sesuai dengan 7 kriteria *current military standards for Significant Threshold Shift (STS)*) secara signifikan, lebih dari 10 dB pada frekuensi 2, 3 dan 4 KHz. Tidak dilaporkan efek samping maupun toksisitas obat.

Konservasi pendengaran adalah program yang bertujuan untuk mencegah atau mengurangi kerusakan atau kehilangan pendengaran tenaga kerja akibat kebisingan di tempat kerja. Peraturan Perundangan terkait Program Konservasi Pendengaran (PKP) terdiri atas beberapa Undang-Undang, Peraturan Pemerintah, Keppres dan peraturan tingkat menteri. Menurut PerMenakerTrans No. Per.13/Men/X/2011

Tahun 2011, tidak diperbolehkan seseorang terkena paparan bising di atas 140 dBA, walaupun sesaat.

Jajaran militer, merupakan suatu lingkup kerja yang sarat dengan kebisingan, Sebagai contoh bising maupun ledakan dari alat utama sistem persenjataan (alutsista), baik pada saat latihan maupun operasi militer. Di jajaran militer Amerika, sudah mempunyai suatu badan maupun standar prosedur operasional baku tentang program konservasi pendengaran bagi para tentaranya. Implementasi dari program tersebut yakni dukungan Angkatan Darat Amerika terhadap para prajuritnya di medan pertempuran, khususnya pada saat perang Afganistan dan Irak pada tahun 2007.

KERANGKA PEMIKIRAN

Dari uraian tinjauan pustaka, maka dibuat skema kerangka pemikiran :



Gambar 2.5 Kerangka Pemikiran

HIPOTESIS

Hipotesis-1

Pemberian glutathione peroksidase mimetik peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105, meningkatkan kadar GPx darah.

Hipotesis-2

Pemberian glutathione peroksidase mimetik peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105, menurunkan kadar MDA darah.

Hipotesis-3

Pemberian glutathione peroksidase mimetik peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105 menghasilkan nilai emisi otoakustik normal.

SUBJEK

Subjek penelitian ini adalah para prajurit siswa Tamtama baru yang sedang melaksanakan latihan rutin penembakan meriam Howitzer 105 di Pusat Pendidikan Artileri Medan (Pusdik Armed) Kodiklat

TNI-AD Jawa Barat, yang dibagi menjadi dua kelompok penelitian, yaitu kelompok I/perlakuan yang diberikan glutathione peroksidase mimetik peroral selama latihan menembak dan kelompok II/kontrol yang diberi plasebo. Prosedur baku di Pusdik Armed, selama menembak prajurit tidak diberikan obat apapun.

Kriteria Inklusi

Prajurit siswa Tamtama baru Pusdik Armed, dengan data awal kesehatan saat seleksi pendidikan menunjukkan status kesehatan telinga dalam batas normal.

Kriteria Eksklusi

1. Abnormalitas pada pemeriksaan otoskopi, audiometri dan DPOAEs awal
2. Pernah menderita otitis media kronik
3. Mempunyai riwayat operasi telinga
4. Mengonsumsi vitamin, obat antioksidan serta obat ototoksik lama
5. Mengalami gangguan dengar sejak usia muda
6. Mengalami perforasi membran timpani saat latihan menembak meriam.
7. Mempunyai riwayat trauma kepala
8. Mempunyai riwayat ketulian pada keluarga
9. Mempunyai riwayat menderita penyakit neurologis kronik
10. Menderita diabetes melitus
11. Mempunyai kebiasaan minum minuman beralkohol
12. Menderita penyakit keganasan/malignansi

METODE

Rancangan Penelitian

Metode penelitian ini kuantitatif dengan rancangan uji klinik samar acak ganda dengan kontrol plasebo (*double blind randomized clinical trial placebo controlled*), *pre* dan *post design*. Kelompok perlakuan dan kontrol diambil dari populasi terjangkau yang sama. Pemilihan subjek secara random blok permutasi. Pengamatan secara samar ganda/*double blind*.

Ukuran Sampel

Ukuran sampel ditentukan berdasarkan kurva Kastebaum, untuk rancangan acak lengkap (*completely randomized design*) untuk dua perlakuan, dengan memiliki taraf kepercayaan 95% dan *power tes* 80%, serta ditentukan besar *standardized range* = (max – min) = 1,0, Untuk 2 kelompok (perlakuan & kontrol) : $\alpha = 5\%$, $SD\ 1-\beta = 80\%$, $n = 16$ per kelompok.

Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah:

Variabel bebas: - pemberian glutathione peroksidase mimetik peroral
- pemberian plasebo peroral

Variabel terikat: - kadar GPx darah
- kadar MDA darah
- hasil DPOAEs

Variabel perancu: riwayat merokok

Metode pemeriksaan

Pemeriksaan Pendengaran

Pemeriksaan fungsi pendengaran dengan Diagnostic Audiometer AD 229e merk Interacoustics type AD 229e No.seri 004094 kalibrasi terakhir 24 Januari 2008. Pengukuran menurut standar internasional dilakukan dalam ruang tenang dengan bising lingkungan tidak melebihi 40 dB.

Pemeriksaan fungsi sel rambut koklea menggunakan alat DPOAE merk MADSEN Capella, buatan Denmark tahun 2013 yang telah terkalibrasi.

Pengukuran kadar GPx dan MDA darah.

Metoda pengukuran MDA

Pengukuran kadar MDA darah (plasma) menggunakan metoda TBARS (*thiobarbiturate acid reactive substance*).

Metoda pengukuran GPx

Pengukuran kadar GPx darah (eritrosit) menggunakan metoda *colorimetric assay* dari *Oxford Biomedical Research* FR 17. Prinsip kerjanya adalah pemeriksaan secara tidak langsung dari aktivitas c-GPx dan GSSG.

Cara Kerja dan Teknik Pengumpulan Data

- 1) Dilakukan penentuan subjek penelitian di Poliklinik kesehatan Pusdik Armed Kodiklat TNI-AD pada hari H-2.
- 2) Pada hari H-1 seluruh subjek diperiksa audiometri, DPOAEs, darah dan urin rutin, SGOT, SGPT, Ureum, Kreatinin, EKG, GPx serta MDA darah ke-1 (PRE).
- 3) Subjek penelitian dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok perlakuan dan kontrol. Alokasi subjek ke dalam perlakuan dilakukan secara random blok permutasi. Peneliti tidak mengetahui mana kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.
- 4) Pada hari H, pagi hari, kelompok perlakuan diberikan kapsul ebselen, SPI 1005 200 mg diminum peroral, kelompok kontrol diberikan kapsul sukrosa 200 mg (plasebo).
- 5) Pemberian kapsul kepada subjek dilakukan dokter Pusdik Armed secara acak tanpa tahu isi kapsul, mana subjek kelompok perlakuan atau kontrol.
- 6) Hari H dan H+1, dimulai pukul 09.00, seluruh kelompok melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105. Pada hari H subjek bertugas sebagai penembak di sisi meriam, dan hari H+1 subjek sebagai observer di lokasi sasaran tembak dengan jarak sekira 500 meter dari jatuhnya peluru.
- 7) Pada hari H+2, seluruh subjek diperiksa audiometri, DPOAEs, darah dan urin rutin, SGOT, SGPT, Ureum, Kreatinin, EKG, GPx dan MDA darah ke-2 (POST).
- 8) Hasil penelitian kemudian diserahkan kepada peneliti, kemudian dilakukan pengolahan data.

Analisis data

Perhitungan analitik (data numerik) menggunakan uji statistik yakni:

- 1) Untuk data yang berdistribusi tidak normal, memakai:
 - a. Uji Mann Whitney untuk membandingkan perbedaan kadar GPx dan MDA darah (eritrosit

dan plasma) antara *pre* dan *post treatment*

- b. Uji Wilcoxon, untuk membandingkan perbedaan dua mean jika data tidak berdistribusi normal.

- 2) Untuk data yang berdistribusi normal memakai:

- a. Uji T Dependent dan Independent untuk membandingkan dua perbedaan rata-rata kadar GPx dan MDA darah serta hasil DPOAEs.
- b. Pada data normal, dapat juga dilakukan uji katagorik dengan menggunakan uji Regresi logistik, chi square atau Fisher Exact.

Kemungkinan hasil uji ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$.

Alur Penelitian



Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 7 – 10 Juli 2014 di Lapangan penembakan meriam Batujajar, Dep. THT dan Lab. Patologi Klinik RS Dustira Cimahi, serta Unit Penelitian Kesehatan FK Unpad.

Implikasi Etik

Penelitian ini telah mendapat Persetujuan Etik (Ethical Approval) dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, nomor 41/UN6.C2.1.2/KEPK/PN/2014 tanggal 6 Februari 2014, serta Ijin Penelitian oleh Komandan Komando Pendidikan dan Latihan TNI-AD, nomor: B/553/III/2014, tanggal 13 Maret 2014.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik subjek dari segi umur pada kelompok perlakuan rata-ratanya 20,7 tahun ($SD = 0,90$) sedangkan pada kelompok kontrol rata-ratanya 20,8 tahun ($SD = 0,90$), rentang umur kedua kelompok penelitian 19 - 22 tahun.

Karakteristik kebiasaan merokok pada kedua subjek penelitian untuk menentukan bahwa variabel perancu bisa diabaikan, terlihat pada tabel 4.1

Variabel	Merokok (+)	Merokok (-)	p ^{*)}
Kelompok Perlakuan (n=17)	16	1	1,0
Kelompok Kontrol (n=17)	16	1	
Jumlah (n=34)	32	2	

*) : berdasarkan uji Exact Fisher

Perhitungan statistik pada tabel 4.1 menggunakan uji Exact Fisher, menunjukkan $p=1,0$ yang berarti terdapat homogenitas variabel kebiasaan merokok pada kedua kelompok penelitian, sehingga variabel perancu (riwayat merokok) dapat diabaikan.

Pengukuran Tingkat Tekanan Suara Meriam Dan Dosis Bising (%dose) Yang Diterima Prajurit Penembak

Data awal berdasarkan teori, tingkat tekanan suara meriam Howitzer 105 sebesar 183 dBA sedangkan pengukuran pada meriam yang sama di Pusdik Armed Kodiklat TNI-AD tahun 2002 sebesar 173,4 dBA dengan frekuensi 0,09 detik. Saat ini tingkat tekanan suara meriam Howitzer 105 sebesar 148,6 dBA dengan waktu meluruh sampai 60 dBA sekira 2 detik, serta dosis bising (%dose) yang diterima prajurit pada jarak 1 meter di samping meriam sebesar 481.43% - 2858.35% (aturan NIOSH).

Hasil Pemeriksaan Darah, Urin Rutin, Fungsi Hati Dan Ginjal Serta Elektrokardiografi

Pengambilan sampel darah dan pemeriksaan fungsi jantung pada kedua kelompok dilaksanakan sebelum dan setelah latihan menembak meriam. Pemeriksaan darah rutin, urin rutin, fungsi hati dan ginjal serta elektrokardiografi (EKG) untuk mengevaluasi efek samping pemberian Ebselen SPI 1005 maupun plasebo. Pada kedua kelompok tersebut menunjukkan hasil pemeriksaan secara keseluruhan dalam batas normal, baik sebelum maupun sesudah latihan menembak.

Hasil Pemeriksaan GPx Dan MDA darah

Hasil Pemeriksaan GPx Eritrosit Dan Plasma Kedua Kelompok

Setelah melaksanakan penembakan, maka kedua kelompok diambil darahnya untuk menilai kadar GPx eritrosit maupun plasma, dan hasilnya tampak seperti pada tabel 4.2 sampai 4.5

Tabel 4.2 Perbandingan Selisih Kadar GPx Eritrosit Sebelum dan Setelah Perlakuan Pada Kedua Kelompok

GPx Eritrosit (nmol/menit/ml)	Kelompok		Nilai p^1
	Kontrol (n=17)	Perlakuan (n=17)	
Mean ^{**}	41,5	58,8	0,049
Median	-3,82	16,55	
Standar Deviasi	215,67	246,08	

Keterangan : ^{*}) berdasarkan uji Mann-Whitney

^{**}) Selisih rata-rata (pre-post)

Tabel 4.2, menunjukkan rata-rata setelah perlakuan (pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral), nilai GPx eritrosit naik dibandingkan sebelum diberi obat, dan secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Tabel 4.3, menunjukkan perbandingan peningkatan dan penurunan kadar GPx eritrosit pada kedua kelompok setelah menembak meriam Howitzer 105.

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan, mempunyai NNT (95%CI) = 1,889 (1,159-3,016), dibandingkan dengan kelompok kontrol, yang

secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Artinya pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 2 orang prajurit akan menghindarkan 1 orang (50%) prajurit dari risiko penurunan kadar GPx eritrosit akibat ledakan meriam Howitzer 105. Tabel 4.4, menunjukkan perbandingan peningkatan dan penurunan kadar GPx plasma pada kedua kelompok setelah menembak meriam Howitzer 105.

Tabel 4.3 Perbandingan Peningkatan Dan Penurunan Kadar GPx Eritrosit Pada Kedua Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok	GPx Eritrosit (nmol/menit/ml)				p ^{*)}	NNT (95%CI) ^{**)}
	Naik		Turun			
	n	%	n	%		
Perlakuan (n=17)	14	82,4	3	17,6	0,004	1,889 (1,159-3,016)
Kontrol (n=17)	5	29,4	12	70,6		

Keterangan : ^{*}) berdasarkan uji Regresi Logistik

^{**}) Number Needed to Treat dengan 95% Confidential Interval

Tabel 4.4 Perbandingan Selisih Kadar GPx Plasma Sebelum dan Setelah Perlakuan Pada Kedua Kelompok

GPx Plasma (nmol/menit/ml)	Kelompok		Nilai p^1
	Kontrol (n=17)	Perlakuan (n=17)	
Mean	-4,05	1,05	0,006
Median	-5,09	7,64	
Standar Deviasi	7,37	15,07	

Keterangan : ^{*}) berdasarkan uji T – Independent

Tabel 4.4, bila dilihat dari *mean* yang diperoleh di dapatkan pada kelompok perlakuan hasil GPx plasma setelah diberikan Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral meningkat dibandingkan sebelumnya, sedangkan pada kelompok kontrol rata-rata GPx plasma setelah diberi plasebo menurun, secara statistik bermakna ($p < 0,05$).

Tabel 4.5, menunjukkan perbandingan peningkatan dan penurunan kadar GPx plasma pada kedua kelompok prajurit setelah diberi SPI 1005 1x200 mg peroral pada kelompok perlakuan dan plasebo pada kelompok kontrol, serta setelah latihan menembak meriam Howitzer 105, sebagai berikut :

Tabel 4.5 Perbandingan Peningkatan Dan Penurunan Kadar GPx Plasma Pada Kedua Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok	GPx Plasma (nmol/menit/ml)				p ⁽¹⁾	NNT (95%CI)
	Naik		Turun			
	n	%	n	%		
Perlakuan (n=17)	15	88,2	2	11,8	< 0,001	1,417 (0,970-1,775)
Kontrol (n=17)	3	17,6	14	82,4		
Jumlah (n=34)	18	52,9	16	47,1		

Keterangan : ^{*}) berdasarkan uji Regresi Logistik

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan mempunyai NNT (95%CI) = 35 (95%CI = 1,417 (0,970-1,775), dibandingkan dengan kelompok kontrol yang secara statistik sangat bermakna ($p < 0,001$). Artinya pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 3 orang prajurit akan menghindarkan 2 orang (70%) prajurit dari risiko penurunan kadar GPx plasma akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Hasil Pemeriksaan Kadar MDA Eritrosit Dan Plasma Dari Kedua Kelompok

Hasil pengukuran kadar MDA eritrosit dan plasma pada kedua kelompok perlakuan disajikan pada tabel 4.6 sampai tabel 4.9 berikut.

Tabel 4.6 Perbandingan Selisih Kadar MDA Eritrosit Sebelum dan Setelah Perlakuan Pada Kedua Kelompok

MDA Eritrosit (mmol/L)	Kelompok		Nilai p ^{*)}
	Kontrol (n=17)	Perlakuan (n=17)	
Mean	-0,48	-10,79	0,002
Median	-5,46	3,36	
Standar Deviasi	11,97	14,83	

Keterangan : *) berdasarkan uji T – Independent

Dari tabel 4.6, bila dilihat dari *mean* yang diperoleh, didapatkan bahwa rata-rata nilai MDA eritrosit pada kelompok perlakuan setelah diberikan Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral turun dibandingkan dengan sebelum diberi obat, dan ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$).

Tabel 4.7 menunjukkan perbandingan kadar MDA eritrosit pada kedua kelompok setelah diberi Ebselen SPI 1005 1x200 mg peroral (kelompok perlakuan) dan plasebo (kelompok kontrol), dan setelah melaksanakan latihan penembakan meriam Howitzer 105.

Tabel 4.7 Perbandingan Penurunan Dan Peningkatan Kadar MDA Eritrosit Pada Kedua Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok	MDA Eritrosit (mmol/L)				p ^{*)}	NNT (95%CI)
	Turun		Naik			
	n	%	n	%		
Perlakuan (n=17)	17	100	0	0	< 0,001	1,417 (0,994-1,836)
Kontrol (n=17)	5	29	12	470,6		
Jumlah (n=34)	22	64	12	735,3		

Keterangan :*) berdasarkan uji Exact Fisher

Tabel 4.7 menunjukkan bahwa kelompok perlakuan mempunyai NNT (95%CI) = 35 (95%CI = 1,417 (0,994-1,836), dibandingkan dengan kelompok kontrol yang secara statistik sangat bermakna ($p < 0,001$). Artinya pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 3 orang prajurit akan menghindarkan 2 orang (70%) prajurit dari risiko peningkatan kadar MDA eritrosit akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Tabel 4.8 Perbandingan Selisih Kadar MDA Plasma Sebelum dan Setelah Perlakuan Pada Kedua Kelompok

MDA Plasma (mmol/L)	Kelompok		Nilai p ^{*)}
	Kontrol (n=17)	Perlakuan (n=17)	
Mean	-3,35	-22,52	0,02
Median	3,36	-10,07	
Standar Deviasi	14,83	37,58	

Keterangan : *) berdasarkan uji Mann-Whitney

Dari tabel 4.8, bila dilihat dari *mean* yang diperoleh didapatkan bahwa rata-rata nilai MDA plasma kelompok perlakuan setelah diberi Ebselen SPI 1005 1x200 mg peroral turun dibandingkan dengan sebelum diberi obat.

Tabel 4.9 menunjukkan tentang perbandingan kadar MDA plasma pada kedua kelompok prajurit setelah diberi SPI 1005 1x200 mg peroral pada kelompok perlakuan dan plasebo pada kelompok kontrol, serta setelah latihan penembakan meriam Howitzer 105, tersaji sebagai berikut :

Tabel 4.9 Perbandingan Penurunan Dan Peningkatan Kadar MDA Plasma Pada Kedua Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok	MDA Plasma (mmol/L)				p ¹⁾	NNT (95%CI)
	Turun		Naik			
	n	%	n	%		
Perlakuan (n=17)	16	94,	1	15,9	0,01	2,125 (1,29-3,904)
Kontrol (n=17)	8	47,1	9	52,9		
Jumlah (n=34)	24	70,6	10	29,4		

Keterangan :*) berdasarkan uji Regresi Logistik

Dari tabel 4.9 terlihat bahwa kelompok perlakuan mempunyai NNT (95%CI) = 2,125 (1,29-3,904), dibandingkan kelompok kontrol, yang secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Artinya pemberian SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 2 orang prajurit akan menghindarkan 1 orang (50%) prajurit dari risiko peningkatan kadar MDA plasma akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Untuk melihat kekuatan korelasi antara kadar GPx dan kadar MDA darah pada kedua kelompok setelah diberikan Ebselen/SPI 1005 1x200 mg peroral dan melaksanakan latihan penembakan meriam, dilakukan uji korelasi *Pearson*. Hasilnya menunjukkan, bahwa antara kadar GPx eritrosit dengan kadar MDA plasma mempunyai korelasi yang sangat kuat, dan secara statistik sangat bermakna ($p < 0,001$). Akan tetapi arah korelasi bersifat negatip, maksudnya semakin tinggi kadar GPx eritrosit, maka semakin rendah kadar MDA plasma, dan ini bukan suatu kebetulan semata.

Hasil Pemeriksaan Fungsi Pendengaran

Fungsi pendengaran subjek penelitian diukur selain dengan audiometri nada murni, juga menggunakan emisi otoakustik (DPOAEs).

Hasil Pemeriksaan Audiometri Nada Murni

Hasil pemeriksaan audiometri nada murni menunjukkan bahwa jumlah prajurit yang mengalami Trauma Akustik (TA) sebanyak 4 orang dari 17 orang pada kelompok kontrol yang diberi plasebo (sesuai prosedur baku latihan menembak meriam), sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi Ebselen/SPI 1005 seluruhnya tidak terjadi TA, sehingga apabila latihan menembak meriam dilaksanakan dengan prosedur yang lama (tanpa pelindung telinga dan tanpa meminimum obat apapun), maka risiko terjadinya TA pada prajurit sebesar 23,5%, seperti pada tabel 4.10.

Tabel 4.10 Perbandingan TA, Keluhan Gangguan Dengar (KGD) dan Tinnitus Kedua Kelompok Setelah Menembak

Kelompok Penelitian	TA (+)	TA (-)	Tinnitus(+)	Tinnitus (-)	KGD (+)	KGD (-)
Kelompok kontrol (P)	4 (23,5%)	13 (76,5%)	1 (5,9%)	16 (94,1%)	1 (5,9%)	16 (94,1%)
Kelompok perlakuan (G)	0 (0%)	17 (100%)	0 (0%)	17 (100%)	0 (0%)	17 (100%)
Nilai p ^{*)}	0,049		0,5		0,5	

Keterangan :*) berdasarkan uji Exact Fisher

Perhitungan statistik pada tabel 4.10, melihat perbandingan TA, keluhan gangguan dengar (KGD) dan Tinnitus pada kedua kelompok menggunakan uji Exact Fisher. Hasilnya, jumlah kejadian TA sebesar 23,5% pada kelompok kontrol, secara statistik bermakna ($p < 0,05$), sedangkan keluhan gangguan dengar dan tinnitus secara statistik tidak bermakna ($p > 0,05$).

Hasil Pemeriksaan Emisi Otoakustik (DPOAEs)

Dari tabel 4.11 dapat dilihat bahwa pada kelompok yang diberikan perlakuan (diberi Ebselen/SPI 1005 1x200 mg peroral), seluruhnya (100%) mempunyai nilai emisi otoakustik normal (*pass*) dan pada kelompok kontrol (diberi plasebo) yang mempunyai nilai emisi normal (*pass*) sebanyak 52,9%, artinya proporsi nilai emisi akustik (DPOAEs) normal (*pass*) pada kelompok perlakuan lebih besar daripada kelompok kontrol.

Secara proporsional terlihat hubungan antara pemberian Ebselen/SPI 1005 1x200 mg peroral dengan nilai emisi akustik normal (*pass*), namun hubungan ini harus diuji secara statistik, dan ternyata hasilnya sangat bermakna ($p=0,01$), sehingga hubungan antara pemberian Ebselen/SPI 1005 1x200 mg peroral dengan nilai emisi akustik (DPOAEs) normal (*pass*) sangat signifikan.

Tabel 4.11 Hasil Pemeriksaan DPOAEs Pada Kedua Kelompok Setelah Melaksanakan Penembakan Meriam Howitzer 105

Kelompok Penelitian	Hasil emisi otoakustik (DPOAEs)				Risiko abnormalitas DPOAEs (<i>Refer</i>)	p ¹
	<i>Pass</i>		<i>Refer</i>			
	n	%	n	%		
Kelompok perlakuan/G (n=17)	17	100	0	0	0/17	0,01
Kelompok kontrol/P (n=17)	9	52,9	8	47,1	8/17	
Jumlah/P+G (n=34)	26	76,5	8	23,5		

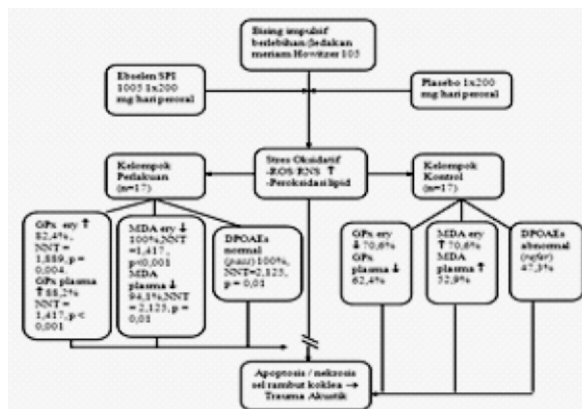
Keterangan :*) berdasarkan uji Exact Fisher

Dari data risiko abnormalitas hasil DPOAEs pada kedua kelompok penelitian, dapat dihitung *Absolute Risk Reduction* (ARR) nya, yakni :

- » $ARR = 8/17 - 0/17 = 8/17$. Dari ARR dapat dihitung NNT nya, yakni
- » NNT (*Number Needed to Treat*) = $1/ARR = 17/8 = 2,125$. Dengan *Confidential Interval* (CI) 95% = 1.335 – 3,987

Hasil NNT = 2,125, berarti dari 2 orang prajurit penembak meriam yang diberi perlakuan (*treatment*), yakni pemberian SPI 1005 1x200 mg/hari peroral, terdapat 1 orang prajurit (50%) yang terhindar dari risiko terjadi TA (hasil DPOAEs menjadi *refer*), akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Hasil penelitian dapat dirangkum dalam bentuk skema, sebagai berikut :



Pengujian Hipotesis

Hipotesis-1 :

Pemberian glutathione peroxidase mimetik peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer

105, meningkatkan kadar GPx darah

Pengujian :

Hasil penelitian pada tabel 4.2 dan 4.4, bila dilihat dari *mean* yang diperoleh, menunjukkan rata-rata setelah pemberian SPI 1005 1x200 mg/hari peroral, nilai GPx eritrosit maupun plasma pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan sebelum pemberian obat, dan secara statistik bermakna ($p<0,05$). Pada kelompok kontrol yang terjadi sebaliknya.

Pada tabel 4.3 dan 4.5, jumlah subjek yang mengalami peningkatan kadar GPx eritrosit pada kelompok perlakuan sebesar 82,4% dan pada kelompok kontrol turun 70,6%, secara statistik bermakna ($p=0,004$), dengan *Number Needed to Treat* (NNT, 95%CI) = 1,889 (1,159-3,016), dibandingkan dengan kelompok kontrol, secara statistik bermakna ($p<0,05$). Artinya pemberian SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 2 orang prajurit akan menghindarkan 1 orang (50%) prajurit dari risiko penurunan kadar GPx eritrosit akibat ledakan meriam Howitzer 105. Untuk kadar GPx plasma, jumlah subjek pada kelompok perlakuan naik sebesar 88,2% dan pada kelompok kontrol turun sebesar 82,4%, secara statistik bermakna ($p<0,001$), dan NNT (95%CI) = 1,417 (0,970-1,775), dibandingkan kelompok kontrol secara statistik bermakna ($p<0,001$). Artinya pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 3 orang prajurit akan menghindarkan 2 orang (70%) prajurit dari risiko penurunan kadar GPx plasma akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Simpulan : Berdasarkan pengujian di atas, **Hipotesis-1 diterima (teruji).**

Hipotesis-2 :

Pemberian glutathione peroxidase mimetik peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105, menurunkan kadar MDA darah.

Pengujian :

Hasil tabel 4.6 dan 4.8, bila dilihat dari *mean*, menunjukkan rata-rata setelah pemberian perlakuan/obat (Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral), nilai MDA eritrosit maupun plasma pada kelompok perlakuan mengalami penurunan dibandingkan sebelum pemberian obat, dan secara statistik bermakna ($p<0,05$). Pada kelompok kontrol yang terjadi adalah sebaliknya.

Pada tabel 4.7 dan 4.9, seluruh kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar MDA eritrosit (100%), dan pada kelompok kontrol naik sebesar 70,6%, secara statistik menggunakan uji Exact Fisher sangat bermakna ($p<0,001$), dengan NNT (95%CI) = 35 (95%CI = 1,417 (0,994-1,836), dibandingkan dengan kelompok kontrol yang secara statistik juga sangat bermakna ($p<0,001$). Artinya pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 3 orang prajurit akan menghindarkan 2 orang (70%) prajurit dari risiko peningkatan kadar MDA eritrosit akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Untuk MDA plasma, jumlah subjek yang mengalami penurunan pada kelompok perlakuan sebesar 94,1%, dan pada kelompok kontrol naik sebesar 52,9% dengan NNT (95%CI) = 2,125 (1,29-3,904), dibandingkan

dengan kelompok kontrol, yang secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Artinya pemberian Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada 2 orang prajurit akan menghindarkan 1 orang (50%) prajurit dari risiko peningkatan kadar MDA plasma akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Simpulan : Berdasarkan pengujian di atas, **Hipotesis-2 diterima (teruji).**

Hipotesis-3:

Pemberian glutathione peroxidase mimetik peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama melaksanakan latihan menembak meriam Howitzer 105 menghasilkan nilai emisi otoakustik normal.

Pengujian :

Berdasarkan tabel 4.10 diperoleh hasil bahwa terjadinya risiko TA pada kelompok kontrol (plasebo), setelah menembak dan diukur fungsi dengarnya menggunakan audiometri nada murni, sebesar 23,5% yang secara statistik menggunakan uji Exact Fisher bermakna ($p < 0,05$), serta didukung pula oleh data dari tabel 4.11 yang hasilnya pada kelompok perlakuan seluruh hasil DPOAEs setelah latihan penembakan adalah normal (*pass*), sedangkan pada kelompok kontrol, 8 orang subjek (47,1%) mengalami abnormalitas hasil DPOAEs (*refer*). Perbedaan ini menggunakan uji Exact Fisher secara statistik bermakna ($p = 0,01$).

Apabila dihitung NNT diperoleh hasil 2,125 (95%CI=1,335-3,987), artinya pemberian perlakuan (Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral) pada 2 orang prajurit penembak akan menghindarkan 1 orang prajurit (50%) dari risiko TA (hasil DPOAEs menjadi *refer*). akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Simpulan : Berdasarkan pengujian di atas, **Hipotesis-3 diterima (teruji).**

Penelitian tentang risiko trauma akustik pada personil di jajaran militer, menggunakan sumber pajanan bising meriam Howitzer 105, hampir tidak pernah dipublikasikan baik di Indonesia maupun internasional.

Pemilihan subjek penelitian adalah prajurit siswa Tamtama baru, disebabkan pada struktur organisasi penembak meriam artileri medan, yang bertugas sebagai penarik tali picu adalah prajurit dengan pangkat tamtama. Sedangkan komandan pucuk adalah seorang bintang, dan seorang perwira merupakan pimpinan dari beberapa pucuk meriam. Jadi dalam suatu pertempuran artileri, memang prajurit dengan pangkat tamtama yang paling sering terpajan bising impulsif dari ledakan meriam.

Merujuk data awal bahwa tingkat tekanan suara pada jarak 1 meter di samping meriam sebesar 148,6 dBA, dengan waktu yang diperlukan setelah letusan untuk meluruh sampai 60 dBA berkisar 2 detik, ini berbeda dengan teori bahwa tekanan suara meriam Howitzer 105 sebesar 183 dBA. Pada penelitian dengan tipe meriam serupa (2002) sebesar 173,4 dBA. Perbedaan ini disebabkan karena isian mesiu yang dipakai latihan penembakan saat ini (tahun 2014) sebanyak isian 6 dari maksimal isian 10, sedangkan

pada penelitian tahun 2002 menggunakan isian 7 dari 10, serta kemungkinan besar yang didapat dari teori (183 dBA) memakai isian maksimal.

Menurut aturan NIOSH (2002), *impuls noise* dari letusan senjata, perhitungan jumlah letusan yang diperbolehkan/hari menggunakan rumus :

$N = 10^{((140-PI)/10)}$; dimana $PI = L_{peak} - \text{atenuasi alat pelindung telinga}$.

Sehingga menurut aturan NIOSH, maka tidak satu kalipun seorang penembak dapat menembakkan meriam dengan aman tanpa alat pelindung telinga.

Menurut Peraturan Menteri Tenaga Kerja Dan Transmigrasi Nomor Per.13/Men/X/2011 Tahun 2011 Tentang Nilai Ambang Batas Faktor Fisika Dan Faktor Kimia Di Tempat Kerja, maka tidak diperbolehkan seseorang terkena pajanan bising di atas 140 dBA, walaupun hanya sesaat.

Kebijakan Pemerintah untuk melaksanakan program konservasi pendengaran pada sektor industri sudah jelas dengan adanya lembaga kesehatan kerja maupun berbagai aturan perundangan dan kebijakan, akan tetapi di jajaran TNI yang sebenarnya juga merupakan lingkungan kerja dengan risiko terjadinya ketulian okupasi masih belum ada. Padahal di jajaran militer maupun di Departemen Pertahanan Amerika sudah mempunyai organisasi serta program konservasi pendengaran yang jelas.

Di jajaran Angkatan Darat Amerika, implementasi dari program konservasi pendengaran sudah berjalan dengan baik. Mereka telah menjalankan program tersebut secara menyeluruh yakni *noise hazard identification, engineering controle, hearing protection, monitoring audiometry, health administration, inforcement dan programme evaluation*.

Sedangkan di jajaran Angkatan Darat Indonesia untuk penerimaan calon prajurit maupun pemeriksaan kesehatan berkala pada prajurit menggunakan pemeriksaan audiometri masih belum merata, sedangkan penggunaan alat diagnostik emisi otoakustik belum dipergunakan sama sekali, begitu pula untuk pemasangan alat bantu dengar pada prajurit cacat fungsi dengar masih belum jelas prosedur bakunya, sehingga belum terdukung seluruhnya.

Penelitian ilmiah tentang pengaruh pemberian Ebselen SPI 1005 peroral dihubungkan dengan kadar GPx dan MDA darah, serta hasil pemeriksaan DPOAEs pada manusia, menurut penelusuran yang dilakukan peneliti belum ada yang mempublikasikan dalam literatur nasional bahkan internasional, dan ini merupakan penelitian yang baru dilaksanakan di Indonesia.

Glutathione peroxidase (GPx), merupakan keluarga enzim yang terdapat intra dan ekstraselular. Pada mamalia, konsentrasi glutathione peroxidase, kadarnya sama antara di telinga dalam maupun di jaringan/organ lain.

Terjadinya peningkatan yang signifikan kadar GPx darah, baik eritrosit maupun plasma pada kelompok

perlakuan, maupun peningkatan jumlah subjek kelompok perlakuan setelah diberi Ebselen/SPI 1005 1x200 mg/hari peroral, dibanding kelompok kontrol, sesuai dengan teori bahwa pemberian enzim antioksidan eksogen meningkatkan kadar enzim yang sesuai di dalam darah. Dari 6 (enam) jenis GPx di dalam darah yang dapat diidentifikasi adalah GPx1/e-Gpx (GPx eritrosit) sebagai gambaran GPx intraseluler dan GPx3/p-GPx (GPx plasma) sebagai gambaran GPx ekstraseluler

Ebselen/SPI 1005 juga merupakan senyawa seleno-organik dengan aktivitas sama dengan enzim GPx, sehingga pada kelompok perlakuan walaupun terjadi stres oksidatif akibat bising letusan meriam Howitzer 105, persentase kadar GPx darah (baik eritrosit maupun plasma) dan jumlah subjeknya tetap lebih tinggi secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol.

Pemberian pajanan bising letusan (*explosion noise*) dari meriam Howitzer 105 kepada kedua kelompok penelitian, juga memperlihatkan bahwa pada kelompok kontrol yang hanya diberikan plasebo terjadi penurunan persentase kadar GPx darah (baik eritrosit maupun plasma), maupun jumlah subjeknya secara signifikan, dan ini sesuai teori bahwa terjadinya stres oksidatif di dalam koklea akan mengakibatkan penurunan kadar enzim antioksidan intraseluler, yang akhirnya mengakibatkan apoptosis sel-sel rambut koklea

Sebagai pembanding, suatu penelitian di Turki terjadi penurunan kadar *glutation peroksidase* (GPx) dan *superoksid dismutase* (SOD) eritrosit serta peningkatan kadar malondialdehid (MDA) plasma, akibat bising dengan intensitas 104 dB pada karyawan yang bekerja 1–7 tahun.

Penelitian lain di Amerika pada hewan coba tikus F-344 yang diberikan pajanan bising 113 dan 115 dB selama 4 jam dan diberikan ebselen 4 mg/kgBB peroral sebelum dan segera setelah pajanan bising, kemudian diukur kadar GPx nya (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4), hasilnya menunjukkan peningkatan GPx1 pada stria vaskularis, penurunan udem stria vaskularis dan pengurangan kerusakan sel rambut luar pada 5 jam setelah pajanan bising.

Apabila dibandingkan antara hasil penelitian dengan penelitian lain di luar negeri, maka secara teori terdapat kesesuaian, bahwa bising akan menurunkan kadar enzim antioksidan endogen, dan pemberian antioksidan eksogen akan meningkatkan kembali kadar enzim antioksidan endogen tersebut, dan mengurangi kerusakan sel-sel rambut koklea akibat stres oksidatif.

Malondialdehid (MDA) merupakan produk peroksidasi lipid akibat radikal bebas, dan dipakai sebagai indikator kerusakan sel akibat stres oksidatif, sehingga pengukuran kadar MDA darah mencerminkan stres oksidatif seluruh tubuh. Terjadinya penurunan yang signifikan kadar MDA darah, baik eritrosit maupun plasma pada kelompok perlakuan, maupun penurunan subjek kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol, sesuai dengan teori.

Ebselen/SPI 1005 merupakan antioksidan, dengan efek anti-inflamasi dan sitoprotektif yang efektif mereduksi hidropersida (H_2O_2) pada biomembran

dan lipoprotein, sehingga menghambat stres oksidatif di dalam koklea akibat bising letusan meriam Howitzer 105.

Penurunan stress oksidatif dicerminkan dengan penurunan kadar MDA darah (baik eritrosit maupun plasma). Makin rendah kadar MDA menunjukkan penekanan radikal bebas, karena antioksidan yang makin tinggi. Peningkatan persentase kadar MDA (eritrosit dan plasma), maupun jumlah subjek penelitian secara signifikan pada kelompok kontrol (plasebo) setelah latihan penembakan meriam juga sesuai teori.

Pajanan bising letusan meriam mengakibatkan peningkatan radikal bebas (stres oksidatif) sehingga terjadi kerusakan sistem enzim, protein, lipid, dan struktur DNA berupa peroksidasi lipid serta aktivasi jalur c-JNK dan p38MAPK, pelepasan sitokrom-c yang akan memicu kaspase 2,3,8 dan 9 dengan akibat apoptosis sel-sel rambut koklea..

Peningkatan radikal bebas di koklea dicerminkan dengan peningkatan kadar MDA darah. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan kadar MDA darah akibat pajanan bising impulsif maupun kontinyu.

Penelitian terhadap tentara di Turki menyatakan terdapat perbedaan (peningkatan) signifikan kadar malondialdehid (MDA) darah sebelum dan setelah ledakan senjata sebesar 138 dB. Penelitian lain di Turki menunjukkan pada 127 pekerja pabrik yang terpajan bising, dengan menggunakan metode spektrofotometri menunjukkan peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD serta CAT darah secara signifikan, dibandingkan kelompok kontrol.

Berdasarkan teori, makin tinggi kadar MDA menunjukkan makin besarnya aktivitas radikal bebas, sebaliknya kadar MDA yang rendah menunjukkan penekanan radikal bebas, di antaranya dengan adanya antioksidan yang makin tinggi. Pengambilan sampel darah dari vena perifer untuk mengukur kadar MDA plasma mencerminkan stres oksidatif seluruh tubuh.

Pada dinding lateral koklea, stria vaskularis dan sel-sel endotel ligamentum spirale, banyak mengandung mitokondria dengan metabolisme aktif. Pada area ini GPx merupakan antioksidan intraseluler yang utama. Di darah manusia, aktivitas GPx dapat diukur dari GPx1/cGPx/eGPx sebagai gambaran GPx intraseluler dan mitokondria.

Glutation peroksidase mimetik (ebselen) merupakan penekan/pengumpul radikal (ROS scavenger) yang ampuh terhadap asam lemak tak jenuh ganda atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA), yang juga merupakan radikal berbahaya dalam sistem biologi. Hasil peroksida ini akan berefek langsung pada kerusakan membran sel, antara lain mengubah fluiditas, *crosslinking*, struktur, serta fungsi membran, dan terjadi nekrosis sel.

Dari kedua argumen tersebut, maka rasional apabila terdapat korelasi yang kuat dan bermakna antara peningkatan kadar GPx eritrosit dan penurunan kadar MDA plasma setelah diberikan Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral.

Hasil pemeriksaan audiometri nada murni subjek kelompok kontrol setelah latihan menembak terdapat 23,5% prajurit secara signifikan mengalami Trauma Akustik (TA). Hasil pemeriksaan emisi otoakustik

(DPOAEs) bahkan secara signifikan memperlihatkan 47,1% prajurit kelompok kontrol hasilnya abnormal (*refer*) atau terjadi kerusakan awal sel-sel rambut koklea.

Penelitian terhadap tentara usia muda di Perancis yang diobservasi 15 hari dengan *Distorsion Product Otoacoustic Emissions* (DPOAEs), menunjukkan terjadi gangguan fungsi dengar frekuensi tinggi disertai tinnitus persisten, yang terjadi 24 jam setelah terpajan ledakan senapan mesin otomatis.

Hasil penelitian ini bila dihubungkan dengan penelitian lain di luar negeri, juga terdapat kesesuaian dan cocok dengan teori, bahwa TA yang tergolong dalam kelompok tuli okupasi mempunyai gambaran khas pada audiogram, yakni gambaran tuli sensorineural dengan takik pada frekuensi 4000 Hz, dan ini sesuai pula dengan grafik persamaan tingkat kekerasan (*Equal Loudness Contour*) suara tiap frekuensi, dan hasil pemeriksaan memakai DPOAEs umumnya memberikan hasil abnormal (*refer*), yang disertai keluhan tinnitus.

Titik terlemah pada telinga manusia, dari seluruh frekuensi, memang terdapat pada frekuensi 4000 Hertz, karena respon telinga manusia terhadap bising tidak sama pada semua frekuensi, yakni pada frekuensi tinggi dan menengah lebih sensitif dibandingkan pada frekuensi rendah.

Bagian basal koklea (terdekat dengan *foramen ovale*) menerima bunyi dengan frekuensi tinggi. Kerusakan koklea akibat frekuensi dan intensitas tinggi terpusat pada frekuensi 4000 Hz dimana keadaan ini sesuai dengan getaran terbesar pada membran basilaris dan organ Corti. Sel rambut yang mempunyai amplitudo paling besar terdapat di sekitar 10 mm dari foramen ovale terdapat dan menerima energi terbesar pada pajanan bising, sehingga bagian tersebut akan mudah cedera pada pajanan bising. Hal ini yang disebut sebagai '4000 Hz *receptors*' dan karena hubungannya dengan serabut saraf sering disebut '4000 Hz *nerve fiber*' dan merupakan lokus minoris organ Corti.

Pada kelompok perlakuan yang diberi Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral, seluruh (100%) subjek penelitian, hasil DPOAEsnya normal (*pass*) setelah menembak meriam Howitzer 105, karena Ebselen memiliki aktivitas yang sama dengan GPx. Pada penelitian ini, pemberian dosis Ebselen SPI 1005, 1x 200 mg/hari peroral. Walaupun dosis rendah, tetapi efektif sebagai otoprotektor akibat pajanan bising impulsif tinggi.

Enzim GPx1 merupakan salah satu dari famili enzim glutation peroksidase yang berfungsi untuk mendetoksifikasi peroksidase dalam sel Ebselen pada konsentrasi rendah menghambat beberapa enzim inflamasi seperti lipoksigenase, NO sintase, NADPH, oksidase, protein kinase-C dan H⁺/K⁺-ATPase. Proses penghambatan tersebut terjadi pada tingkat seluler dan ini adalah efek antiinflamasi ebselen.

Suatu penelitian di Amerika menunjukkan bahwa ebselen (SPI-1005) efektif pada dosis rendah (8-10 mg/kgBB/hari), dapat menurunkan *temporary threshold shift* (TTS), *permanent threshold shift* (PTS) dan kehilangan sel-sel rambut luar pada hewan coba (tikus dan marmut).

Penelitian klinik fase-2, ebselen (SPI-1005) di Amerika juga telah dilakukan pada 80 marinir yang dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing mendapat dosis peroral sebesar 200 mg, 400 mg, 600 mg dalam 2

kali pemberian, dan kelompok terakhir mendapatkan plasebo selama 3-5 hari selama latihan menembak. menunjukkan bahwa ebselen (SPI-1005) mampu menurunkan gangguan dengar.

Hasil penelitian ini bila dibandingkan penelitian di Amerika, terdapat kesesuaian dan membuktikan bahwa SPI 1005 adalah antioksidan eksogen yang poten untuk menetralkan radikal bebas akibat pajanan bising dan mampu mencegah kerusakan sel-sel rambut koklea, sehingga tidak terjadi TA.

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini mempunyai beberapa keterbatasan, yang diharapkan akan disempurnakan oleh penelitian-penelitian selanjutnya. Pada penelitian ini, fungsi pendengaran subjek penelitian tidak dilakukan monitoring ulang sekira satu bulan kemudian, untuk melihat apakah TA yang terjadi untuk pertama kalinya bersifat menetap atau temporer, karena 5 hari setelah latihan penembakan dilaksanakan penutupan pendidikan yang dilanjutkan dengan penempatan prajurit ke seluruh wilayah Indonesia.

Pada penelitian ini juga tidak dilakukan pemberian Ebselen SPI 1005 dalam berbagai dosis. seperti pada penelitian *Sound Pharmaceutical USA*. Mereka memakai dosis 200, 400, 600 dan 1600 mg, dengan hasil dosis optimal dan aman adalah 1x400 mg/hari peroral. Serbuk Ebselen SPI 1005 impor (diimpor oleh UPK FK Unpad via Singapura), harganya masih sangat mahal yakni berkisar Rp. 87.000.000,- per gram.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Simpulan Umum

1. Pemberian glutation peroksidase mimetik, Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama latihan menembak meriam Howitzer 105, meningkatkan kadar GPx darah.
2. Pemberian glutation peroksidase mimetik, Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama latihan menembak meriam Howitzer 105, menurunkan kadar MDA darah.
3. Pemberian glutation peroksidase mimetik, Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral pada prajurit dengan risiko trauma akustik selama latihan menembak meriam Howitzer 105 menghasilkan nilai emisi otoakustik normal.

Simpulan Khusus

1. Tingkat tekanan suara meriam Howitzer 105 dengan isian 6 dari 10 sebesar 148,6 dBA, dengan waktu meluruh sampai 60 dBA sekira 2 detik, serta dosis bising (%dose) pada jarak 1 meter di samping meriam sebesar 481.43%-2858.35% (aturan NIOSH).
2. Hasil pemeriksaan audiometri nada murni menunjukkan jumlah kejadian Trauma Akustik pada prajurit penembak meriam Howitzer 105 sebesar 23,5%, yang berarti telah terjadi gangguan dengar, sedangkan hasil DPOAEs menunjukkan hasil abnormal (*Refer*) sebesar 47,1%, berarti terjadi kerusakan awal sel-sel rambut koklea, walaupun belum terjadi TA.

- Hasil perhitungan Number Needed to Treat (NNT) pada prajurit yang diberi Ebselen SPI 1005 1x200 mg/hari peroral, dikaitkan dengan kadar GPx dan MDA darah serta nilai DPOAEs berkisar 1,4 – 2,1, berarti pemberian Ebselen SPI 1005 bermanfaat untuk menghindarkan 50% - 70% prajurit lainnya yang berisiko TA, akibat ledakan meriam Howitzer 105.

Saran

- Perlu variasi subjek penelitian, dosis, dan lama pemberian antioksidan (Ebselen SPI 1005), agar manfaat yang diperoleh lebih maksimal.
- Untuk monitoring dan evaluasi fungsi dengar, tidak hanya menggunakan audiometri nada murni, tetapi juga memakai alat emisi otoakustik (DPOAEs) yang lebih sensitif sebagai sarana deteksi dini kerusakan sel-sel rambut koklea, tidak hanya sebelum dan setelah perlakuan saja, tetapi juga interval evaluasi setelah latihan penembakan yang lebih lama untuk melihat apakah gangguan dengar menetap atau temporer.
- Perlu penelitian lanjutan untuk modifikasi farmakologi/kimiawi dari bentuk sediaan Ebselen SPI 1005 ke bentuk sediaan lain yang murah, agar bisa diproduksi massal dan dapat dijadikan obat standar preventif TA.
- Sudah saatnya jajaran TNI membentuk Program Konservasi Pendengaran (PKP) dengan implementasi nyata dan berkesinambungan bagi para personilnya yang berisiko terjadi tuli okupasi.

DAFTAR PUSTAKA

- WHO Regional Office SEARO. *State of hearing and ear care in South East Asia Region*. 2004.
- Brian K, *Drug may help troops battle combat – related hearing loss*, <http://newsok.com/drug-may-help-troops-battle-combat-related-hearing-lossbr>. Published : July 6, 2008.
- Lynch ED and Kill J. *Compounds for the prevention and treatment of noise induce hearing loss*. Drug Discovery Today (DDT).www.drugdiscoverytoday.com. 2005;10;19.(12911298).
- Sasongko S, *Trauma akustik yang disebabkan ledakan meriam pada prajurit di Pusat Pendidikan Artileri Medan Kodiklat TNI-AD Cimahi Jawa-Barat*, Tesis PPCD FK Unpad, Bandung, 2003.
- Budiyanto A. *Trauma akustik akibat latihan menembak pada Taruna Akpol Semarang*. Tesis PPDS IFK Undip. Semarang. 2003.
- Cetin B, Cekin E, Cincik H, Gungor A.. *Relationship between acoustic trauma and serum level of vitamin B12, Folic acid, Zinc, Magnesium and MDA*. *Mediterr. J. Otol.* 2008, 4.(3).
- SPC.OPAL HOOD, *5th Mobile Public Affairs Detachment. Hearing loss No. 1 Diagnosis for US soldiers in Afghanistan*. *Hearing Health Magazine*, <http://www.drif.org/magazine/38/winter+2010+issue/article/2>. December 29, 2009.
- Nottet, J.-B.; Brossard, N.; Suc, B.; Job, A. (2005) *Distortion Products Otoacoustic Emissions as Markers of Tinnitus Persistence after Acute Acoustic Trauma*. In *New Directions for Improving Audio Effectiveness* (pp. 4-1 – 4-12).
- Campanella L, Bonanni A, Finnoti E, Tomassetti M. *Biosensors for determination of total and natural antioxidant capacity of red and white wines. Comparison with other spectrophotometric and fluorimetric methods*. *Biosens Bioelectron.* 2004; 19:641.
- Larry EH, Lois MJ, Jane S. *Noise and Noise Induced Hearing Loss in the Military*. Dalam *Noise and Military Service : Implication for hearing loss and tinnitus*. The National Academy Press. http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=11443. 2006. 72115.
- Technical Guide (TG) 250, *Readiness thru Hearing Conservation*, US Army Centre for Health Promotion and Prevention Medicine, MCHB-TS-MHC (Hearing Conservation Program Office) 5158 Blackhawk Road E 1570, 2004.
- Sataloff TR and Sataloff J. *Sensorineural hearing loss. Diagnostic criteria. hearing loss*. Second edition. Copyright by Mercel Dekker, Inc. New York. 1993. 2537.
- Direktorat Bina Kesehatan Kerja. *Pedoman Program Konservasi Pendengaran di Tempat Kerja*, Departemen Kesehatan RI. 2006.
- Tim redaksi Pustaka Yustisia. *Undang-Undang Kesehatan dan Rumah Sakit 2009*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Yustisia; 2010.
- Hearing Conservation Program (HCP)*, US Department of Defence Instruction (DoDI) 6055.12, December 3, 2010.
- Army Hearing Program, ST 4-02.501, *Headquarters Department of the Army, United States Army Medical Department Center and School*, Fort Sam Houston, Texas 78234-6100, 1 February 2008.
- Alberti PW. *Noise and the ear*. *Scott Brown's Otolaryngology*. Edited by Alan G Kerr. Butterworth-Heinemann. London. 1997;6 (2/11/72/11/18).
- Colleen G, Le Prell, Daisuke Y, Shujiro BM, Tatsuya Y and Josef MM. *Mechanism of noise-induced hearing loss indicate methods and prevention*. *Hear Res.* 2007 April;226(1-2):2243.
- Henderson D, Bielefeld EC, Harris KC, Hu BH. *The Role of oxidative stres in noise induced hearing loss*. *Ear and Hearing : Lippincott Williams & Wilkins, USA ; 2006.27:119*.
- Henderson D, Hu BH, Bielefeld EC. *Patterns and Mechanisms of Noise Induced Koklear Pathology*. Schacht J, Popper AN, Fay R.R Editor. *Auditory Trauma, Protection and Repair*: Springer Science New York 2008.h.195217.
- Kataoka S, Tsuruo T. *Physician education: Apoptosis*. *Oncologist*. 1996;1(6):399-401.
- Ozguner MF, Delibas N, Tahan P, Koyu A, Koylu H. *Effects of Industrial noise on the Blood Levels of Superoxide Dismutase, Glutathione Peroxidase and Malondialdehyde*. *Eastern Journal of Medicine* 1999; 4(1): h.13 – 5.
- Pinar T, Atli A.K, Alacam H, Karabulut I, Soguksulu I, Atas A, Omar M.B, Amin N, Akyol O; *The Effects of Noise on Oxidative and Antioxidative Balance in Human Erythrocytes*; *International Journal of Hematology and Oncology*; Number 1; Vol.21; 2011; 10 – 8.
- Finamore A, Devirgiliis C, Panno D, D'Aquino M, Polito A, Venneria E, et al. *Immune response in relation to zinc status, sex and antioxidant defence in Italian elderly population: the ZENITH study*. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2005;59(2):S68-72.
- Barry H, John.M.C.G, editors. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 2 ed. New York: Oxford University Press; 1989.
- Kenneth B, Bruce A. *The Free Radical Theory of Aging Matures*. *Physiol Rev.* 1998 15 Okt 2009;78:547-81.
- Scott KP, Malcolm JJ. *Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production*. *Physiol Rev.* 2008;88:1243-76.
- Wangemann P. Cochlear homeostasis and homeostatic disorders. In: Schacht J, Popper A, editors. *Auditory trauma, protection, and repair Springer handBook of auditory research*. New York: Springer Science; 2008. p.49-100.
- Donald C, Shan C, Lai-Har C, Samsot J, Donald H. *Age-related changes in antioxidant enzymes related to hydrogen peroxide metabolism in rat inner ear*. *Neuroscience Letters*. 2009;464:22-5
- Lakari E. *Expression of oxidant and antioxidant enzyme in human lung and interstitial lung disease*. Oulu: Department of Internal Medicine University of Oulu. 2005.
- Hinrich S, Qing-Yin Z, Thomas R-V. *Oxidative Stress in Aging in the C57B16/J Mouse Cochlea*. *Acta Otolaryngol.* 2001;121:666-72.
- Miguel M, Manuel M, Germaine E, Josefa L, Dario A. *Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress*. *FASEB J.* 2000.
- Timothy R. Glutathione Peroxidase Mimics. In: Richard C, Henry R, editors. *Critical Reviews of Oxidative Stress and Aging: Advances in Basic Science, Diagnostics and Intervention*. Toh Tuck Link, Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd; 2003. p. 1345.
- Tong MI, Patricia B, William W. *Antioxidant effects of calcium channel blockers against free radical injury in endothelial cells. Correlation of protection with preservation of glutathione levels*. *Circ Res.* 1992;70:1099-103.
- Mohammed A, El-far-Mohammed A, Bakr-Sami E, Farahat, Elsaid A, Abd E-F. *Glutathione peroxidase activity in patients with renal disorders*. *Clin Exp Nephrol.* 2005;9:127-31.
- Kill J, Pierce C, Tran H, Gu R, Lynch ED. *Ebselen treatment reduces noise induced hearing loss via the mimicry and induction of glutathione peroxidase*. *PubMed. Hear Res.* 2007 Apr;226(1-2):44-51. Epub 2006 Oct 6.
- Lynch ED, Kill J. *Development of Ebselen a Glutathione Perioxidase Mimic, for the Prevention and Treatment of Noise-Induced Hearing Loss*. Thieme Medical Publishers. *Semin Hear* 2009;30(1):047-055 DOI:10.1055/s-0026-1111106.

- Darrat I, Ahmad N, Seidman K., *Auditory research involving antioxidants*. Current Opinion in Otolaryngology A Head and Neck Surgery, Lippincott Williams and Wilkins, 2007, 15 : 358 – 63.
- Pendyala L. and Creaven PJ.. *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Studies of N-asetil sistein*, A Potential Chemopreventive Agent during A Phase I Trial. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, Vol. 4, 1995. 245–51.
- Dobie RA. *Noise Induce Hearing Loss*. Head and Neck Surgery-Laryngology. Second edition. Edited by Byron J Bailey. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia. 1998. Halaman: 2155-56.
- Nilland J. Zenz C. *Occupational hearing loss, noise, and hearing conservation*. Zenz C. (chief ed). Dickerson OB. Horvarth EP. Occupational Medicine. 3rd ed. Mosby. St. Louis: 1994.
- Regina BF, Leopold F. *Is there a role of glutathione peroxidases in signaling and differentiation?* BioFactors. 2003;17:93-102.
- Jochen S. *Auditory Pathology: When Hearing Out of Balance*. In: Jochen S, Arthur N, Richard R, editors. Auditory Trauma, Protection, and Repair. New York: Springer Science+Business Media; 2008. p. 1-7.
- Rogierio M, Christophe D, Felipe K, Marcia M. *Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview*. FEBS Journal. 2008;275:3959-70.
- Tima-Le, Elizabeth K. *Effects of antioxidants on the aging inner ear*. Hearing Research. 2007;226:194-202.
- Marc.AF, Norbert W, Stanley H, Andre C, Elizabeth.SK, Charlene B, et al. *Cellular glutathione peroxidase deficiency and endothelial dysfunction*. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002;282:1255-61.
- Stephane H, Patricia R-D, Joel R. *Seleno-independent glutathione peroxidases*, More than simple antioxidant scavengers. FEBS Journal 274. 2007;2163-80.
- Oxford Biomedical Research. *Colorimetric assay for cellular glutathione peroxidase*. USA:2005.
- Shay J, Wright W. *Senescence and immortalization: role of telomeres and telomerase*. Carcinogenesis. 2005;26(5):867-74.
- Diamond G. *Aging and Apoptosis* [diunduh 19 Juni 2010]: Available from: http://www.ehow.com/about_5593346_aging-apoptosis.html.
- Van-Eyken E, Van-Camp G, Van-Laer L. *The Complexity of Age-Related Hearing Impairment: Contributing Environmental and Genetic Factors*. Audiol Neurotol. 2007;12:345-58.
- George A, Thomas S. *Hear ye? Hear ye! Successful auditory aging*. . West J Med. 1997;167(247-52).
- Poirrier A.L, Pincemail J., Van Den Ackerveken P., Lefebvre1 P.P. and Malgrange B., *Oxidative Stress in the Cochlea*. © 2010 Bentham Science Publishers Ltd. Update Current Medicinal Chemistry, 2010 Vol. 17, No. 31(1-15).
- Kil J, Lynch ED, Ashley J, Kawasaki JH, *Noise and drug - induced hair cell injury and death*. <http://www.soundpharmaceuticals.Co/tehnology.html>. 2010.
- Lin CY, Wu J-L, Shih T-S, Tsai P-J, Sun Y-M, Mag M-C, Guo YL, *N-asetil sistein against noise-induced temporary threshold shift in male workers*. Hearing Research 269. 2010. 42-7.
- Best B. *N-asetil sistein (NAC)*. <http://www.benbest.Com/nutrceut/NAC/html>. 2010(14).
- Braga PC. *Oxidative stres respiratory diseases and tiol compound*. Pacini Editore Spa:Pisa, Italy;2006.
- Campbell KCM. *Otoacoustic emission*. Departmeny of surgery. Division of otolaryngology, Southern Ilionis University of medicine, 2006. Availableat: <http://www.emedicine.com/ent/topic372.htm>.
- Dhar S & Hall JW III. (2010). *Otoacoustic Emissions: Principles, Procedures, and Protocols*. National Library of Medicine website (www.nlm.nih.gov, Health Care Professionals). San Diego: Plural Publishing
- Granot E, Kohen R. *Oxidative stres in abetalipoproteinemia patients receiving long-term vitamin E and vitamin A supplementation*. Am J Clin. Nurt, 2004; 79: 226–30.
- Cayman Chemical Company. *Ebselen*. Item number 70530(CAS 60940-34-3). <https://www.caymanchem.Com/template/product.Vm/catalog/7>. copyright 2011.
- Liu A. *Glutathion Peroxidase mimics: Ebselen*. For 77:222, Spring 2005., 24, February 2005 pp. 1-12.
- Fijisawa S, Kadoma T. *Kinetic Studies of the Radical-scavenging Activity of Ebselen*, a Seleno-organic Compound. Anticancer Research 25; 3989-3994. 2005.
- Schewe.T *Molecular actions of Ebselen-an anti-inflammatory antioxidant*. General Pharmacology:The Vascular System Volume 26. Issue 6, October 1995. 1153-69.
- Bashiruddin J, *Program Konservasi Pendengaran pada Pekerja yang Terpajan Bising Industri*, Majalah Kedokteran Indonesia, Volum: 59, Nomor: 1, Januari 2009
- Husein A, WTK, Dahlan A-M, Aswitha B, Ismet N. *Desain Penelitian*. In: Sudigdo S, Sofyan I, editors. Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. 3 ed. Jakarta: CV Sagung Seto; 2010. p. 92-111.
- Eko B. *Metodologi Penelitian Kedokteran: sebuah pengantar*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2004.
- Joko S, editor. *Memahami Penelitian Kedokteran: Pedoman seorang praktisi*. 1 ed. Jakarta: Penerbit Hipokrates; 2002.
- Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, Budiman I, Purwanto S. *Perkiraan besar sampel*. In: Sastroasmoro S, Ismael S, editors. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. 3 ed. Jakarta: CV Sagung Seto; 2008. p. 302-31.
- Bhisma M. *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan*. 1 ed. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 2006.
- Woolson RF.. *Sample size considerations*. Dalam : Statistical methods for the analysis of biomedical data. Wiley series in probability and mathematical statistics. 1987. 352–56.
- Jacobson GA, Yee KC, Ng CH. *Elevated plasma glutathione peroxidase concentration in acute severe asthma: Comparison with plasma glutathione peroxidase activity, selenium and malondialdehyde*. Scand J Clin Lab Invest. 2007;67:423-30.
- Campanella L, Bonanni A, Finnoti E, Tomassetti M. *Biosensors for determination of total and natural antioxidant capacity of red and white wines*. Comparison with other spectrophotometric and fluorimetric methods. Biosens Bioelectron. 2004; 19:641.