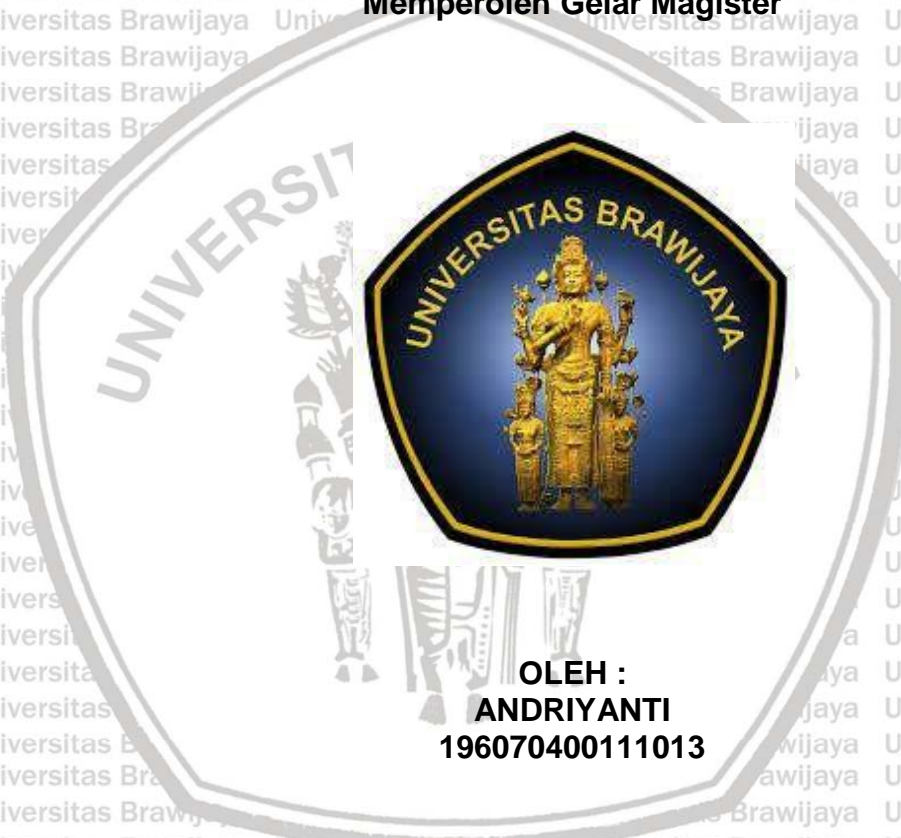


**PENGARUH PRAVASTATIN TERHADAP KADAR
SERUM MALONDIALDEHIDA DAN KADAR
SERUM SUPEROKSIDA DISMUTASE
PADA TIKUS MODEL PREEKLAMPSIA**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**



**OLEH :
ANDRIYANTI
196070400111013**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**



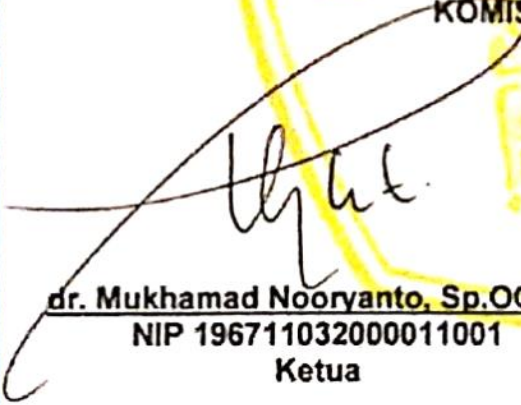
TESIS

**PENGARUH PRAVASTATIN TERHADAP KADAR
SERUM MALONDIALDEHIDA DAN KADAR
SERUM SUPEROKSIDA DISMUTASE
PADA TIKUS MODEL PREEKLAMPSIA**

Oleh:
ANDRIYANTI
196070400111013

Dipertahankan di depan pengujian
pada tanggal: 20 Agustus 2021
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PEMBIMBING


dr. Mukhamad Nooryanto, Sp. OG (K)
NIP 196711032000011001
Ketua


Dr. drg. Nur Permatasari, MS.
NIP 196010051991032001
Anggota

Malang, 26 Agustus 2021
Universitas Brawijaya
Fakultas Kedokteran
Dekan,


Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med., SpA(K)
NIP. 197307262005011008

TESIS


PENGARUH PRAVASTATIN TERHADAP KADAR SERUM MALONDIALDEHIDA DAN KADAR SERUM SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS MODEL PREEKLAMPSIA


Oleh:
ANDRIYANTI
196070400111013


Dipertahankan di depan penguji
pada tanggal: 20 Agustus 2021
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PENGUJI


dr. Mukhamad Nooryanto, Sp. OG (K)
NIP 196711032000011001
Ketua


Dr. drg. Nur Permatasari, MS.
NIP 196010051991032001
Anggota penguji


Dr. dr. Bambang Rahardjo, Sp. OG (K)
NIP 196902041999031008
Anggota penguji


Prof. Dr. dr. Nurdiana, M. Kes
NIP 195510151986032001
Anggota penguji

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis di kutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia tesis ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 Ayat 2 dan pasal 70)

Malang, 20 Agustus 2021

Mahasiswa,



Nama : Andriyanti
NIM : 196070400111013
PS : Magister Kebidanan
Fak : Kedokteran UB



**Karya ilmiah ini saya tujukan kepada,
Alm. Ayahanda dan Ibunda tercinta,
Suami dan Putra tersayang.**

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.”
(Qs. Al-Insyirah 6-8)

RINGKASAN

Andriyanti

Pengaruh Pravastatin terhadap Kadar Serum Malondealdehida dan Kadar Serum Superoksida Dismutase pada Tikus Model Preeklamsia, Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Ketua Komisi Pembimbing: dr. Mukhamad Nooryanto, Sp.OG (K); Anggota Dr. drg. Nur Permatasari, MS.

Preeklamsia merupakan kelainan yang muncul pada kehamilan, ditandai dengan hipertensi dan proteinuria. Stres oksidatif dianggap mempunyai peran penting dalam perkembangan preeklamsia. Pada preeklamsia diduga terjadi peningkatan ROS dan penurunan antioksidan. Stres oksidatif dapat dinilai dengan mengukur kadar Malondealdehida (MDA), produk akhir lipid peroksida. Superoksida dismutase (SOD) sebagai antioksidan lini pertama diduga mengalami penurunan pada kondisi preeklamsia. Strategi pencegahan dan terapi untuk preeklamsia masih sangat terbatas. Pravastatin diduga mempunyai efek antioksidan yang dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi pada preeklamsia melalui peningkatan regulasi jalur antioksidan endogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pravastatin terhadap kadar MDA dan SOD pada tikus model preeklamsia. Tikus model preeklamsia dibuat dengan menginjeksikan *N-nitro-L-arginine methyl ester* (L-NAME). L-NAME merupakan inhibitor dari *nitric oxide synthase* (NOS) dan penghambatan NOS dapat meningkatkan tekanan darah dan vasokonstriksi.

Penelitian menggunakan *true experimental-post test only control group design*. Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok; kontrol negatif, kontrol positif (tikus model preeklamsia yang diinduksi dengan pemberian L-NAME dengan dosis 125 mg/KgBB/hari sejak usia kebuntingan 13-19 hari), kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 (tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan 3 dosis berbeda, 2 mg/hari, 4 mg/hari dan 8 mg/hari) pada saat kebuntingan ke 13-19 hari.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pravastatin berpengaruh terhadap penurunan kadar serum MDA ($p=0,001$) dan peningkatan kadar serum SOD ($p=0,024$). Peningkatan kadar SOD seiring dengan peningkatan dosis pravastatin.

Penurunan kadar serum MDA setelah pemberian pravastatin diduga akibat menurunnya produksi ROS sehingga menurunnya radikal bebas yang dapat mengoksidasi lipid. Efek antioksidan statin bekerja dalam mempengaruhi sintesis NO. Pravastatin meningkatkan bioavailabilitas NO mencegah terbentuknya eNOS *uncoupled* yang berkontribusi pada menurunnya superoksida. Sebagai antioksidan, pravastatin diketahui meningkatkan regulasi Nrf2, faktor transkripsi yang terlibat dalam respons antioksidan seluler. Nrf2 juga berperan dalam pengontrolan ekspresi pengkodean gen antioksidan endogen, salah satunya adalah SOD. Pravastatin diduga mampu memperbaiki kondisi stres oksidatif dengan meningkatkan produksi antioksidan lini pertama dan menurunkan produksi ROS.

Pravastatin dapat menurunkan kadar serum MDA dan meningkatkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia.

SUMMARY**Andriyanti**

The Effect of Pravastatin on Malondialdehyde Serum Levels and Superoxide Dismutase Serum Levels on Preeclampsia Rat Models, Master Program in Midwifery, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Chair of Supervisory Commission dr. Mukhamad Nooryanto, Sp. OG (K); Member Dr. drg. Nur Permatasari, MS.

Preeclampsia is a disorder that occurs in pregnancy, characterized by hypertension and proteinuria. Oxidative stress is thought to have an important role in the development of preeclampsia. On preeclampsia, it is suspected that there is an increase in ROS and a decrease in antioxidants. Oxidative stress can be assessed by measuring levels of Malondialdehyde (MDA), the end product of lipid peroxide. Superoxide dismutase (SOD) as a first-line antioxidant is thought to decrease in preeclampsia. The prevention and therapy strategies for preeclampsia are still very limited. Pravastatin is suspected to have antioxidant effects that can improve oxidative stress conditions that occur in preeclampsia through upregulation of endogenous antioxidant pathways.

The study has aim to know the effect of pravastatin on serum MDA levels and serum SOD levels on preeclampsia rat models. Preeclampsia rat model is made by injecting N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME). L-NAME is an inhibitor of nitric oxide synthase (NOS) and inhibition of NOS can increase blood pressure and vasoconstriction.

The study uses a true experimental - post test only control group design. This study is consisted of 5 groups; negative control, positive control (preeclampsia rat model by induced of administration of L-NAME at a dose of 125 mg/KgBW/day since gestational age 13-19 days), treatment groups 1, 2 and 3 (Preeclampsia rat model is given pravastatin with 3 doses different, 2 mg/day, 4 mg/day and 8 mg/day) at 13-19 days of gestation.

The results show that pravastatin had an effect on decreasing MDA serum levels ($p=0.001$) and increasing SOD serum levels ($p=0.024$). The increasing SOD serum level is as long with the increasing pravastatin dose.

The decreasing of MDA serum levels after giving pravastatin is suspected due to the decreasing of ROS production, so the decreasing of free radicals can oxidize lipids. The antioxidant effect of statins acts in influencing NO synthesis. Pravastatin increase bioavailability of NO to prevent the formation of encoupled eNOS which contribute to the reduction of superoxide. As an antioxidant, pravastatin is known to increase the regulation of Nrf2, a transcription factor involved in cellular antioxidant responses. Nrf2 also plays a role in controlling the expression of encoding genes for endogenous antioxidants, one them is SOD. Pravastatin is suspected to be able to improve oxidative stress conditions by increasing the production of first-line antioxidants and decreasing the production of ROS.

Pravastatin can reduce MDA levels and increase SOD levels in preeclampsia rat models.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan tesis yang berjudul: Pengaruh Pravastatin terhadap Kadar Serum Malondealdehida dan Kadar Serum Superoksida Dismutase pada Tikus Model Preeklamsia. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi preeklamsia, faktor penyebab dan patogenesisnya serta pengaruh pemberian pravastatin pada tikus model preeklamsia pada parameter MDA dan SOD. Dengan selesainya tesis ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Ir. Nuhfil Hanafi A.R., M.S. selaku Rektor Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan di Universitas Brawijaya.
2. Dr. dr. Wisnu Barlianto., MSi. Med, SpA(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, atas izin yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Dr. dr. Sutrisno, Sp.OG (K) selaku Ketua Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
4. dr. Mukhamad Nooryanto, Sp.OG (K) selaku Pembimbing I yang telah memberikan arahan dan bimbingan pada penulisan tesis ini.
5. Dr. drg. Nur Permatasari, MS. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan masukan selama proses penyusunan tesis.
6. Dr. dr. Bambang Rahardjo, Sp.OG (K) selaku penguji I yang telah memberikan masukan selama proses ujian dan penyusunan tesis.
7. Prof. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes selaku penguji II yang juga telah memberikan masukan selama proses penyusunan tesis.

8. Keluarga dan rekan-rekan tim serta rekan Magister Kebidanan angkatan 2019.

9. Semua yang telah berkontribusi dalam penulisan tugas akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tapi masih dirasakan banyak kekurang tepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Agustus

2021

Penulis



DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS.....	iv
HALAMAN PERUNTUKAN.....	v
RINGKASAN.....	vi
SUMMARY.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Konsep Dasar Preeklamsia.....	8
2.1.1 Pengertian.....	8
2.1.2 Faktor Risiko.....	8
2.1.3 Klasifikasi Gangguan Hipertensi pada Kehamilan.....	9
2.1.4 Patogenesis Preeklamsia.....	12
2.2 Stres Oksidatif.....	14
2.2.1 Stres Oksidatif pada Kehamilan Normal.....	16
2.2.2 Stres Oksidatif pada Kehamilan dengan Preeklamsia.....	19
2.3 Malondealdehida (MDA).....	21
2.3.1 Pembentukan MDA.....	22
2.3.2 MDA pada Kehamilan Normal.....	24
2.3.3 MDA pada Kehamilan dengan Preeklamsia.....	25
2.4 Antioksidan.....	26
2.4.1 Definisi Antioksidan.....	26
2.4.2 Jenis Antioksidan.....	26
2.4.3 Mekanisme Kerja Antioksidan.....	28
2.4.4 Superoksida Dismutase (SOD).....	30
2.4.5 SOD pada Kehamilan Normal.....	32
2.4.6 SOD pada Preeklamsia.....	32
2.5 Statin.....	33

2.5.1	Gambaran Umum dan Jenis Statin	33
2.5.2	Cara Kerja Statin	34
2.5.3	Efek Pleiotropik Statin.....	34
2.5.4	Keamanan Statin pada Kehamilan.....	36
2.5.5	Farmakokinetik Pravastatin	37
2.5.6	Farmakodinamik Pravastatin	39
2.5.7	Pravastatin pada Preeklamsia.....	39
2.6	<i>Rattus norvegicus</i>	42
2.7	Tikus Model Preeklamsia.....	44
2.8	L-NAME	47
BAB 3 KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN		49
3.1	Kerangka Teori.....	49
3.2	Kerangka Konsep.....	52
3.3	Hipotesis	54
BAB 4 METODE PENELITIAN		55
4.1	Jenis dan Desain Penelitian	55
4.2	Sampel Penelitian.....	56
4.2.1	Sampel	56
4.2.2	Besar Sampel.....	57
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	57
4.4	Bahan dan Alat	57
4.5	Variabel Penelitian.....	58
4.6	Definisi Operasional	58
4.7	Prosedur Penelitian	59
4.8	Alur Penelitian.....	67
4.9	Analisis Data.....	68
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA		71
5.1	Pembuatan Tikus Model Preeklamsia	71
5.2	Analisa Data	74
5.2.1	Hasil Uji Prasyarat Parametrik	75
5.2.2	Hasil Uji <i>Oneway ANOVA</i> dan <i>Multiple Comparison</i>	75
5.2.2.1	Hasil Uji Kadar MDA	75
5.2.2.2	Hasil Uji Kadar SOD	77
5.2.2.3	Hasil Uji Korelasi	79
BAB 6 PEMBAHASAN.....		81
6.1	Pembuatan Tikus Model Preeklamsia.....	81
6.2	Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar SOD.....	83
6.3	Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar MDA.....	86
6.4	Hubungan Kadar SOD dan Kadar MDA	89
6.5	Keterbatasan penelitian.....	92
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		94
7.1	Kesimpulan	94
7.2	Saran	94
DAFTAR PUSTAKA.....		95
LAMPIRAN.....		102



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis antioksidan 28

Tabel 4.1 Kelompok perlakuan 57

Tabel 4.2 Definisi operasional variabel 58

Tabel 4.3 Konversi dosis pada hewan coba 63

Tabel 4.4 Panduan interpretasi hasil uji hipotesis korelatif 69

Tabel 5.1 Kriteria tikus bunting berdasarkan kriteria eksklusi dan *dropout*... 71

Tabel 5.2 Karakteristik tikus kelompok pengamatan 72

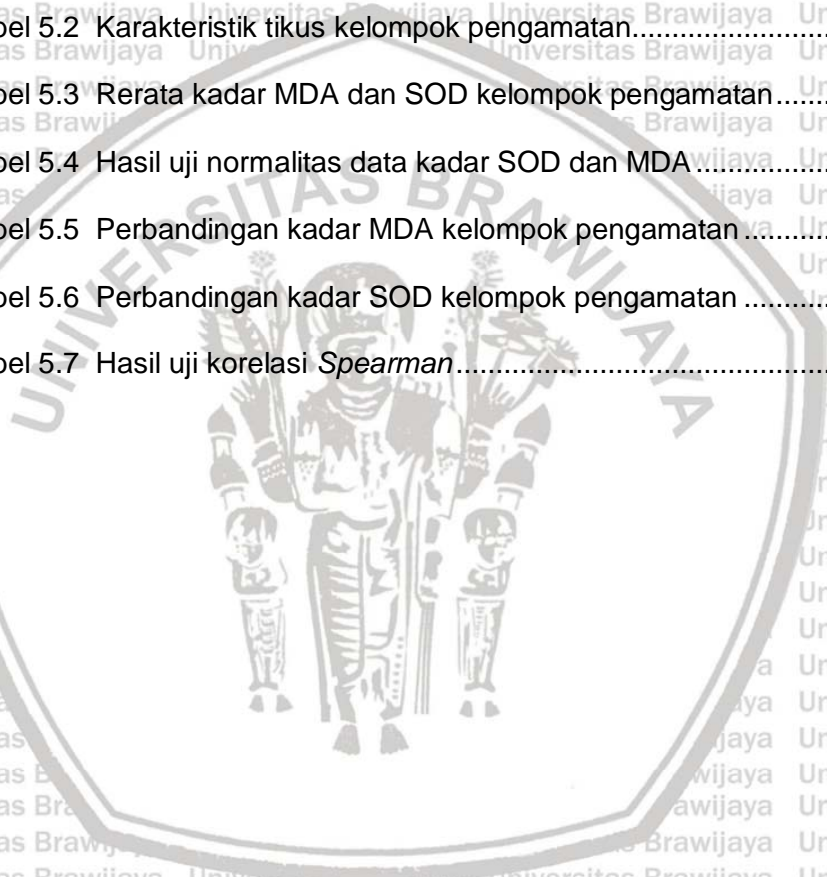
Tabel 5.3 Rerata kadar MDA dan SOD kelompok pengamatan 74

Tabel 5.4 Hasil uji normalitas data kadar SOD dan MDA 75

Tabel 5.5 Perbandingan kadar MDA kelompok pengamatan 76

Tabel 5.6 Perbandingan kadar SOD kelompok pengamatan 78

Tabel 5.7 Hasil uji korelasi *Spearman* 80



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Plasentasi abnormal pada preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal..... 12

Gambar 2.2 Mekanisme yang menghubungkan stres oksidatif, mediator pertumbuhan angiogenik dan disfungsi endotel di preeklamsia..... 13

Gambar 2.3 Ringkasan hipotesis dari patogenesis dan biomarker yang tidak seimbang dari abnormal plasentasi, stres oksidatif dan AGM di preeklamsia..... 14

Gambar 2.4 Peran anion superoksida dalam membentuk radikal lainnya..... 16

Gambar 2.5 Patofisiologi dari Preeklamsia..... 21

Gambar 2.6 Pembentukan dan metabolisme MDA..... 23

Gambar 2.7 Jalur pembentukan ROS, proses peroksidasi lipid hingga produksi MDA serta pembentukan DNA adducts oleh MDA..... 24

Gambar 2.8 Cara kerja Antioksidan..... 29

Gambar 2.9 Mekanisme pertahanan lini pertama antioksidan dalam menghadapi ROS..... 31

Gambar 2.10 Skema patomekanisme preeklamsia dan efek pleiotropik statin yang berpengaruh pada terapi preeklamsia..... 36

Gambar 2.11 Ringkasan farmakokinetik dari pravastatin..... 39

Gambar 2.12 Mekanisme kerja L-NAME..... 47

Gambar 3.1 Kerangka teori..... 49

Gambar 3.2 Kerangka konsep..... 52

Gambar 4.1 Alur Penelitian..... 67

Gambar 5.1 Hasil pengukuran tekanan darah sistolik tikus kelompok pengamatan..... 73

Gambar 5.2 Histogram rerata kadar MDA..... 77

Gambar 5.3 Histogram rerata kadar SOD..... 79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Kelainan Etik 102

Lampiran 2 Surat Keterangan Bebas Plagiasi 103

Lampiran 3 Bukti *Accepted* jurnal 104

Lampiran 4 Analisis Data 105

Lampiran 5 Berat Badan Induk dan Janin Tikus 110

Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian 111



DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL

ACOG : *American College of Obstetricians and Gynecologists*

AT1-AAs : *Angiotensin Type 1 Receptor Auto Antibody*

BH4 : *Tetrahydrobiopterin*

BNT : *Beda Nyata Terkecil*

CAT : *Catalase*

CO₂ : *Carbon dioxide*

CRP : *C-reactive protein*

CuZn SOD : *Copper Zinc SOD*

DAMP : *Damage-Associated Molecular Pattern*

DNA : *Deoxyribonucleic acid*

eNOS : *endotelin Nitric Oxide Synthase*

Ets-1 : *E26 transformation-specific oncogene homolog-1*

EVs : *Extracellular Vesicles*

EVT : *Extravillous Trophoblast*

FDA : *Food and Drug Administration*

Flt-1 : *Fms like tyrosine kinase-1*

FR : *Free Radicals*

GPX : *Glutathione Peroksidase*

GSIS : *Glucose-Stimulated Insulin Secretion*

H₂O₂ : *hidrogen peroksida*

HDL : *high-density lipoprotein*

HELLP : *Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelet*

HIF : *Hypoxia-Inducible Factors*

HMG-CoA : *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme reductase*

HNE : *hidroksynonenal*

IL-6 : *Interleukin-6*

- INOS : *inducible Nitric Oxide Synthase*
- KLF8 : *Kruppel-Like Factor 8*
- LDL : *Low-Density Lipoprotein*
- L-NAME : *N-nitro-L-arginine methyl ester*
- LSD : *Least Significant Different*
- MAP : *Mean Arterial Pressure*
- MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinase*
- MDA : *Malondialdehyde*
- MEPP : *Mitochondrial energy production pathway*
- MgSO₄ : *magnesium sulfat*
- MMP-9 : *Matrix Methaloproteinase 9*
- MnSOD : *Manganesse Superoxide Dismutase*
- mRNA : *messenger RNA*
- NADPH : *Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Phosphate*
- Nrf-2 : *Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2*
- PIGF : *Placental Growth Factor*
- PUFA : *Polyunsaturated Fatty Acid*
- RNS : *Reactive Nitrogen Species*
- ROS : *Reactive Oxygen Species*
- sEng : *soluble Endoglin*
- SFlt-1 : *Soluble Fms-like tyrosine kinase-1*
- SOD : *Superoksida Dismutase*
- STB : *Syncytiotrophoblast*
- TAS : *Total Antioxydan Status*
- TNF- α : *Tumor necrosis factor- α*
- TXA₂ : *Tromboxane A₂*
- VCAM-1 : *Vascular Cell Adhesion Molecule-1*

- VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
- ($\cdot\text{LOO}$) : Radikal lipid peroksida
- ($\cdot\text{OH}$) : Radikal hidroksil
- ($\text{NO}\cdot$) : Nitrit Oksida
- ($\text{O}_2\cdot^-$) : Superoksida
- ($\text{OONO}\cdot$) : Peroksinitrit



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Secara global preeklamsia mempunyai kontribusi yang cukup besar terhadap morbiditas dan mortalitas fetal-maternal yang hanya terjadi karena kehamilan (Karacay *et al.*, 2010; Backes *et al.*, 2011). Kurang lebih 2% -8% dari semua wanita hamil di seluruh dunia menderita preeklamsia setelah 20 minggu kehamilan (Yang *et al.*, 2019). Enam hingga sepuluh persen kehamilan di Amerika Serikat disertai dengan preeklamsia dan angka cenderung lebih tinggi pada negara berkembang seperti Indonesia. Preeklamsia menjadi penyumbang terbesar kedua kematian ibu setelah perdarahan dan menjadi beban perawatan kesehatan yang masif di Indonesia (Backes *et al.*, 2011; Wardhana *et al.*, 2018; Aldika Akbar *et al.*, 2018).

Preeklamsia adalah kondisi klinis khusus pada kehamilan yang dianggap sebagai penyakit multi-sistemik yang muncul setelah 20 minggu kehamilan (Yang *et al.*, 2019). Preeklamsia ditandai dengan timbulnya hipertensi, proteinuria, komplikasi hematologi dan gangguan uteroplasenta (de Lucca *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2019). Etiologi utama yang bertanggung jawab pada timbulnya preeklamsia belum diketahui secara pasti. Beberapa literatur menyebutkan bahwa preeklamsia merupakan gabungan dari beberapa proses meliputi gangguan invasi sitotrofoblas, iskemia plasenta hingga stres oksidatif yang menyebabkan disfungsi endotel vaskular ibu, dan respon imun yang tidak tepat terhadap alogenik janin dianggap berkontribusi terhadap penyakit tersebut (Jena *et al.*, 2020; Karacay *et al.*, 2010; Taravati dan Tohidi, 2018).

Stres oksidatif dianggap mempunyai peran penting dalam perkembangan preeklamsia berdasarkan pada beberapa bukti penelitian (Taravati dan Tohidi, 2018; de Lucca *et al.*, 2016). Kehamilan meningkatkan kerentanan terjadinya stres

oksidatif yang berpotensi menimbulkan kerusakan jaringan. Pada wanita hamil normal terjadi peningkatan stres oksidatif dibandingkan dengan wanita yang tidak hamil. Serangkaian perubahan dinamika fisiologis pada beberapa sistem tubuh menyebabkan konsumsi oksigen basal dan energi meningkat termasuk pada sistem uteroplasenta yang dianggap menimbulkan potensi terjadinya stres oksidatif (Chiarello *et al.*, 2020; Kadri, 2010; Rani *et al.*, 2010). Plasenta awalnya memiliki lingkungan hipoksia namun seiring dengan perkembangannya, plasenta mempunyai lingkungan yang kaya oksigen dengan dukungan vaskularisasinya. Penurunan perfusi uteroplasenta hingga hipoksia plasenta pada kondisi preeklamsia memicu terjadi stres oksidatif (Kadri, 2010; Taravati dan Tohidi, 2018; Karacay *et al.*, 2010).

Stres oksidatif ditandai dengan ketidakseimbangan senyawa antioksidan endogen dan pembentukan radikal bebas. Bentuk ketidakseimbangan ini mengarah pada kerusakan membran lipid dan produksi lipid peroksida yang dikaitkan dengan patomekanisme beberapa penyakit, salah satunya preeklamsia (de Lucca *et al.*, 2016; Karacay *et al.*, 2010; Sahay *et al.*, 2015). Stres oksidatif dapat menjadi penyebab terjadinya preeklamsia melalui beberapa mekanisme. Mekanisme pertama terjadinya apoptosis *syncytiotrophoblast* akibat produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) saat proses plasentasi yang menyebabkan terganggunya remodelling arteria spiralis. Kegagalan *remodelling* arteri spiralis menyebabkan terjadinya isufisiensi plasenta. Proses ini menyebabkan terbentuknya kompleks iskemia-reperfusion di plasenta sehingga terbentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) meliputi superoksida $O_2^{\cdot-}$, radikal hidroksil ($\cdot OH$), dan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang dilepaskan ke sirkulasi maternal. Radikal hidroksil, oksidan yang potensial dapat merusak membran sel dan merubahnya menjadi peroksida lemak. Lipid peroksida menyebabkan kerusakan pada membran sel, nukleus, dan protein sel endotel yang berakhir pada disfungsi endotel. Tahap

kedua yaitu stres oksidatif yang dianggap sebagai penyebab sekaligus akibat dari perubahan respon inflamasi pada kehamilan dengan preeklamsia. Respon inflamasi memicu pelepasan sitokin inflamasi dan faktor anti-angiogenik yang berdampak pada disfungsi endotel (Ferguson *et al.*, 2017; Al-Kuraishy and Al-Gareeb, 2018; Chiarello *et al.*, 2020).

Bukti yang terkumpul dalam penelitian beberapa tahun terakhir, lipid adalah biomolekul target yang paling terlibat dan yang paling sering diukur dari sekian banyak biomarker stres oksidatif. Lipid yang teroksidasi menghasilkan produk akhir yaitu Malondealdehida (MDA), produk utama hasil peroksidasi *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Molekul aldehida ini bersifat sangat toksik, berpotensi mutagenik dan aterosklerotik jika berinteraksi dengan protein atau DNA (Giera *et al.*, 2012; Taravati dan Tohidi, 2018).

Pada preeklamsia, stres oksidatif dapat dinilai dengan mengukur kadar MDA, produk akhir lipid peroksida. Beberapa studi melaporkan adanya peningkatan MDA pada sampel serum, plasma dan jaringan plasenta dari wanita hamil dengan preeklamsia dibandingkan dengan wanita hamil normal (Genc *et al.*, 2011). Gohil, Patel and Priyanka (2011), Can *et al.* (2014) Bakacak *et al.* (2015), dan Al-Kuraishy and Al-Gareeb (2018) dalam penelitiannya menemukan bahwa terjadi peningkatan MDA secara signifikan pada kehamilan dengan preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal. Penelitian Rafeeina *et al.* (2014) melaporkan bahwa kadar MDA serum meningkat seiring dengan keparahan preeklamsia yang berkorelasi dengan tingginya kadar lipid peroksida yang memediasi disfungsi endotel (Gohil *et al.*, 2011; Bakacak *et al.*, 2015; Sayyed dan Sontakke, 2013).

Pada kondisi normal produksi ROS mengalami peningkatan yang diimbangi dengan peningkatan produksi antioksidan sebagai bentuk mekanisme pertahanan

dari kerusakan jaringan (Rani *et al.*, 2010; Kadri, 2010). Antioksidan yang mempunyai peran utama sebagai pertahanan lini pertama antara lain superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutation peroksidase (GPx). SOD mempunyai kemampuan untuk merubah superoksida ($O_2^{\cdot-}$) menjadi O_2 dan H_2O_2 kemudian H_2O_2 secara cepat dineutrasisir oleh CAT. Namun H_2O_2 berpotensi untuk berinteraksi dengan berbagai molekul, terutama dengan ion Fe^{2+} yang kemudian memecah H_2O_2 menjadi radikal hidroksil ($\cdot OH$) dan membentuk peroksida lemak. SOD mempunyai kemampuan untuk melakukan reaksi redoks pada semua sel yang dipapar oksigen sehingga SOD menjadi pertahanan antioksidan endogen pertama. Keseimbangan ini terganggu pada kehamilan dengan preeklamsia (Taravati dan Tohidi, 2018; Hansson *et al.*, 2015; Aouache *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian pada preeklamsia dilaporkan adanya peningkatan ROS dan penurunan kapasitas antioksidan maternal (Taravati dan Tohidi, 2018; Karacay *et al.*, 2010). Penurunan kapastitas antioksidan ini dicuriga akibat adanya peningkatan pemanfaatan antioksidan sebagai bentuk mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas (Sayyed dan Sontakke, 2013; Chamy Picó *et al.*, 2006). Penelitian Sayyed and Sontakke (2013), Bakacak *et al.* (2015) dan Al-Kuraishy dan Al-Gareeb (2018) menyebutkan adanya aktivitas SOD lebih rendah pada kelompok preeklamsia dibandingkan pada kelompok kehamilan sehat dan non-kehamilan. Adanya defisiensi aktivitas SOD menyebabkan nitrit oksida (NO^{\cdot}) berikatan dengan superoksida ($O_2^{\cdot-}$) membentuk peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$). Peroksinitrit yang terbentuk merupakan agen pengoksidasi yang kuat untuk membentuk peroksida lipid. Peroksida lipid dapat merusak membran, inti dan protein sel endotel menimbulkan disfungsi endotel. Dampak dari disfungsi endotel adalah timbul reaksi peradangan dan peningkatan produksi prostaglandin

sehingga terjadi penghambatan relaksasi vaskular yang memicu terjadi hipertensi (Chamy Picó *et al.*, 2006; Kadri, 2010).

Strategi pencegahan dan terapi untuk preeklamsia masih sangat terbatas dikarenakan etiologi dan patogenesis yang belum jelas hingga saat ini. Penggunaan suplemen dan obat-obatan sebagai bentuk pencegahan dan terapi preeklamsia telah dilakukan, namun dengan keberhasilan yang terbatas (Yang *et al.*, 2019; Xuan *et al.*, 2016). Sejauh ini aspirin dosis rendah dilaporkan terbukti mencegah dan mengurangi gejala preeklamsia dan efektif jika diberikan sebelum usia kehamilan 16 minggu. Penggunaan sulfat magnesium (MgSO₄), hidralazin dan metildopa sebagai profilaksis pada preeklamsia diketahui hanya mengurangi kejang namun tidak memberikan efek terapeutik yang berarti pada jalur spesifik yang terlibat dalam patogenesis preeklamsia (Anto *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian terbaru menemukan bahwa statin (*3-hydroxyl-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors*) terbukti memiliki sejumlah efek pleiotropik yang tidak berkaitan dengan metabolisme kolesterol, termasuk antioksidan, anti-inflamasi, dan anti-apoptosis (Bauer *et al.*, 2013; Marrs and Caroline, 2017). Penelitian mengenai efek statin terhadap jalur ketidakseimbangan angiogenik telah banyak dilakukan, namun penelitian efek statin terhadap jalur patomekanisme preeklamsia yang lain masih sangat terbatas. Carrepeiro *et al.* (2011) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa statin mempunyai efek antioksidan melalui peningkatan ekspresi gen dari SOD. Lebih spesifik, pravastatin (turunan-statin) meningkatkan regulasi jalur antioksidan endogen melalui peningkatan Nrf-2. Nrf-2 adalah faktor transkripsi dimana respons elemen transkripsinya terlibat dalam respons antioksidan seluler. Fungsi utama Nrf-2 adalah mengontrol ekspresi pengkodean gen, diantaranya glutathion peroksidase (GPx), superoksida dismutase (SOD), dan thioredoksin (Trx). Induksi dari protein

antioksidan selama stres oksidatif bergantung pada aktivasi Nrf-2. (Fiona C. Brownfoot *et al.*, 2015; Liebert, 2005).

Pada penderita preeklamsia diasumsikan terjadi peningkatan kadar MDA dan penurunan kadar SOD pada serum darah. Pravastatin diasumsikan mempunyai efek antioksidan yang dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi pada preeklamsia. Untuk membuktikan asumsi tersebut akan dilakukan penelitian mengenai pengaruh pravastatin terhadap kadar MDA dan SOD pada tikus model preeklamsia. Peneliti akan menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai pembanding preeklamsia pada manusia karena dianggap mempunyai kemiripan pada fungsi metabolismenya. Tikus diberikan perlakuan berupa injeksi *N-nitro-L-arginine methyl ester* (L-NAME). L-NAME merupakan inhibitor dari *nitric oxide synthase* (NOS). Penghambatan NOS dapat meningkatkan tekanan darah, vasokonstriksi (Shu *et al.*, 2018), dan meningkatkan stres oksidatif (Shu *et al.*, 2018; Talebianpoor dan Mirkhani, 2012) serta menyebabkan terjadinya proteinuria (Talebianpoor dan Mirkhani, 2012) yang menyerupai karakteristik preeklamsia.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah pemberian pravastatin dapat berpengaruh dalam menurunkan kadar serum MDA dan meningkatkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1. Apakah pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar serum MDA pada tikus model preeklamsia?
2. Apakah pemberian pravastatin dapat meningkatkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar serum MDA dan meningkatkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar serum MDA pada tikus model preeklamsia.
2. Membuktikan bahwa pemberian pravastatin dapat menaikkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Berkontribusi menjadi bagian dari studi eksploratif mengenai pengaruh pemberian pravastatin terhadap berbagai jalur patomekanisme preeklamsia, khususnya pada jalur stres oksidatif.

1.4.2 Manfaat Praktis

Berkontribusi dalam implementasi pemberian pencegahan dan terapi preeklamsia agar dapat mengurangi morbiditas dan mortalitas fetal-maternal.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Konsep Dasar Preeklamsia

2.1.1 Pengertian Preeklamsia

Preeklamsia adalah sindrom klinis yang hanya terjadi saat kehamilan yang melibatkan multisistem. Definisi preeklamsia meliputi onset baru hipertensi disertai dengan onset baru proteinuria ≥ 300 mg/ 24 jam setelah 20 minggu usia kehamilan. Meskipun tanpa disertai dengan proteinuria, diagnosis preeklamsia ditegakkan sebagai hipertensi yang disertai dengan trombositopenia (jumlah trombosit <100.0000 /microliter), gangguan fungsi hati (peningkatan kadar transaminase hati hingga dua kali lipat konsentrasi normal, isufisiensi ginjal (peningkatan kreatin serum $> 1,1$ mg/ dL atau peningkatan dua kali lipat serum kreatin tanpa penyakit ginjal lainnya), edema paru, dan onset baru gangguan penglihatan atau gangguan otak (Chiarello *et al.*, 2020; Hypertension, 2019; Karacay *et al.*, 2010).

2.1.2 Faktor Risiko

Faktor risiko preeklamsia meliputi obesitas, usia ibu, penyakit ginjal, hipertensi sebelum kehamilan, riwayat keluarga (ibu dari suami) pernah mengalami preeklamsia, dan nullipara. Risiko nullipara lebih tinggi dibandingkan multipara, namun efek proteksi pada faktor multipara menurun ketika berganti pasangan, yang menunjukkan bahwa toleransi imunologis meningkat berbanding dengan lamanya paparan antigen paternal (Savaj dan Vaziri, 2012).

2.1.3 Klasifikasi gangguan hipertensi pada kehamilan

Klasifikasi gangguan hipertensi pada kehamilan menurut *American College of Obstetricians and Gynecologists* (ACOG, 2019), terbagi dalam beberapa kategori:

a. Preeklamsia (Dengan dan Tanpa Fitur yang Parah)

Preeklamsia adalah kelainan yang berhubungan hipertensi onset baru dengan kehamilan, yang paling sering terjadi setelah usia kehamilan 20 minggu dan seringkali mendekati waktu persalinan. Meskipun sering disertai proteinuria onset baru, hipertensi dan tanda atau gejala preeklamsia lainnya mungkin nampak pada beberapa wanita tanpa adanya proteinuria. Kriteria diagnosis untuk menegakkan diagnosa preeklamsia:

- Tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg pada 2 kali pengukuran dengan jarak minimal 4 jam setelah usia kehamilan 20 minggu yang sebelumnya mempunyai tekanan darah yang normal

Dan

- Proteinuria ≥ 300 mg dalam 24 jam atau rasio protein/ kreatinin $\geq 0,3$ mg/dL atau pembacaan dipstick $\geq 2+$. Atau jika tanpa disertai proteinuria, muncul onset baru hipertensi disertai dengan onset baru dari tanda berikut: trombositopenia (jumlah platelet $< 100,000 \times 10^9/L$), isufisiensi ginjal (serum kreatinin $\geq 1,1$ mg/dL), fungsi liver yang terganggu (peningkatan enzim hati 2 kali lipat dari normal) dan edema paru.

Sedangkan untuk menegakkan diagnosa preeklamsia dengan fitur yang parah, jika terdapat tanda:

- Tekanan darah sistolik ≥ 160 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 110 mmHg pada 2 kali pengukuran dengan jarak minimal 4 jam

- trombositopenia (jumlah platelet $< 100,000 \times 10^9/L$)

- isufisiensi ginjal (serum kreatinin $\geq 1,1$ mg/dL)

- fungsi liver yang terganggu (peningkatan enzim hati 2 kali lipat dari normal)

- edema paru, onset baru sakit kepala yang tidak respon terhadap pengobatan, gangguan penglihatan.

b. Hipertensi Gestasional

Hipertensi gestasional didefinisikan sebagai peningkatan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg pada 2 kali pengukuran dengan jarak minimal 4 jam setelah usia kehamilan 20 minggu yang sebelumnya mempunyai tekanan darah yang normal tanpa disertai proteinuria dan tekanan darah akan kembali normal pada periode post partum.

c. Sindrom HELLP (*Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelet Count Syndrome*)

Presentasi klinis hemolisis, peningkatan hati enzim, dan hitung trombosit rendah sindrom HELLP merupakan salah satu bentuk preeklamsia yang parah. Gejala utama yang muncul pada sindrom HELLP adalah nyeri kuadran kanan atas dan malaise hingga 90% kasus serta mual dan muntah pada 50% kasus. Beberapa kriteria untuk menegakkan diagnosis diantaranya: dehidrogenase laktat (LDH) meningkat hingga 600 IU / L atau lebih, *aspartate aminotransferase* (AST) dan *alanine aminotransferase* (ALT) meningkat lebih dari dua kali batas atas normal, dan jumlah trombosit kurang dari $100.000 \times 10^9/L$.

d. Eklamsia

Eklamsia adalah manifestasi kejang dari gangguan hipertensi dalam kehamilan dan merupakan manifestasi penyakit yang lebih parah. Eklamsia didefinisikan sebagai kejang onset baru baik kejang tonik-klonik, fokal, atau multifokal tanpa adanya penyebab atau penyakit penyerta lain seperti epilepsi, infark dan iskemia arteri serebral, perdarahan intrakranial, atau penggunaan obat.

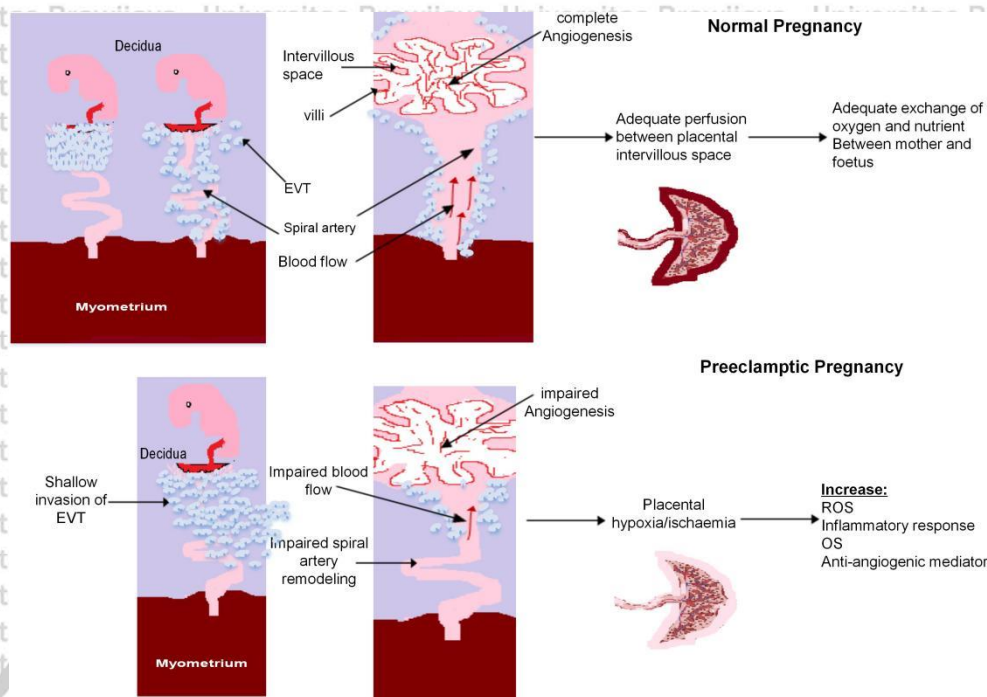
2.1.4 Patogenesis Preeklamsia

Patogenesis preeklamsia melibatkan banyak proses dan faktor meliputi plasentasi yang abnormal, kegagalan remodelling arteria spiralis, stres oksidatif, ketidakseimbangan regulasi faktor angiogenik, disfungsi endotel, faktor genetik dan faktor lingkungan (misalnya obesitas, merokok). Namun, plasentasi abnormal,

peningkatan stres oksidatif dan gangguan keseimbangan faktor angiogenik diidentifikasi sebagai penyebab utama (Anto *et al.*, 2018).

2.1.4.1 Peran *remodelling* pembuluh darah plasenta

Pada akhir usia kehamilan 18 hingga 20 minggu, *extravillous trophoblast* (EVT) yang berasal dari janin menginvasi arteri spiralis ibu. Proses ini mengubah arteri spiralis dari pembuluh darah dengan resistensi kecil menjadi pembuluh darah dengan diameter yang lebih besar. Proses invasi ini melibatkan sejumlah besar faktor transkripsi, faktor pertumbuhan dan sitokin. Efek yang dihasilkan dari invasi lengkap dan renovasi uterus adalah penurunan resistensi dalam pembuluh darah dan peningkatan aliran darah ke plasenta sehingga dapat mentransfer nutrisi dan oksigen secara adekuat. Pada preeklamsia, invasi EVT yang dangkal dan defek pada transformasi dari fenotipe epitel menjadi fenotipe endotel menyebabkan pembuluh darah tetap berdiameter kecil. Efek dari kegagalan proses ini menjadikan resistensi pembuluh darah tetap tinggi, menyebabkan iskemia dan hipoksia plasenta. Plasenta yang hipoksia memicu pelepasan mediator respons inflamasi, peningkatan produksi ROS yang memicu terjadinya stres oksidatif, peningkatan pelepasan mediator anti-angiogenik, yang secara bersamaan menyebabkan disfungsi endotel dan manifestasi klinis preeklamsia (Anto *et al.*, 2018).



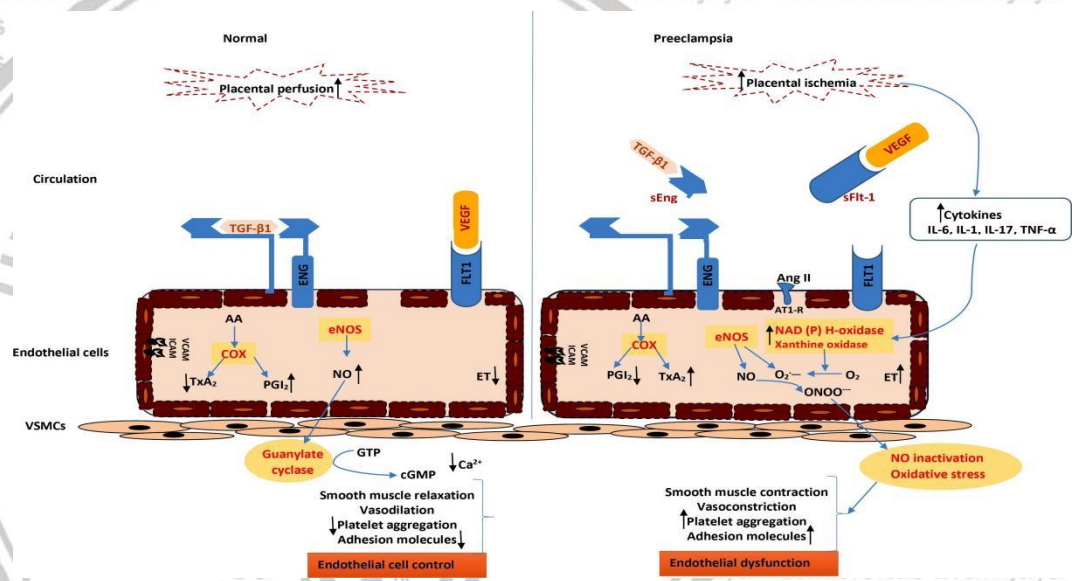
Gambar 2.1 Plasentasi abnormal pada preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal (Anto et al., 2018).

2.1.4.2 Peran stres oksidatif pada plasenta

Pada kehamilan normal ada keseimbangan antara produksi ROS dan kemampuan pertahanan antioksidan. Pada kehamilan normal, ROS diperlukan dalam berbagai metabolisme seluler, terutama pada pembentukan plasenta hingga menjadi organ matur. Pada awal perkembangan plasenta normal, spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS) diperlukan untuk mendukung morfogenesis, vaskulogenesis, angiogenesis dan diferensiasi sel.

Pada preeklamsia terjadi gangguan invasi sitotrofoblas dan remodelling ulang arteri spiralis uterus menyebabkan menurunnya perfusi plasenta yang mengekspos ruang intervili untuk meningkatkan ROS dan RNS. Hipoksia-iskemia plasenta merangsang peningkatan tekanan oksigen yang semula plasenta dialiri oleh oksigen bertekanan rendah. Xantin oksidase mengambil oksigen yang mengkatalisator transformasi hipoksantin menjadi xantin dan diubah menjadi asam

urat sebagai produk akhirnya. Xantin oksidase berperan mengkatalisis reduksi oksigen menjadi radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Oksidasi nikotinamida adenin dinukleotida fosfat (NADPH) juga mengkatalisis reduksi oksigen menjadi radikal anion superoksida di neutrofil, sitotrofoblas dan sel endotel pembuluh darah. Pada kondisi stres oksidatif, *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS)-vasodilator yang poten, terlepas melalui oksidasi kofaktornya yaitu tetrahydrobiopterin (BH₄), yang mengarah pada produksi $O_2^{\cdot-}$ dan pembentukan peroxynitrit ($ONOO^-$). Berbagai proses ini yang pada akhirnya berkontribusi dalam membentuk radikal superoksida (Anto *et al.*, 2018).

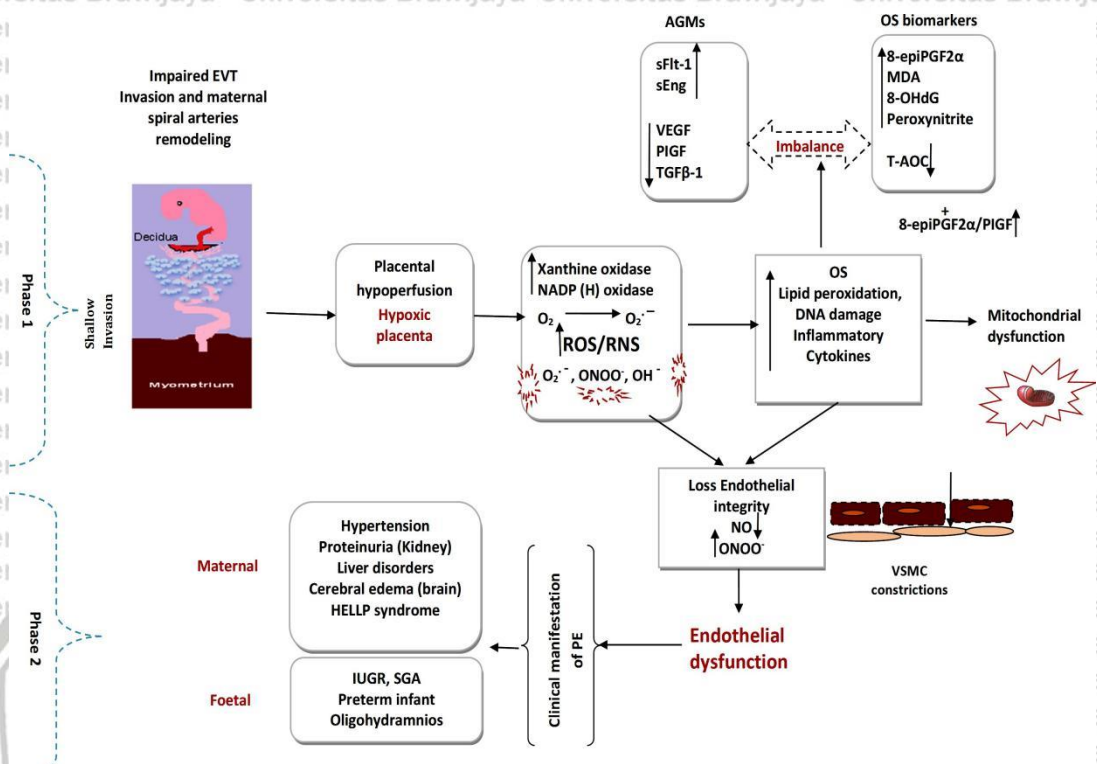


Gambar 2.2 Mekanisme yang menghubungkan stres oksidatif, mediator pertumbuhan angiogenik dan disfungsi endotel di preeklamsia (Anto *et al.*, 2018).

2.1.4.3 Peran mediator pertumbuhan angiogenesis (*Angiogenesis Growth Mediators-AGMs*)

Faktor pro-angiogenik seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *placental growth factor* (PIGF), *transforming growth factor beta-1* (TGFβ-1), endoglin and angiopoietin-2 disekresi oleh sel *uterine natural killer* (uNK) untuk memediasi angiogenesis, embriogenesis and vasculogenesis. Sedangkan *soluble fms-like tyrosine kinase-1* (sFlt-1), and *soluble Endoglin* (sEng) diketahui sebagai

molekul antiangiogenik yang mungkin mempengaruhi angiogenesis plasenta dan memperburuk kejadian disfungsi endotel pada preeklamsia (Anto *et al.*, 2018).



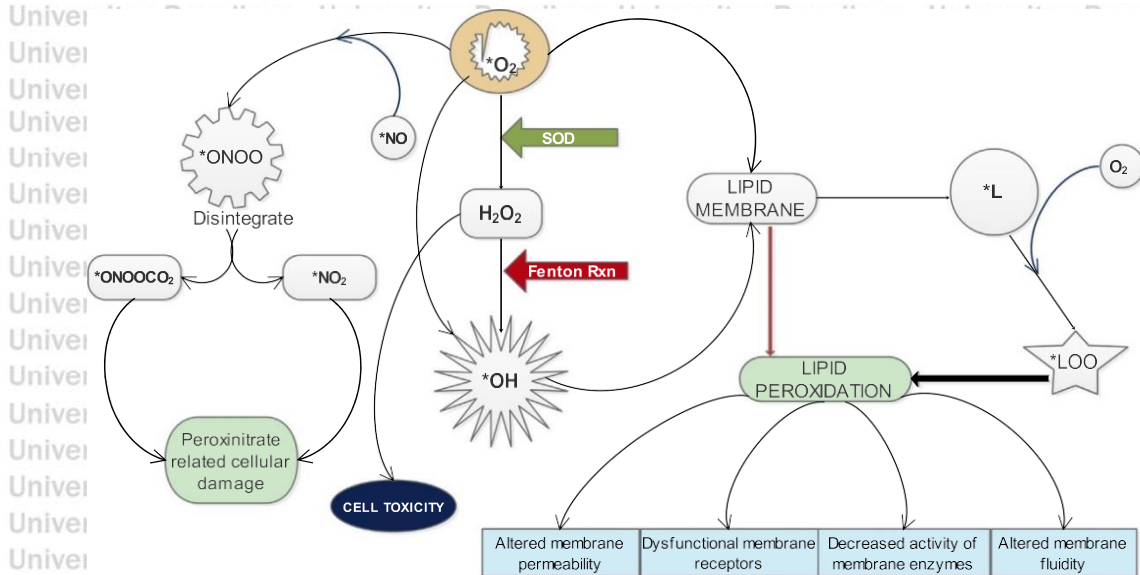
Gambar 2.3 Ringkasan hipotesis dari patogenesis dan biomarker yang tidak seimbang dari abnormal plasentasi, stres oksidatif dan AGM di preeklamsia (Anto *et al.*, 2018).

2.2 Stres oksidatif

Stres oksidatif didefinisikan sebagai status ketidakseimbangan antara produksi spesies oksigen reaktif (ROS) atau spesies nitrogen reaktif (RNS) dan kapasitas antioksidan endogen. ROS terdiri dari radikal bebas, seperti superoksida ($O_2^{\cdot -}$), radikal hidroksil (OH^{\cdot}), dan zat antara non radikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen tunggal (1O_2). RNS terdiri dari oksida nitrit (NO) yang mempunyai reaktivitas relatif rendah, dan turunannya yaitu peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$). Radikal bebas ini dihasilkan dari reaksi enzimatik (sistem sitokrom P450, rantai respirasi, proses fagositosis) maupun reaksi non-enzimatik (yang melibatkan reaksi oksigen dengan bahan organik), dan merupakan bagian dari metabolisme sel yang normal (Phaniendra *et al.*, 2015; Pizzino *et al.*, 2017; Valko *et al.*, 2007).

Radikal ini dibentuk demi alasan yang menguntungkan bagi metabolisme. Anion superoksida dan hidrogen peroksida bersifat sebagai mitogenik yang meninduksi laju replikasi DNA dan proliferasi sel (Ighodaro dan Akinloye, 2018).

Aktivitas mitokondria melalui *mitochondrial energy production pathway* (MEPP) sangat erat kaitannya dengan reaksi enzimatik yang berkaitan dengan pembentukan superoksida (O_2^-) kemudian kompleks I (NADH *dehydrogenase*) dan kompleks III (*ubiquinone cytochrome c reductase*) membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2). Radikal bebas ini terbentuk akibat reduksi oksigen pada rantai pengangkutan elektron pada mitokondria. Superoksida (O_2^-) yang terus menerus dihasilkan oleh proses metabolisme seluler, dapat secara langsung menghasilkan radikal hidroksil (OH^*) ($O_2^- + 2e^- \rightarrow OH^*$) ataupun proses reduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh SOD, ($H_2O_2 + e^- \rightarrow OH^*$). Meskipun hidrogen peroksida (H_2O_2) dibentuk sebagai produk dari reaksi enzimatik namun hidrogen peroksida (H_2O_2) dapat membentuk radikal hidroksil melalui jalur non-enzimatik seperti reaksi *Haber-Weiss* dan reaksi *Fenton*. Sedangkan superoksida (O_2^-) yang sangat reaktif dapat berikatan dengan spesies lain seperti oksida nitrit (NO^*) dan membentuk peroksinitrit ($ONOO^-$) sebagai oksidan yang kuat. Netrofil juga diketahui menghasilkan radikal superoksida melalui proses fagositosis melalui aktivitas oksidasi NADPH. Radikal hidroksil (OH^*) maupun superoksida (O_2^-) dapat berikatan pada membran lipid yang mendorong terbentuknya radikal lipid (L) yang dapat membentuk radikal lipid peroksida (LOO) yang dapat merusak membran lipid (Orrenius *et al.*, 2007; Lu *et al.*, 2018; Piedrafita *et al.*, 2015; Ighodaro dan Akinloye, 2018).



Gambar 2.4 Peran anion superoksida dalam membentuk radikal lainnya (Ighodaro dan Akinloye, 2018).

Radikal bebas adalah atom, ion atau molekul dengan elektron yang tidak berpasangan, yang mempunyai karakteristik ketidakstabilan tinggi dan reaktivitas besar. Radikal bebas ini dapat dengan mudah berikatan dengan molekul lain dan bertindak sebagai pengoksidasi karena mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Reaksi semacam ini menyebabkan terbentuknya produk radikal yang mampu meneruskan reaksi dan menyebabkan kerusakan irreversibel yang luas pada molekul DNA, protein dan membran lipid. Reaksi yang terjadi juga dapat menginduksi perubahan biokimia (de Lucca *et al.*, 2016; Chiarello *et al.*, 2020).

2.2.1 Stres oksidatif pada kehamilan normal

Kehamilan normal merupakan serangkaian peristiwa harmoni dan kompleks yang mencakup proses desidualisasi, plasentasi, hingga persalinan. Kehamilan diketahui dapat meningkatkan stres oksidatif, peristiwa yang dihasilkan oleh respons inflamasi sistemik normal. Pada prosesnya, respon ini menghasilkan sejumlah besar spesies oksigen reaktif (ROS) yang terlepas ke sirkulasi. Organ yang diketahui menjadi sumber utama produksi ROS adalah plasenta.

Peningkatan stres oksidatif pada kehamilan normal dapat berpotensi merusak

jaringan, namun, terjadi pula peningkatan produksi antioksidan diketahui sebagai bentuk penyeimbang. Stres oksidatif dapat terjadi jika produksi ROS melebihi pertahanan antioksidan, terutama di plasenta yang menyebabkan terjadi kerusakan jaringan (Chiarello *et al.*, 2020).

ROS dan RNS mempunyai peran dalam metabolisme seluler normal. Molekul ini berperan sebagai molekul signaling yang dibutuhkan dalam beberapa aktivitas metabolik (Pizzino *et al.*, 2017; Valko *et al.*, 2007). Pada kehamilan normal, ROS berperan dalam mendukung angiogenesis peningkatan regulasi dari faktor E26 *transformation-specific oncogene homolog 1* (Ets-1) yang mendorong invasi dan ekspresi dari *vascular endothelial growth factor* (VEGF) melalui peningkatan regulasi *Kruppel-like factor 8* (KLF8). KLF8 mendukung aktivasi dari *matrix methaloproteinase 9* (MMP-9). ROS juga dapat mengaktifasi *mitogen-activated protein kinases* (MAPK) dimana proses signaling MAPK dibutuhkan plasenta dalam morfogenesis, diferensiasi sel hingga pertumbuhan yang memadai. Invasi trofoblas yang tidak memadai dapat dikarenakan aktivitas MAPK yang berlebihan hingga berefek pada menurunnya aktivitas MMP. ROS dan RNS juga dapat mengoksidasi asam lemak di membran fosfolipid dan mengganggu fungsi fisiologisnya. Produk dari oksidasi lemak ini juga dapat mengoksidasi protein. ROS juga dapat menyebabkan kerusakan pada DNA (Pereira *et al.*, 2015; Torres, 2003; Mudgett *et al.*, 2000; Myatt dan Cui, 2004; Tian *et al.*, 2016).

Pada kehamilan normal juga terjadi stres oksidatif. Plasenta memainkan peran penting dalam keseimbangan oksidatif stres ini. Pada awal kehamilan, sel trofoblas terekspos oleh oksigen dengan konsentrasi yang rendah (2,5% O₂). Kondisi ini menjadi kunci utama dari peran plasenta. Kondisi hipoksia ini akan menginduksi *hypoxia-inducible factors* (protein HIF-1 α and HIF-2 α) yang akan memicu penurunan regulasi dari konsumsi oksigen mitokondria. Tujuan dari proses ini adalah menurunkan produksi ROS (produk dari mitokondria) untuk mencegah

efek teratogenik pada janin. Disisi yang lain HIF-1 α memicu peningkatan aktivitas dari eNOS sehingga meningkatkan produksi dari nitrit oksida (NO^{*}). Efek dari meningkatnya produksi nitrit oksida adalah menghambat apoptosis trofoblas, memicu proliferasi dan migrasi trofoblas, hingga mendukung keberhasilan proses invasi trofoblas (Cindrova-Davies *et al.*, 2014; Semenza, 2011).

Pada akhir trimester 1, aliran darah di ruang intervulus mulai meningkat. Atreri spiralis mulai diinvasi oleh *extravillous trophoblast* (EVT) lebih dalam sehingga merubah kondisi dari tekanan oksigen yang rendah menjadi lebih tinggi untuk mendukung diferensiasi trofoblas menjadi palsenta yang matur (Caniggia *et al.*, 2000). Stres oksidatif meningkat seiring dengan meningkatnya metabolisme untuk mendukung pertumbuhan janin, namun hal ini diseimbangkan dengan meningkatnya enzim antioksidan. Peningkatan produksi ROS terjadi di *syncytiotrophoblast* (STB). STB mempunyai mitokondria yang mendukung tugas penting dalam mentranfer zat nutrisi dan memproduksi hormon untuk menjaga kehamilan (Burton dan Jauniaux, 2004; Marseglia *et al.*, 2014). STB juga tidak mempunyai pertahanan antioksidan yang memadai seperti *manganese superoxide dismutase* (MnSOD). Membran plasma dari STB yang tersusun dari *unsaturated fatty acids* yang sangat rentan sebagai target dari ROS, menyebabkan kadar stres oksidatif tinggi pada STB. Kunci utama keseimbangan pada kehamilan normal, diperankan oleh antioksidan. Antioksidan lini pertama seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutation peroksidase (GPx) berfungsi sebagai reduktor, menonaktifkan dari radikal dan oksidan (Rodriguez *et al.*, 2004).

Pada kehamilan normal, evel antioksidan ini menunjukkan ritme sirkadian yang mempengaruhi pada level hipotalamus hingga ekspresi gen perifer yang berperan dalam memodulasi fungsi plasenta (Chiarello *et al.*, 2020; Waddell *et al.*, 2012).

2.2.2 Stres oksidatif pada kehamilan dengan preeklamsia

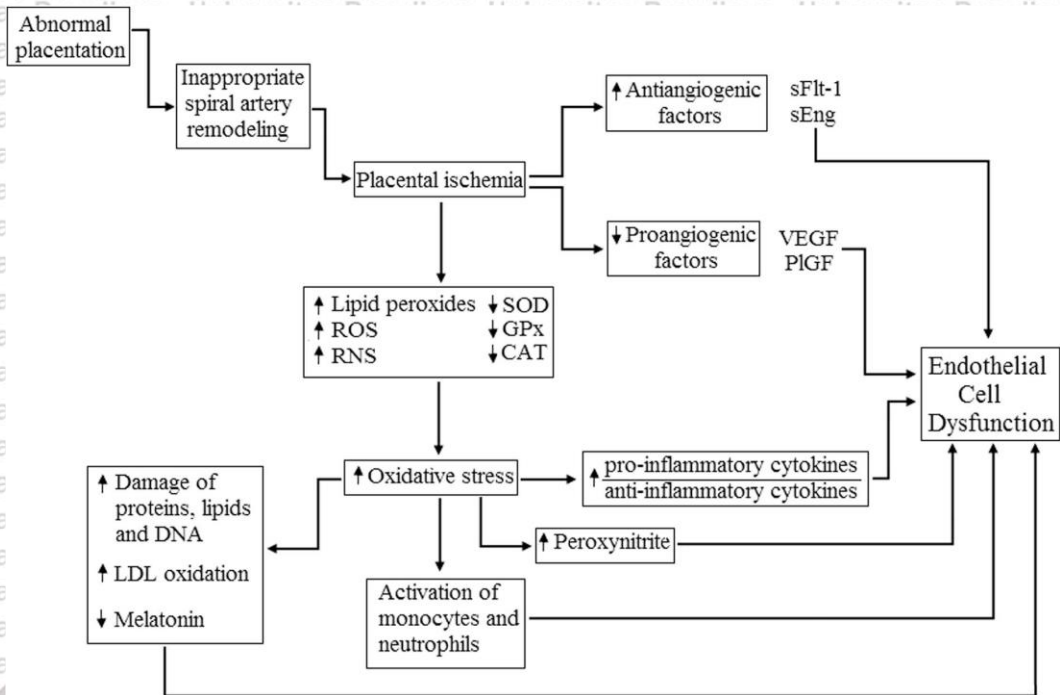
Preeklamsia dikaitkan erat dengan kegagalan invasi trofoblas dan kegagalan remodelling arteri spiralis. Proses ini menyebabkan menurunnya perfusi plasenta dan terjadinya hipoksia-reperfusi secara berulang. Hipoksia dan reperfusi ini merupakan stimulus yang kuat sebagai pengkonversi xantin dehidrogenase menjadi xantin oksidase. Xantin oksidase ini merupakan sumber yang dalam produksi superoksida (O_2^-) (Hung *et al.*, 2002). Disisi lain, oksidatif stres meningkatkan keberagaman dari *extracellular vesicles* (EVs) yang dapat memecah *damage-associated molecular pattern molecules* (DAMP) yang memicu pelepasan sitokin proinflamatori pada preeklamsia (de Lucca *et al.*, 2016; Chiarello *et al.*, 2020; Ferguson *et al.*, 2017).

Pada STB plasenta, eNOS dan NOS yang dapat diinduksi (iNOS) diekspresikan terutama di sel endotel. Nitrit oksida (NO^*) berperan menjaga keseimbangan vaskular dalam mengatur aliran darah uterus secara konstan. Tingginya produksi ROS pada stres oksidatif diketahui sebagai faktor yang dapat mengganggu fungsi dari sel endotel melalui oksidasi dari tetrahidrobiopterin (BH4). Tetrahidrobiopterin (BH4) merupakan kofaktor dari eNOS yang merubah komponen nitrogen pada L-Arginin menjadi nitrit oksida (NO^*). Menurunnya kadar tetrahidrobiopterin (BH4) menyebabkan terjadinya peningkatan eNOS di sel endotel plasenta yang lebih mendukung pada pembentukan superoksida (O_2^-) daripada nitrit oksida (NO^*). Superoksida (O_2^-) kemudian berikatan dengan nitrit oksida (NO^*) yang pada akhirnya menghasilkan peroksinitrit (ONOO^-) yang juga merupakan bentuk radikal (Chiarello *et al.*, 2020; Higashi *et al.*, 2009; Förstermann dan Sessa, 2012).

Dua hal yang terkait erat pada preeklamsia adalah iskemia plasenta dan aktivasi sel endotel maternal. Perfusi plasenta yang tidak adekuat menyebabkan gangguan vaskular yang berhubungan dengan respon inflamasi dan stres oksidatif. Defek invasi trofoblas menyebabkan abnormal ekspresi dari reseptor

endotel. VEGF dan reseptornya *fms like tyrosine kinase* (sFlt-1), (Flt-1) sebagai pengatur transformasi fenotip dari sel epitel menjadi sel endotel pada proses invasi trofoblas. VEGF yang mengaktifasi Flt-1, pada akhirnya meningkatkan produksi nitrit oksida (suatu vasodilator poten). Pada preeklamsia, penurunan VEGF dan reseptornya menyebabkan defek pada sintesa nitrit oksida (NO^{*}) yang menyebabkan terjadinya vasokonstriksi dan penurunan perfusi plasenta, yang menyebabkan kerusakan yang diperantarai stres oksidatif (Zhou *et al.*, 2002).

Soluble fms like tyrosine kinase (sFlt-1) merupakan faktor regulator angiogenesis yang berkaitan dengan faktor angiogenik dan mitogenik yang kuat seperti VEGF dan PlGF. Ikatan antara VEGF dengan reseptornya (Flt-1 and Flt-2) dihambat oleh sFlt-1. Disisi lain, endoglin yang merupakan ko-reseptor dari *transforming growth factor* (TGF) yang berefek pada meningkatnya permeabilitas vaskular yang menyebabkan hipertensi (Tamura *et al.*, 2003). Penurunan produksi nitrit oksida (NO^{*}), prostasiklin, produksi tromboksan dan endotelin yang meningkat, serta reaktivitas vaskular terhadap Angiotensin-II yang meningkat diketahui merupakan hasil dari disfungsi endotel pada preeklamsia (Ferguson *et al.*, 2017; Chiarello *et al.*, 2020).



Gambar 2.5 Patofisiologi dari Preeklamsia.

Keterangan: Plasentasi yang abnormal memicu penurunan perfusi uteroplasenta hingga iskemia plasenta yang menyebabkan produksi ROS, RNS dan lipid peroksida meningkat. Disisi lain, kapasitas antioksidan seperti SOD, Glutation peroksidase (GPx) dan Katalase (CAT) menurun yang berkembang pada kondisi stres oksidatif pada preeklamsia (Chiarello *et al.*, 2020).

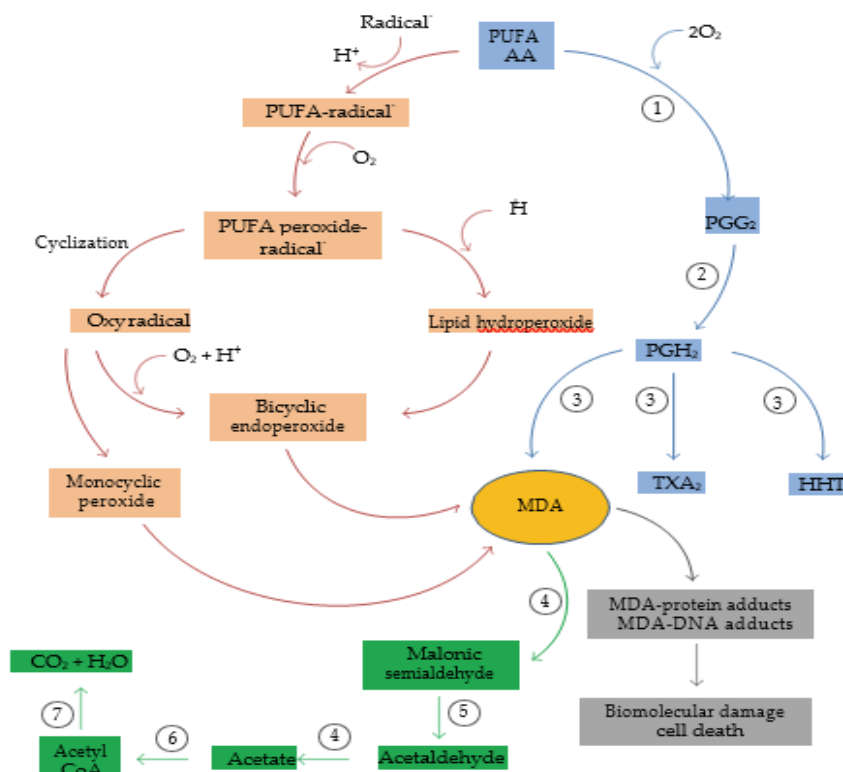
2.3 Malondealdehida (MDA)

2.3.1 Pembentukan MDA

Malondealdehida (MDA) adalah produk akhir yang dihasilkan dari penguraian asam arakhidonat dari *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFAs). Penguraian ini melalui proses yang disebut dengan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah proses yang terjadi selama stres oksidatif dan merupakan reaksi berantai yang menghasilkan senyawa yang bersifat merusak sel. Proses ini terjadi akibat tersedianya radikal bebas yang cukup dan berlebih yang memicu reaksi selanjutnya. Produk yang dihasilkan dari lipid peroksidasi diantaranya peroksida (LOOH), hirdoksinonenal (HNE) dan malondialdehyda (MDA). Asam arakhidoat (*polyunsaturated omega-6 fatty acid*) yang berada di membran sel merupakan salah satu dari PUFAs merupakan target utama peroksidasi lipid. MDA dihasilkan

dalam jumlah yang besar melalui induksi asam arakhidonat pada platelet. MDA merupakan produk utama dari metabolisme asam arakhidonat dan dapat dijadikan sebagai penanda utama stres oksidatif (Khoubnasab Jafari *et al.*, 2015) (Ayala *et al.*, 2014) (Valko *et al.*, 2007).

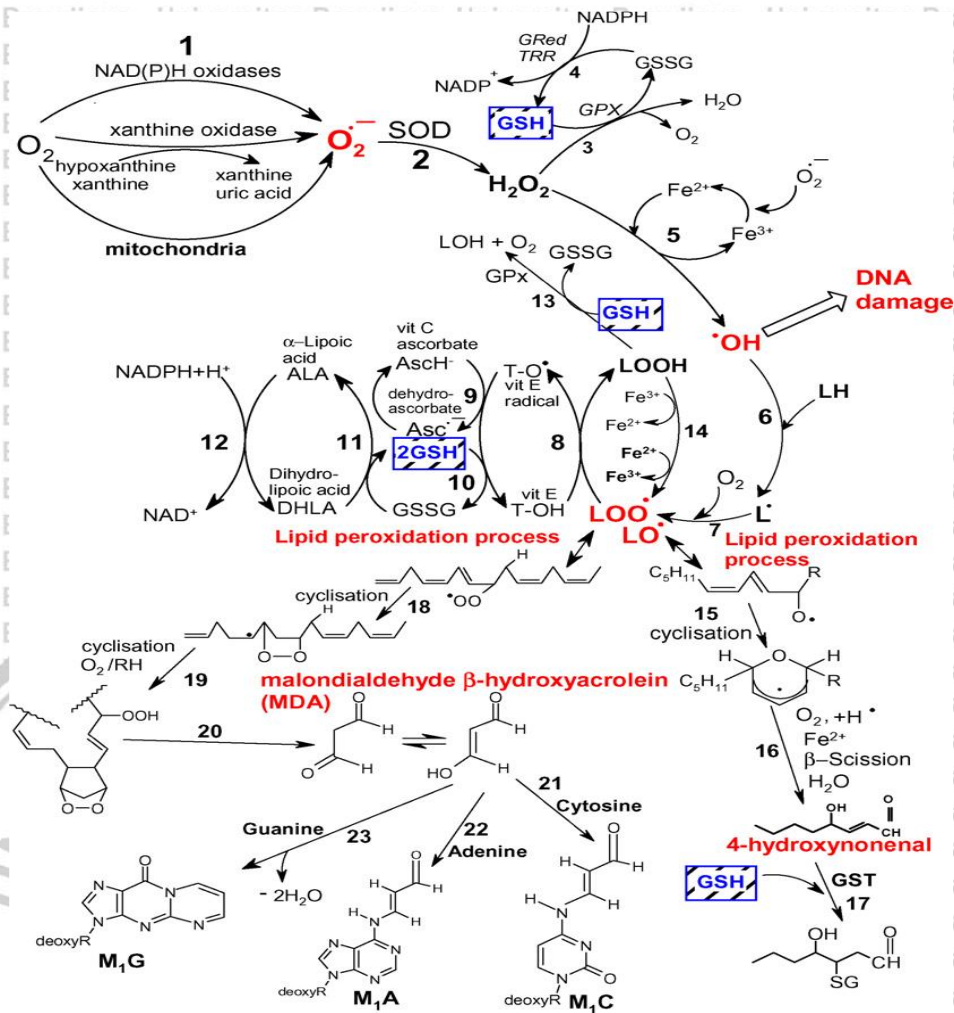
MDA dapat berperan sebagai *signaling messenger* dan meregulasi beberapa ekspresi gen. Beberapa penelitian yang terbatas menunjukkan bahwa MDA berperan dalam meregulasi *glucose-stimulated insulin secretion* (GSIS), yang pada kadar menengah hingga tinggi dapat mempengaruhi ekspresi gen dan pembentukan regulator kunci dari GSIS. MDA dihasilkan dari proses enzimatik melalui proses biosintesis dari tromboksan A₂ (TXA₂). Tromboksan A₂ dibentuk dari *Tromboxan A₂ synthase* pada prostaglandin H₂ (PGH₂) melalui metabolisme asam arakhidonat. MDA juga diproduksi melalui reaksi non-enzimatik. Selama proses peroksidasi lipid, terbentuk senyawa campuran lipid hidroperoksida dimana proses pemecahan senyawa ini menghasilkan produk akhir yaitu MDA. MDA dapat dimetabolisme secara enzimatik maupun dapat bereaksi dengan protein pada sel maupun jaringan atau bahkan DNA yang dapat menghasilkan suatu kerusakan biomelecular. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jalur biokimia yang mungkin untuk metabolisme MDA melibatkan oksidasi dari MDA yang dilakukan oleh mitokondria aldehyd dehidrogenase yang kemudian diikuti dekarboksilasi untuk menghasilkan asetaldehida. Asetaldehida ini kemudian akan dioksidasi oleh aldehyd dehidrogenase yang akan dipecah menjadi asetat dan selanjutnya diubah menjadi CO₂ dan H₂O. MDA diketahui bersifat mutagenik dan karsinogenik (Ayala *et al.*, 2014; Valko *et al.*, 2007).



Gambar 2.6 Pembentukan dan metabolisme MDA.

Keterangan: MDA merupakan produk sampingan yang dapat dibentuk melalui dekomposisi dari asam arakhidonat (*arachidonic acid-AA*) dan PUFAs melalui biosintesis dari Tromboxan A₂ (TXA₂) dan 12-I-hydroxy-5,8,10-asam heptadekatrienoik (HHT) (jalur panah warna biru) atau proses non enzimatis melalui siklus endoperoxida yang dihasilkan selama proses peroksidasi lipid (jalur panah warna merah). Satu bentuk MDA dapat dimetabolisme secara enzimatis. Enzim kunci yang berperan dalam pembentukan dan metabolisme dari MDA yaitu (1), *prostacyclin hydroperoxidase* (2), *thromboxane synthase* (3), *aldehyde dehydrogenase* (4), *decarboxylase* (5), *acetyl CoA synthase* (6), and *tricarboxylic acid cycle* (Ayala *et al.*, 2014)

Produk samping lain dari lipid peroksidasi adalah hidroksinonenal (HNE), yang diketahui mempunyai sifat toksitas yang tinggi meskipun sifat mutageniknya rendah. MDA dapat berikatan dengan basa DNA seperti Guanin, Alanin dan Cytosin dan membentuk ikatan tambahan (*DNA adduct*) seperti M₁G, M₁A, M₁C. Ikatan DNA ini terdeteksi pada beberapa penyakit. Ikatan ini terbentuk melalui proses peroksidasi lipid (Valko *et al.*, 2007).



Gambar 2.7 Jalur pembentukan ROS, proses peroksidasi lipid hingga produksi MDA serta pembentukan DNA adducts oleh MDA (Valko *et al.*, 2007).

2.3.2 MDA pada kehamilan normal

Chamy Picó *et al.* (2006) menyebutkan bahwa lipoperoksidasi pada kehamilan terjadi peningkatan dibandingkan dengan wanita sehat yang tidak hamil. Kapasitas antioksidan juga mengalami peningkatan yang dihipotesiskan merupakan suatu proses kompensasi keseimbangan dalam kerusakan dan pertahanan. Pada semua sel dan jaringan, memang terjadi lipid peroksidasi. Namun proses ini terjadi pada level yang rendah. Pada kondisi yang normal hal ini dipengaruhi oleh mekanisme pertahanan antioksidan yang mengontrol proses peroksidasi ini (Sayyed dan Sontakke, 2013). Sebagai pedoman umum, kadar MDA pada orang

normal $1,04 \pm 0,43 \mu\text{mol/l}$. Peningkatan kadar MDA dikorelasikan dengan beberapa patogenesis penyakit, termasuk salah satunya adalah preeklamsia (Siswonoto, 2008).

2.3.3 MDA pada preeklamsia

Stres oksidatif pada plasenta diketahui sebagai pemicu terjadinya peroksidasi lipid hingga disfungsi endotel yang dikaitkan dengan proses terjadinya preeklamsia. Plasenta dianggap sebagai sumber utama yang dikorelasikan dengan peningkatan kadar MDA pada preeklamsia. Proses ini juga dikaitkan dengan kegagalan invasi trofoblas, sehingga terjadi iskemia-reperfusi yang meningkatkan produksi ROS. Produksi ROS yang meningkat ini memediasi proses peroksidasi lipid hingga akhirnya meningkatkan produknya yaitu MDA (Gupta *et al.*, 2005; de Lucca *et al.*, 2016).

Pada wanita hamil dengan preeklamsia, produk lipoperoksidasi mengalami peningkatan (terutama MDA). Selain itu kadar ketersediaan dari nitrit oksida (NO) mengalami penurunan terutama pada plasma dan plasenta, yang mana dikarenakan peningkatan aktivitas *nitric oxide synthase* (NOS). NO dapat diaktivasi oleh anion superoksida sehingga dihasilkan produk radikal bebas yang kuat yaitu anion peroksinitrit (ONOO^-). NO berkompetisi dengan SOD untuk bereaksi dengan superoksida, dimana reaksi NO dengan superoksida lebih cepat. Kadar peroksinitrik yang berlebihan menyebabkan tingginya sintesa prostaglandin yang merupakan produk dari peroksidasi lipid dari asam arakhidonat. Prostaglandin ini yang bertanggung jawab pada vasokonstriksi pembuluh darah dan memicu terjadinya hipertensi (Chamy Picó *et al.*, 2006)

Singh, Dahiya and Bharti (2011) dalam studi meta-analisis menyebutkan bahwa terjadi peningkatan kadar serum MDA secara signifikan pada pasien dengan preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal. Beberapa penelitian lain menyebutkan bahwa kadar MDA meningkat pada kondisi hipertensi. Pada wanita

hamil dengan hipertensi ditemukan adanya peningkatan kadar MDA dan menurunnya aktivitas katalase (Khoubnasab Jafari *et al.*, 2015).

Chamy Picó *et al.* (2006) menyebutkan ada suatu proses kompensasi keseimbangan antara kerusakan yang terjadi karena peningkatan produksi ROS selama kehamilan dengan mekanisme pertahanan antioksidan. Namun, mekanisme keseimbangan ini terganggu pada kehamilan dengan preeklamsia.

Pada penelitian ini diketahui MDA meningkat pada kehamilan dengan preeklamsia dan peningkatannya berkorelasi positif dengan keparahan dari preeklamsia. Kadar serum MDA baru kembali pada kadar normal 120 hari setelah persalinan untuk semua kelompok.

2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi

Antioksidan adalah suatu senyawa yang berperan melindungi sel dari bahaya ROS melalui pendonoran elektron pada senyawa yang bersifat oksidan. Proses ini terjadi melalui beberapa cara diantaranya dengan pengikatan oksigen dan atau pelepasan hydrogen. Molekul antioksidan dapat berperan dalam berbagai tingkatan sebagai garis pertahanan antioksidan. Antioksidan ini dapat berperan sebagai pencegah radikal, *scavenger*, dan perbaikan kerusakan yang diakibatkan oleh radikal (Musarofah, 2015; Ighodaro dan Akinloye, 2018).

2.4.2 Jenis Antioksidan

Antioksidan dapat dikategorikan sesuai dengan lini pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu:

1. Antioksidan lini pertama

Antioksidan lini pertama berperan untuk menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas maupun spesies yang reaktif. Antioksidan jenis ini mempunyai sifat yang sangat cepat dalam menetralkan setiap molekul yang

berpotensi menjadi radikal bebas maupun radikal bebas yang dapat berpotensi membentuk radikal lainnya. Enzim yang menjadi kunci yang mengatur antioksidan jenis ini diantaranya: superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathion peroxidase (GPx), serta *metal ion binding proteins* seperti transferrin. Enzim ini berperan untuk menghilangkan radikal superoksida, kemudian melakukan pemecahan terhadap molekul H_2O_2 dan hidroperoksida menjadi molekul yang relatif tidak berbahaya. Bekerjanya enzim tersebut sangat dipengaruhi oleh mineral-mineral, seperti mangan (Mn), seng (Zn), tembaga (Cu) yang terdapat dalam makanan dan minuman yang dikonsumsi (Musarofah, 2015; Ighodaro dan Akinloye, 2018).

2. Antioksidan lini kedua

Kelompok antioksidan ini seringkali disebut *scavenger*, yang berperan dalam mengumpulkan radikal aktif. Antioksidan jenis ini menetralkan radikal bebas melalui pendonoran elektron, sehingga dihasilkan radikal baru namun mempunyai sifat yang berefek rendah menimbulkan kerusakan. Radikal baru yang terbentuk ini kemudian dengan mudah di netralisir oleh antioksidan lain dalam kelompok ini. Antioksidan tersebut antara lain asam askorbat, glutathion, alfa tokoferol (vitamin E) dan ubiquinol.

3. Antioksidan lini ketiga

Antioksidan lini ini hanya berperan setelah terjadinya kerusakan akibat radikal. Antioksidan level ini adalah enzim *de novo* yang memperbaiki kerusakan membran baik pada DNA, protein, dan lipid. Peran utama antioksidan ini mengenali, merusak, dan menghilangkan protein, DNA dan lipid yang teroksidasi atau rusak karena reaksi dengan radikal bebas. Contoh antioksidan jenis ini antara lain enzim perbaikan DNA (polimerase, glikosilase dan nuklease), enzim proteolitik di sitosol dan mitokondria (proteinase, protease dan peptidase).

4. Antioksidan lini keempat

Antioksidan jenis ini melibatkan mekanisme adaptasi yang digunakan dalam permintaan persinyalan yang dibutuhkan dalam produksi radikal bebas. Sinyal yang dihasilkan dari pembentukan radikal bebas ini diharapkan dapat memicu pembentukan dan penyaluran antioksidan yang tepat pada tempat yang dibutuhkan (Ighodaro and Akinloye, 2018).

Tabel 2.1 Jenis antioksidan

Enzim Antioksidan	Nama Kimia	Penangkap Agen Oksidan	Karakteristik
SOD	Superoksida dismutase	O_2^-	Mengkatalisis konversi O_2^- menjadi O_2 dan mengurangi senyawa reaktif seperti H_2O_2
GSH-Px	Glutation peroksidase	H_2O_2	Mengkatalisis H_2O_2 menjadi air dan molekul oksigen
CAT	Katalase	H_2O_2	Mengkatalisis H_2O_2 menjadi air dan molekul oksigen

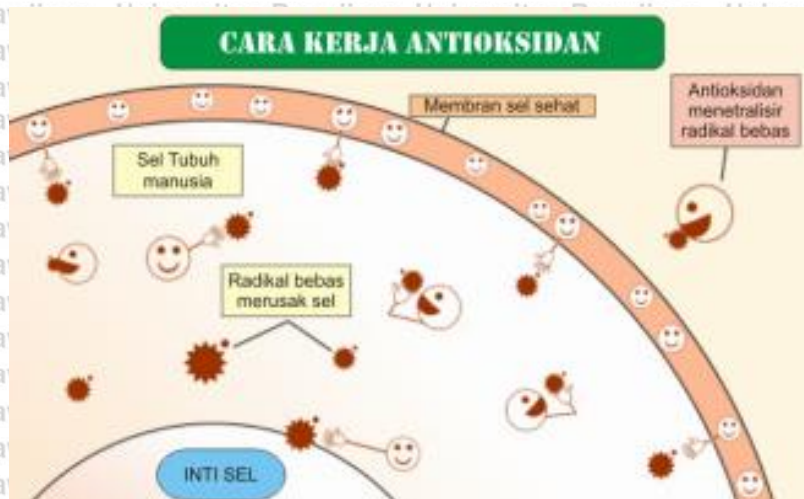
Sumber : (Rodrigo, 2009)

2.4.3 Mekanisme Kerja Antioksidan

Antioksidan bekerja dengan dua fungsi, yaitu ;

1. Fungsi utama yaitu sebagai pemberi atom hidrogen.

Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil daripada radikal lipida.

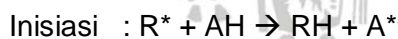


Gambar 2.8 Cara Kerja Antioksidan.

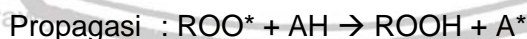
Keterangan: Antioksidan berperan menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan elektron sehingga membuatnya stabil kembali (Musarofah, 2015).

2. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan.

Antioksidan dapat memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk yang lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi dan propagasi.



Radikal lipida



Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida

Radikal – radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain dalam membentuk radikal lipida baru. Enzim – enzim antioksidan menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus rantai

(polimerasi) radikal bebas dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.

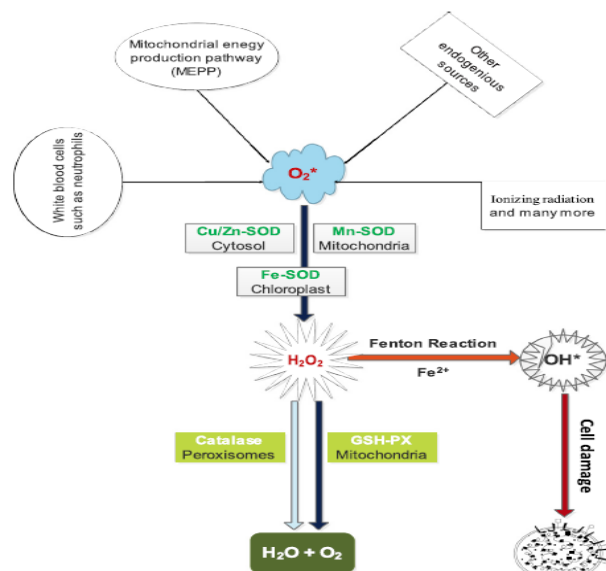
Enzim katalase dan GPx bekerja dengan mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , sedangkan enzim SOD efisien dalam mengkatalisis dismutase ROS pada semua sel aerob dengan melibatkan transfer satu atau dua elektron (Musarofah, 2015; Winarsi, 2007).

2.4.4 Superoksida Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (SOD) merupakan antioksidan lini pertama dan antioksidan yang paling berperan dalam pertahanan terhadap ROS. SOD mengkatalisis pelepasan dua molekul anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. Peran SOD dalam proses katalisis ini sangat penting mengingat anion superoksida yang mempunyai sifat merusak. SOD merupakan golongan metaloenzim, sehingga membutuhkan kofaktor logam untuk melakukan aktivitasnya. Ion metal yang seringkali berikatan dengan SOD diantaranya ion besi (Fe), ion tembaga (Cu) dan ion mangan (Mn). Berdasarkan ikatan dengan kofaktornya, maka SOD dikategorikan dalam 3 bentuk yaitu *Copper Zinc SODs* (CuZn SOD-SOD1) yang dikodekan oleh gen SOD1, yang terletak di sitosolik, *manganese SODs* (Mn-SOD, SOD 2) yang dikodekan oleh gen SOD2, terbanyak di ekspresikan oleh mitokondria, dan SOD ekstraseluler (contohnya SOD, SOD 3) yang berisi tembaga atau zink yang dikodekan oleh gen SOD3. Hampir seluruh sel di tubuh manusia mensekresi SOD ekstraseluler, termasuk sel pada plasenta. SOD3 ini sangat penting perannya dalam pertahanan antioksidan melwan radikal bebas yang dikaitkan dengan timbulnya penyakit terutama penyakit vaskular (Ighodaro dan Akinloye, 2018; Perkins, 2006).

Superoksida dismutase, katalase dan glutathione peroksidase tidak hanya mempunyai peran untuk menangkal radikal bebas, namun juga berperan dalam perlindungan kapasitas antioksidan. Metabolisme sel menghasilkan ROS dalam bentuk anion superoksida maupun radikal oksigen tunggal. SOD kemudian

mengkatalisis perubahan anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen (O_2). Hidrogen peroksida (H_2O_2) bersifat toksik jika terakumulasi dalam tubuh dalam jumlah yang besar. Disisi lain, hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan adanya ion Fe^{2+} diubah menjadi radikal hidroksil ($\cdot OH$). Untuk mencegah menumpuknya hidrogen peroksida dan kesempatan hidrogen peroksida untuk diubah menjadi radikal hidroksil, maka katalase di peroksisom berperan untuk memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan molekul oksigen (O_2). Namun, katalase tidak ditemukan di mitokondria, sehingga reduksi. Namun, katalase tidak ada di mitokondria, sehingga tugas untuk mereduksi hidrogen peroksida (H_2O_2) untuk menjadi molekul air dan molekul oksigen diperankan oleh Glutation Peroksidase (GPx). Reaksi berantai ini merupakan suatu mekanisme pertahanan antioksidan lini pertama dalam menghadapi anion superoksida yang sifatnya radikal dan diproduksi terus menerus oleh metabolisme (Ighodaro dan Akinloye, 2018).



Gambar 2.9 Mekanisme pertahanan lini pertama antioksidan dalam menghadapi ROS (Ighodaro dan Akinloye, 2018).

2.4.5 SOD pada kehamilan normal

Kehamilan normal menunjukkan aktivitas SOD di plasma lebih tinggi dibandingkan dengan wanita yang tidak hamil dan aktivitas SOD ini meningkat seiring dengan meningkatnya usia gestasi. Jaringan plasenta mengekspresikan ketiga bentuk SOD, dan meningkatnya aktivitas SOD pada sirkulasi maternal merefleksikan peran plasenta. Plasenta dalam metabolismenya, menghasilkan ROS dan sebagai bentuk keseimbangan maka selama kehamilan terjadi peningkatan aktivitas SOD. Tujuan utama tidak lain adalah meningkatkan kapasitas antioksidan dan mengurangi kejadian stres oksidatif (Chamy Picó *et al.*, 2006; Perkins, 2006).

2.4.6 SOD pada Preeklamsia

Pada kehamilan dengan preeklamsia, kegagalan invasi trofoblas menyebabkan sirkulasi uteroplasenta dengan resistensi tinggi yang berkontribusi pada hipoksia-reperfusi yang menyebabkan produksi ROS. Produksi ROS seharusnya dapat dikompensasi dengan peningkatan produksi antioksidan. Namun, pada preeklamsia, kompensasi ini tidak dapat terjadi, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara produksi ROS dan pertahanan antioksidan (Chamy Picó *et al.*, 2006; Perkins, 2006). Ekspresi yang berlebihan dari antioksidan ini seharusnya terjadi pada kehamilan normal maupun preeklamsia. SOD dianggap sebagai mekanisme utama pertahanan terhadap ROS dan berfungsi melindungi dari kerusakan karena stres oksidatif (Llurba *et al.*, 2004). Namun, dari beberapa penelitian menunjukkan hal yang berbeda.

Karacay *et al.* (2010) menunjukkan kadar *Total Antioxydan Status* (TAS) lebih rendah pada wanita dengan preeklamsia dibandingkan dengan wanita hamil normal. TAS menggambarkan kapasitas absorbansi radikal oksigen atau kapasitas sampel plasma yang menghambat reaksi oksidasi. Kadar antioksidan yang berubah ini dihipotesiskan bahwa sistem pertahanan antioksidan sedang

bekerja menyebabkan menurunnya kadar akibat penggunaan antioksidan. Chamy Picó *et al.* (2006) dalam penelitiannya menunjukkan aktivitas SOD yang lebih rendah pada kehamilan dengan preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal. Aktivitas SOD yang rendah pada kehamilan dengan preeklamsia dapat dihipotesiskan karena berkurangnya induksi produksi dari SOD. Berkurangnya induksi SOD ini dikaitkan dengan meningkatnya ikatan anion superoksida dengan nitrit oksida sehingga membentuk peroksinitrit dalam jumlah yang besar dan disaat yang sama dapat menjelaskan menurunnya nitrit oksida (NO). Nitrit oksida berkompetisi dengan SOD dalam berikatan dengan anion superoksida. Namun kecepatan anion superoksida berikatan dengan nitrit oksida tiga kali lebih cepat.

Ketika superoksida ($O_2^{\cdot-}$) mengalahkan SOD untuk berikatan dengan nitrit oksida (NO^{\cdot}) maka terjadi kelebihan produksi peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) yang bertanggung jawab pada reaksi peradangan, peningkatan produksi prostaglandin yang menghambat relaksasi vaskular yang memicu terjadi hipertensi (Chamy Picó *et al.*, 2006; Kadri, 2010). Menurunnya aktivitas enzimatis SOD pada preeklamsia dapat disebabkan karena kurangnya induksi untuk produksi SOD, karena superoksida ($O_2^{\cdot-}$) lebih cepat berikatan dengan nitrit oksida (NO^{\cdot}) sehingga menghasilkan peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) yang tinggi. Penurunan kapasitas antioksidan juga dicurigai akibat adanya peningkatan pemanfaatan antioksidan sebagai bentuk mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas (Sayyed dan Sontakke, 2013; Chamy Picó *et al.*, 2006).

2.5 Statin

2.5.1 Gambaran umum dan jenis statin

Statin merupakan golongan kompetitif penghambat dari *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme reductase* (HMG-CoA) yang merupakan enzim kunci yang mengatur sintesis kolesterol. Mevastatin merupakan golongan pertama

statin. Turunan statin selanjutnya adalah lovastatin, pravastatin, dan simvastatin.

Atorvastatin, fluvastatin dan rosuvastatin kemudian dibuat dalam bentuk sintetis (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018).

2.5.2 Cara Kerja Statin

Statin tergolong substansi aktif yang berfungsi untuk menurunkan *low-density lipoprotein* (LDL) kolesterol di dalam darah. Saat ini, statin telah menjadi obat yang umum diberikan terutama untuk penyakit kardiovaskuler. Tidak hanya menurunkan LDL kolesterol, statin juga mampu meningkatkan *high-density lipoprotein* (HDL) kolesterol. Statin juga mempunyai efek pleiotropik yang tidak ada kaitannya dengan regulasi lemak dan kolesterol (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018).

2.5.3 Efek pleiotropik statin

Statin dianggap mempunyai efek pleiotropik yang tidak ada kaitannya dengan metabolisme kolesterol. Beberapa penelitian menunjukkan statin dapat Regenerasi sel endotel vaskular meningkat setelah pemberian statin dikarenakan memperbaiki disfungsi endotel dengan melindungi sel endotel vaskular dan menstimulasi regenerasinya. adanya peningkatan kemampuan sel progenitor endotel yang bermigrasi dari sumsum tulang belakang ke tempat sel endotel yang rusak. Proses ini akhirnya dapat meningkatkan angiogenesis (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa statin mempunyai efek antioksidan. Efek antioksidan statin bekerja dalam mempengaruhi sintesis NO. Pada awal prosesnya, statin menyebabkan adanya peningkatan regulasi reseptor dari *endothelial nitric-oxide synthase* (eNOS), sehingga eNOS menjadi aktif dan memodulasi dari stabilitas mRNA dari eNOS. Kunci penting dari melindungi sel endotel vaskular adalah melalui sintesis NO yang merupakan vasodilator yang poten sekaligus antitrombotik. Bentuk efek antioksidan statin lainnya dikorelasikan

dengan menurunnya produksi ROS sehingga menurunnya radikal bebas yang dapat mengoksidasi lipid (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018).

Statin juga mempunyai efek anti-inflamasi. Efek ini ditunjukkan dalam bentuk mekanisme yang berbeda dalam menanggapi respon kekebalan tubuh.

Pemberian statin menunjukkan adanya penurunan ekspresi dari *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan penurunan kadar *C-reactive protein* (CRP)

yang merupakan penanda inflamasi. Statin juga disenut dapat meningkatkan ekspresi enzim yang berperan sebagai anti-inflamasi dan antioksidatif, yaitu

Hmox-1. Pemberian statin meningkatkan regulasi dari Hmox-1 yang berefek pada

penghambatan HMG-CoA *reductase*. Melalui mekanisme ini, terjadi

penghambatan produksi sFlt-1 and sEng yang berperan pada disfungsi endotel.

Oleh karena itu statin dianggap mampu membalik kondisi disfungsi endotel dan

ketidakseimbangan faktor angiogenik yang berkontribusi dalam patogenesis

preeklamsia (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018; Fiona C. Brownfoot *et al.*, 2015).

Statin juga mempunyai efek antikogulasi melalui modulasi sistem koagulasi

sehingga menurunkan agregasi platelet. Proses ini melibatkan banyak faktor

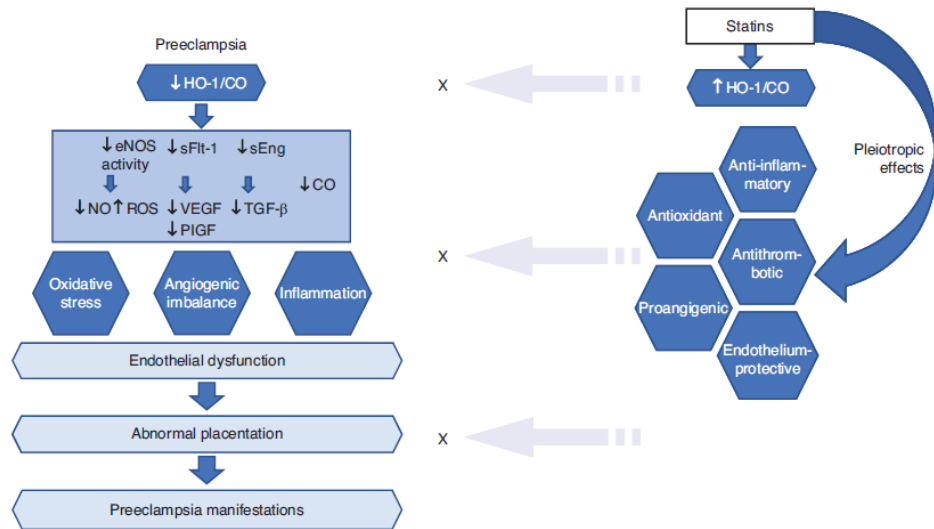
koagulasi seperti trombin, faktor VII, faktor Va and faktor von Willebrand, faktor XIII

dan protrombin serta sistem fibrinolisis. Statin juga dapat bertindak sebagai agen

imunodulator melalui penghambatan ekspresi dari molekul *major histocompatibility*

complex tipe II (MHC tipe II) yang berada pada permukaan sel endotel (Gajzlerska-

Majewska *et al.*, 2018).



Gambar 2.10 Skema patomekanisme preeklamsia dan efek pleiotropik statin yang berpengaruh pada terapi preeklamsia (Gajzlerska-Majewska, Bomba-Opon and Wielgos, 2018).

2.5.4 Keamanan statin pada kehamilan

Statin termasuk obat kategori X pada kehamilan menurut *Food and Drug Administration* (FDA), dan menurut FDA, kehamilan merupakan kontraindikasi penggunaan statin karena dianggap toksik pada embrio maupun fetus. Beberapa data yang tersedia menyebutkan bahwa paparan lovastatin, cerivastatin and fluvastatin pada kehamilan menyebabkan malformasi skeleta dan defek pada sistem saraf. Simvastatin juga disebut mempunyai efek samping pada pembentukan plasenta. Namun, data ini juga didapatkan berdasarkan data penelitian dengan jumlah populasi yang terbatas. Namun, pravastatin disebut mempunyai profil farmakokinetik khusus. Pravastatin merupakan golongan hidrofilik (larut air), tidak seperti statin lainnya (atorvastatin, simvastatin and lovastatin) yang bersifat lipofilik. Profil farmakokinetik inilah yang membuat pravastatin mempunyai tingkat transfer yang rendah ke plasenta, yang membuat pravastatin mempunyai keamanan yang lebih baik dibandingkan jenis statin

lainnya yang berpengaruh pada efek samping yang dapat ditimbulkan terutama pada embrio atau fetus (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018).

2.5.5 Farmakokinetik Pravastatin

2.5.5.1 Absorpsi

Konsumsi pravastatin secara oral membuat pravastatin secara cepat diabsorpsi. Waktu (t_{max}) yang dibutuhkan untuk mencapai konsentrasi serum maksimal (C_{max}) berkisar 1 jam. Pravastatin mempunyai sifat hidrofilik (kelarutan pada air) yang tinggi sehingga pelarutan di saluran gastrointestinal tidak berpengaruh pada penyerapannya. Namun dalam kondisi asam, pravastatin menjadi tidak stabil. Pravastatin kemudian diubah menjadi isomer dan senyawa terlaktonisasi. Bagian atas usus halus menjadi organ penyerap utama pravastatin.

Penyerapan pravastatin membutuhkan bantuan dari *proton-coupled carrier-mediated transport* untuk dapat menembus membran usus karena pravastatin adalah senyawa hidrofilik. Tingkat penyerapan pravastatin tergolong rendah, hanya berkisar 34%. Pravastatin yang terabsorpsi, kemudian setengahnya diambil oleh liver untuk melewati metabolisme lintas pertama. Beberapa proses inilah yang menjadi penyebab rendahnya bioavailabilitas pravastatin (Hatanaka, 2000).

Permeabilitas pravastatin yang tergolong rendah untuk dapat melewati membran sel termasuk pada plasenta manusia diduga karena sifat hidrofiliknya. Disisi lain, baik *uptake* dan *efflux transporter* berkontribusi pada distribusi pravastatin hingga menembus membran sel, yang diantaranya adalah plasenta manusia. Data juga menunjukkan bahwa pravastatin menghambat substrat untuk *efflux transporter* pada plasenta. *Efflux transporter* bertugas menghambat transfer obat dari sirkulasi maternal ke fetus dan diduga menjadi pelindung fetus dari substrat yang beracun baik eksogenus maupun endogenus (Esteve-Valverde *et al.*, 2018).

2.5.5.2 Distribusi

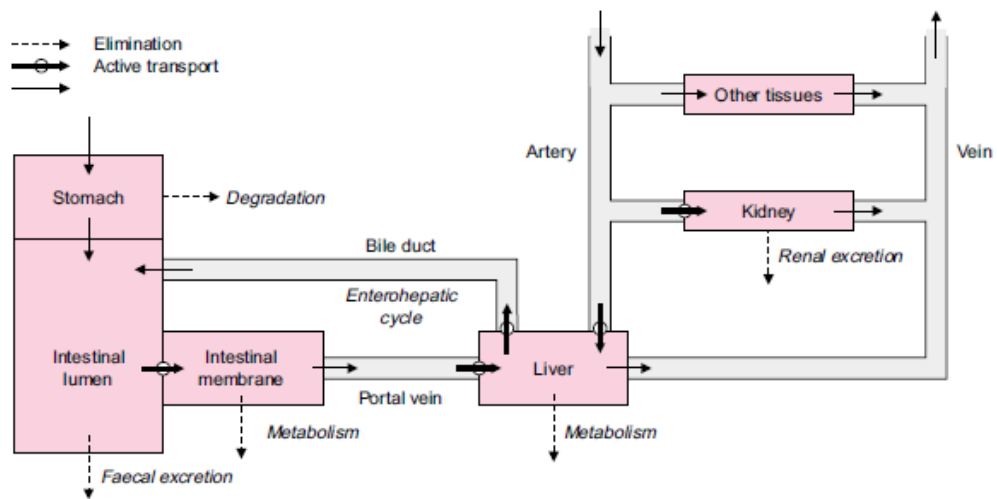
Tingkat kemampuan pravastatin dalam berikatan dengan ikatan protein sebesar 43-54%. Volume distribusi pravastatin mencapai 0,46 L/kg. Setelah diserap oleh usus halus, pravastatin didistribusikan ke paling banyak ke liver, sisanya menuju ke usus halus dan ginjal. Sistem penyerapan asam empedu melalui *sodium-independent* memainkan peran penting dalam proses pendistribusiannya pada liver. Distribusi yang cukup tinggi di usus halus dikarenakan adanya ekskresi empedu (Hatanaka, 2000).

2.5.5.3 Metabolisme

Setelah pemberian oral maupun injeksi, hanya sekitar 30-50% pravastatin yang dimetabolisme. Setengah dari pravastatin yang diabsorbsi kemudian melalui vena porta untuk mencapai liver. Liver kemudian mengekstraksi pravastatin yang dikaitkan dengan ekskresi empedu. Proses ini melibatkan sistem transport aktif. Sebelum diabsorbsi, pravastatin mengalami biotransformasi dan isomerisasi yang merupakan proses untuk menghasilkan hasil metabolit yang utama yaitu $3\alpha,5\beta$ -*Dihydroxy-pravastatin* and $3''$ -*hydroxypravastatin*. Hasil metabolit terbanyak ditemukan pada plasma, urine dan feses. Hasil metabolit terbanyak diproduksi melalui degradasi kimia saat sebelum absorpsi dibandingkan oleh sitokrom P450 di liver (Hatanaka, 2000).

2.5.5.4 Ekskresi

Jalur eliminasi utama dari pravastatin melalui ginjal dan liver. Laju eliminasi pravastatin lebih cepat dibandingkan dengan laju penyerapannya sehingga tidak ditemukan akumulasi pravastatin meskipun diberikan secara berulang. Pravastatin diekskresikan dalam bentuk obat yang utuh dalam bentuk urin dan feses (Hatanaka, 2000).



Gambar 2.11 Ringkasan farmakokinetik dari pravastatin (Hatanaka, 2000).

2.5.6 Farmakodinamik Pravastatin

Efek pravastatin digunakan sebagai salah satu penghambat sintesa kolesterol. Namun pravastatin merupakan agen terlemah dibandingkan dengan agen statin lainnya (Saad *et al.*, 2016). Pravastatin juga mempunyai sifat hepatoselektif. Efek pravastatin dalam menghambat sintesa kolesterol mempunyai jalur yang rumit. Kerja utama dari penghambat HMG-CoA *reductase* pada liver bukan pada darah. Efek farmakologis pravastatin lebih utama terjadi akibat adanya induksi pengikatan kembali reseptor LDL pada permukaan sel, daripada bekerja secara langsung menghambat sintesa kolesterol (Hatanaka, 2000).

2.5.7 Pravastatin pada preeklamsia

Pravastatin telah diketahui mempunyai efek pleiotropik yang spesifik seperti anti-inflamasi, efek antioksidan, antitrombotik. Efek pleiotropik ini kemudian dipertimbangkan dalam pencegahan dan pengobatan preeklamsia. Pravastatin digolongkan obat kategori X pada kehamilan, karena kurangnya data klinis terhadap efek pada wanita hamil dan janin. Pemilihan pravastatin didasarkan pada profil farmakokinetik khusus yaitu sifatnya yang larut air (hidrofilik). Plasenta

merupakan organ yang keseluruhan membran disusun dari lipid. Karena sifatnya hidrofiliknya yang tinggi (lipofilik yang rendah), transfer pravastatin dari ibu ke janin melalui plasenta sangat terbatas. Pravastatin merupakan golongan hidrofilik (larut air), tidak seperti statin lainnya (atorvastatin, simvastatin and lovastatin) yang bersifat lipofilik.

Profil farmakokinetik inilah yang membuat pravastatin mempunyai tingkat transfer yang rendah ke plasenta. Menurut beberapa penelitian, hanya 18% pravastatin yang melewati plasenta barrier hingga masuk ke sirkulasi fetus. Profil farmakokinetik inilah yang membuat pravastatin mempunyai keamanan yang lebih baik dibandingkan jenis statin lainnya yang berpengaruh pada efek samping yang dapat ditimbulkan terutama pada embrio atau fetus.

Beberapa penelitian melaporkan bahwa statin jenis lain diantaranya lovastatin, cerivastatin and fluvastatin menyebabkan defek pada sistem saraf pusat dan malformasi skletal. Simvastatin juga disebutkan mempunyai efek pada pembentukan plasenta pada studi in vitro, mengingat simvastatin bersifat hidrofobik (tidak larut air). Beberapa penelitian kohort menyimpulkan bahwa statin yang bersifat lipofilik berisiko meningkatkan malformasi janin; berlawanan dengan statin hidrofilik, termasuk pravastatin, belum dikaitkan dengan peningkatan risiko.

Beberapa studi praklinis melaporkan hasil yang menjanjikan terkait efek pleiotropik pravastatin dalam memperbaiki penyakit isufisiensi plasenta dan didasarkan pada sifat hidrofilik pravastatin, membuatnya menjadi strategi terapi alternatif untuk preeklamsia (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018; Fiona C. Brownfoot *et al.*, 2015; Girardi, 2017a)

Pravastatin telah diujicoba diberikan pada model hewan preeklamsia. Dari hasil ujicoba ini didapatkan adanya penurunan tekanan darah arteri, penurunan sVEGFR-1 (sFlt-1) and sEng dan peningkatan PlGF dan VEGF yang berefek pada peningkatan fungsi vaskular. Pemberian terapi pravastatin pada tikus bunting

model preeklamsia memberi efek yang menguntungkan pada keturunannya. Efek tersebut diantaranya peningkatan berat lahir, volume otak beserta fungsinya kordinasi, keseimbangan dan sistem vestibular (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018; Girardi, 2017a).


Patogenesis preeklamsia dihipotesiskan melibatkan stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan kapasitas antioksidan, terutama antioksidan endogen. Karenanya, kandidat terapeutik pada preeklamsia mempertimbangkan senyawa yang dapat meningkatkan keterlibatan respon antioksidan seluler terutama antioksidan endogen. Carrepeiro *et al.* (2011) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa statin meningkatkan ekspresi gen dari SOD. Brownfoot *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa pemberian pravastatin meningkatkan lokalisasi Nrf2 pada inti sel pada sel kultur trofoblast. Nfr2 diketahui sebagai faktor transkripsi yang berpindah ke inti dan berikatan dengan gen dimana respons elemen transkripsinya terlibat dalam respons antioksidan seluler. Regulasi Nfr2 diperankan oleh *Hemeoxygenase-1* dimana peningkatan regulasi dari Nfr2 ini diinduksi oleh pemberian pravastatin. Pravastatin terbukti meningkatkan ekspresi mRNA *Hemeoxygenase-1* di HUVECS. Namun, induksi dari protein antioksidan selama stres oksidatif bergantung pada aktivasi Nrf-2. Gen yang terbukti diatur oleh faktor transkripsi ini melalui pengontrolan ekspresi pengkodean gen, diantaranya glutation peroxidase, superoksida dismutase, and tioredoksin (Brownfoot *et al.*,

2015; Liebert, 2005). Nfr-2 mempunyai efek yang nyata terhadap keseimbangan dari ROS dan RNS melalui regulasi pertahanan antioksidan yang sangat kompleks. Secara detail, proses ini melibatkan beberapa mekanisme yang saling terkait, diantaranya induksi katabolisme dari superoksida dan peroksida melalui SOD, peroxiredoxin (Prx), dan Glutation peroxide (GPx), serta sintesis faktor pereduksi, yaitu glutation (GSH). Nrf2 mengatur banyak enzim dan protein untuk

meregulasi pensinyalan redoks yang terlokalisasi di kompartemen tertentu di dalam sel (Ma, 2013).

2.6 *Rattus norvegicus*

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Rattus norvegicus* galur wistar. Tikus menjadi pilihan karena mempertimbangkan kemudahan dan biaya pemeliharaan, mudah ditangani serta mudah dalam proses pengambilan darahnya (Kusumawati, 2016). Tikus galur wistar memiliki sifat yang tidak agresif dan jinak sehingga memudahkan dalam perawatannya serta mudah dikembangbiakkan (Geonawan dan Lesmana, 2020). Tikus putih dapat diklasifikasikan menurut taksonominya sebagai berikut (Hedrich, 2019):



Dunia : *Animalia*
Filum : *Chordata*
Subfilum : *Vertebrae (craniata)*
Kelas : *Mammalia*
Subkelas : *Thera*
Infrakelas : *Euthera*
Ordo : *Rodentia*
Subordo : *Myomorpha*
Family : *Muridae*
Genus : *Rattus*
Species : *Rattus norvegicus*

Masa hidup tikus berkisar 2,5-3,5 tahun dengan berat betina sekitar 250-300 gram. Volume darah tikus berkisar 50-70 ml/Kg. Detak jantung berkisar 330-480x/menit, laju pernafasan 85x/menit, dan suhu tubuh normal antara 35,9-37,5°C.

Tekanan darah sistolik normal tikus wistar betina adalah antara 84-134 mmHg (Nugroho *et al.*, 2018; Geonawan dan Lesmana, 2020). Tikus adalah hewan yang

tidak mengenal musim dalam berkembang biak. Pada usia 8-9 minggu tikus sudah mulai bisa dikawinkan. Tikus betina akan siap kawin setiap 4-5 hari, dimana fase ini dinamakan *in heat* atau tikus betina reseptif terhadap tikus jantan. Proses ini terjadi umumnya pada saat proestrus dan estrus (ovulasi). Tikus betina akan menunjukkan perilaku *lordosis response*, dimana tikus akan nampak seperti melengkungkan tubuhnya ke depan. Saat proses kawin (*matting*), jika proses kopulasi berhasil, maka akan ditemui *copulatory plug* pada perineum tikus, yang menempel 12-24 jam setelah proses kopulasi. *Plug* ini merupakan campuran antara semen kering dengan cairan vagina tikus yang membentuk gumpalan cairan. Masa kebuntingan tikus berkisar 21-23 hari. Jumlah anak yang dihasilkan rata-rata 6-13 ekor. Dalam proses perkembangbiakan, perlu diperhatikan beberapa proses yang terjadi pada tikus betina:

1. Fase proestrus

Fase ini berlangsung 12 jam, ditandai dengan terjadinya peningkatan hormon FSH yang menstimulasi perkembangan folikel. Folikel yang berkembang akan menghasilkan esterogen dan progesteron.

2. Fase estrus

Fase ini berlangsung selama 12 jam, dan terjadi saat malam hari. Pada fase ini, tikus betina dalam kondisi subur atau dalam masa ovulasi (*in heat*). Pada fase ini terjadi lonjakan LH seiring dengan matangnya folikel dominan, sehingga terjadi ovulasi.

3. Fase metestrus

Fase ini berlangsung 24 jam, dimana mulai terbentuk corpus luteum. Progesteron mulai diproduksi dan esterogen mulai menurun. Lonjakan LH kedua akan terjadi jika terjadi konsepsi, yang berguna untuk menstimulasi produksi progesteron dari korpus luteum.

4. Fase diestrus

Fase ini berlangsung 2-3 hari, dimana hormon progesteron cenderung naik karena diproduksi secara dominan oleh korpus luteum. Jika tidak terjadi pembuahan, maka akan terjadi atrofi dari korpus luteum

5. Fase anestrus

Fase ini disebut dengan fase istirahat. Melatonin disekresi oleh kelenjar pineal guna mengontrol aktivitas hipotalamus dalam mensekresi GnRH (Geonawan dan Lesmana, 2020).

2.7 Tikus Model Preeklamsia

Ada beberapa cara yang digunakan untuk membuat tikus model preeklamsia, guna memahami penyebabnya hingga menguji pengobatan dan melakukan pencegahan pada preeklamsia (Shu *et al.*, 2018).

1. Model Preeklamsia dengan Menurunkan Tekanan Perfusi Uterus (*Reduced uterine perfusion pressure-RUPP*)

Model ini menggunakan klip perak yang ditempatkan pada arteri ovarium kanan dan kiri dan pada infrarenal aorta pada tikus bunting setelah 14 hari kebuntingan.

Penurunan perfusi uterus secara kronis menyebabkan meningkatnya tekanan arteri sekitar 20-25 mmHg. Model RUPP ini juga menunjukkan adanya peningkatan aktivasi dan disfungsi endotel. Pada model ini diketahui adanya peningkatan endotelin melalui reseptor Angiotensin-I. Selain itu terjadi pula peningkatan TNF- α , serum interleukin-6 (IL-6), serta peningkatan sFlt-1 dan sEng baik diserum maupun di plasenta yang menunjukkan kekhasan pada preeklamsia (Sunderland *et al.*, 2011; Jena *et al.*, 2020).

2. Model Preeklamsia Antagonisme Angiogenesis

Pemberian *soluble FMS like tyrosine kinase-1* (sFlt-1) dengan menggunakan vektor adenovirus pada tikus yang bunting menyebabkan hipertensi, proteinuria

dan endoteliosis pada glomerulus. Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa peningkatan sFlt-1 dan sEng menyebabkan terjadinya preeklamsia. sFlt-1 yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya preeklamsia melalui pengikatan baik VEGF maupun PlGF. Ikatan ini pada akhirnya menyebabkan terhambatnya proses persinyalan di pembuluh darah (Sunderland *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2007).

Pemberian adenovirus yang mengekspresikan sEng baik yang tunggal maupun kombinasi dengan adenovirus yang mengekspresikan sFlt-1 pada tikus menunjukkan adanya peningkatan *mean arterial pressure* (MAP) dan proteinuria.

Peningkatan MAP lebih tinggi terjadi pada adenovirus yang mengekspresikan sFlt-1, dan pemberian kombinasi keduanya menyebabkan terjadinya sindrom seperti preeklamsia yang parah (Sunderland *et al.*, 2011; Jena *et al.*, 2020).

3. Model preeklamsia dengan peradangan

Pemberian TNF- α dalam bentuk infus dosis rendah pada tikus bunting menyebabkan terjadinya hipertensi dan penurunan aliran ke ginjal. Proses terjadinya hipertensi pada model ini dikaitkan dengan menurunnya nNOS (*neuronal nitric oxide synthase*) dan menurunnya iNOS (*inducible nitric oxide synthase*) sehingga terjadi peningkatan kontraksi dan menurunnya relaksasi vaskular. Pemberian IL-6 dalam menginduksi preeklamsia pada sifatnya hampir sama dengan pemberian infus TNF- α . Pemberian IL-6 menyebabkan peningkatan tekanan darah sistolik sekitar 30 mmHg dan peningkatan protein urine yang dikaitkan dengan penurunan NO endotel yang berkontribusi pada kontraksi vaskular. Pemberian autoantibodi agonis yaitu *Angiotensin Type 1 Receptor* (AT1-AAs) menyebabkan peningkatan tekanan darah, terjadinya proteinuria dan disfungsi endotel pada glomerulus. Model ini juga menyebabkan meningkatnya kadar sFlt-1 dan sEng serta TNF- α (Sunderland *et al.*, 2011).

4. Model preeklamsia dengan model vasokonstriksi

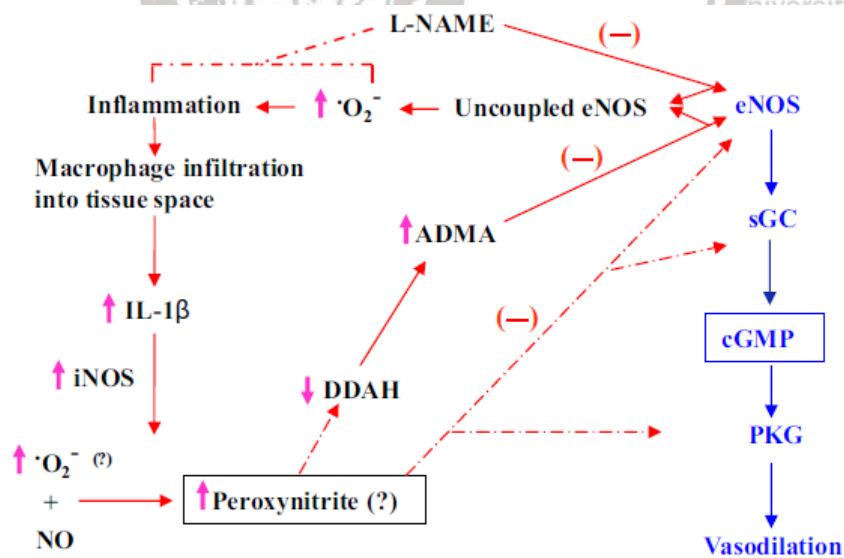
Model ini umumnya menggunakan penghambatan pada NOS (*Nitric Oxide Synthase*) yang menggunakan L-arginin maupun sejenisnya. Penghambatan secara kronis dari NOS menyebabkan terjadinya hipertensi, vasokonstriksi renal hingga proteinuria. Pada kera, penghambatan NOS menyebabkan peningkatan MAP sebanyak 6-7 mmHg pada pertengahan dan akhir kehamilan (Sunderland *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2019). Penghambatan NOS menggunakan *nitro-L-Arg-metil ester* (L-NAME), yang merupakan penghambat dari NO *synthase* (NOS). Shu *et al.* (2018) dalam penelitiannya menggunakan 3 dosis L-NAME untuk menginduksi sindroma mirip preeklamsia, yaitu 40 mg/Kg/hari (dosis rendah), 75 mg/Kg/hari (dosis sedang), dan 125 mg/Kg/hari (dosis tinggi) mulai usia gestasi ke-9. Dengan pemberian L-NAME ditemukan adanya peningkatan tekanan darah, proteinuria, gangguan endotel yang parah serta meningkatnya sFlt-1, terutama pada dosis medium/ sedang. NO diketahui adalah vasodilator poten mempunyai peran yang penting dalam meregulasi tekanan vaskular selama kehamilan .

5. Model preeklamsia dengan model transgenik

Model tikus preeklamsia dengan menggunakan metode transgenik dihasilkan dari perkawinan tikus betina transgenik yang mengekspresikan angiotensinogen manusia dengan tikus jantan transgenik yang mengekspresikan renin manusia. Hasilnya adalah tikus betina yang bunting dengan menunjukkan peningkatan tekanan darah pada akhir kebuntingan serta gejala mirip sindroma preeklamsia. Hal ini dikarenakan adanya renin manusia yang disekresikan pada sirkulasi oleh plasenta. Pada model ini juga ditemukan adanya peningkatan AT1-AAAs yang khas pada kehamilan dengan preeklamsia (Sunderland *et al.*, 2011).

2.8 N(G)-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME)

Penggunaan model hewan preeklamsia merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mempelajari mulai dari patogenesis hingga pengobatan pada preeklamsia (Shu *et al.*, 2018). Salah satu metode yang digunakan adalah dengan penghambatan NO. Nitrit Oksida (NO) merupakan suatu vasodilator yang dirilis dari stimulasi *endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS). Metode penghambatan NO dengan L-NAME merupakan model sederhana pertama karena asumsi bahwa penghambatan eNOS menyebabkan defisiensi NO sehingga model ini digunakan untuk mempelajari penyakit vaskuler. Selain memiliki afinitas yang tinggi terhadap eNOS, L-NAME juga dapat menghambat isoform lain dari eNOS pada konsentrasi yang tinggi (Leo *et al.*, 2015). Penghambatan pada eNOS menghasilkan kondisi patologis yang menyerupai pada kondisi preeklamsia seperti peningkatan tekanan darah, vasokonstriksi renal, proteinuria, IUGR dan trombositopenia (Talebianpoor dan Mirkhani, 2012).



Gambar 2.12 Mekanisme kerja L-NAME

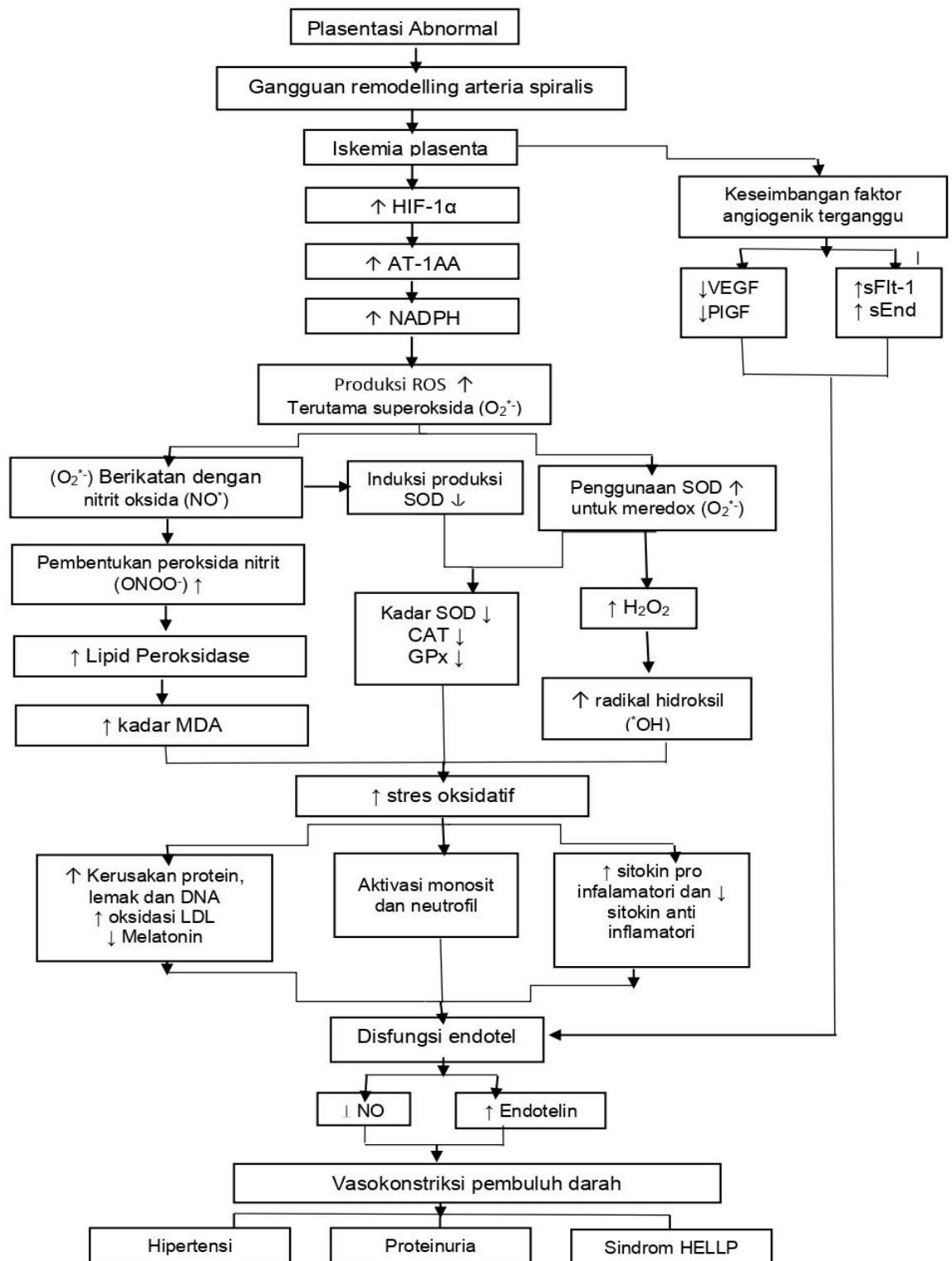
Keterangan: Teks biru dan panah menunjukkan sinyal NO fisiologis. Panah merah dengan garis lurus menunjukkan efek langsung, panah merah dengan garis putus-putus menunjukkan efek tidak langsung, panah naik menunjukkan peningkatan, panah bawah menunjukkan penurunan, dan (-) menunjukkan penghambatan (Leo *et al.*, 2015).

Pada gambar 2.12 dijelaskan mengenai mekanisme kerja L-NAME. L-NAME dihidrolisis menjadi *N-nitro-L-Arginine* (L-NNA). L-NNA merupakan penghambat kompetitif bagi eNOS. Berdasarkan beberapa bukti, L-NAME dan metabolit dari L-NNA menunjukkan selektivitas untuk eNOS melalui iNOS yang dapat menjelaskan mengapa aktivitas iNOS masih dipertahankan selama pemberian L-NAME. Penghambatan kompetitif "uncoupled" eNOS menghasilkan eNOS yang memproduksi superoksida dibandingkan dengan memproduksi NO. Level superoksida yang meningkat menyebabkan meningkatnya respon peradangan yang ditandai dengan meningkatnya IL-1 β . iNOS merupakan agen poten untuk menghasilkan eNOS. Pemberian L-NAME secara terus menerus tidak hanya menyebabkan peningkatan level superoksida vaskular, namun menyebabkan aktivasi iNOS sehingga NO diproduksi dalam jumlah yang besar. Namun NO yang diproduksi ini berikatan dengan superoksida membentuk peroksinitrit. Peroksinitrit mempunyai efek seluler yang juga dapat menghambat aktivitas beberapa protein seperti eNOS dan aktivitas *soluble guanylyl cyclase* (sGC) yang menyebabkan timbulnya vasokonstriksi. NO yang dihasilkan dari iNOS dan dikonversi menjadi peroksinitrit merupakan proses yang krusial yang menjadi penyebab disfungsi vaskular pada model ini. Shu *et al.* (2018) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa tikus yang diberikan perlakuan dengan L-NAME mengalami peningkatan tekanan darah, peningkatan ekskresi albumin, endoteliosis yang parah, ekspansi mesangial dan peningkatan rasio sFlt-1/PlGF sebagai penanda preeklamsia.

BAB 3

KERANGKA TEORI

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka teori

Preeklamsia bermula disebabkan adanya plasentasi yang abnormal dimana terjadi kegagalan invasi trofoblas pada saat proses implantasi sehingga terjadi gangguan pada transformasi dan remodelling arteria spiralis. Konsekuensi dari kejadian ini adalah plasenta mengalami penurunan perfusi menyebabkan hipoksia-iskemia reperfusi hingga isufisiensi plasenta. Keadaan plasenta yang hipoksi menginduksi HIF-1 α , suatu protein yang mengatur ekspresi protein angiogenik pada kejadian preeklamsia dan dapat menghalangi invasi trofoblas, merangsang pelepasan sitokin angiogenik seperti AT-1AA (Angiotensin 1-Agonis Antibody). AT-1 AA bertanggung jawab terhadap produksi ROS melalui NADPH oksidase. Aktivasi NADPH diyakini mempunyai peranan penting dalam produksi ROS terutama superoksida. Superoksida yang terbentuk akan dineutrasisir oleh sistem antioksidan di dalam tubuh, terutama oleh SOD sebagai antioksidan endogen lini pertama. SOD mempunyai kemampuan untuk merubah superoksida ($O_2^{\cdot-}$) menjadi O_2 dan H_2O_2 kemudian H_2O_2 secara cepat dineutrasisir oleh CAT. Namun H_2O_2 berpotensi untuk berinteraksi dengan berbagai molekul, terutama dengan ion Fe^{2+} yang kemudian memecah H_2O_2 menjadi radikal hidroksil ($\cdot OH$) dan membentuk peroksida lemak yang dapat merusak membran sel yang berkontribusi pada meningkatnya produk akhir lipid peroksida yaitu MDA.

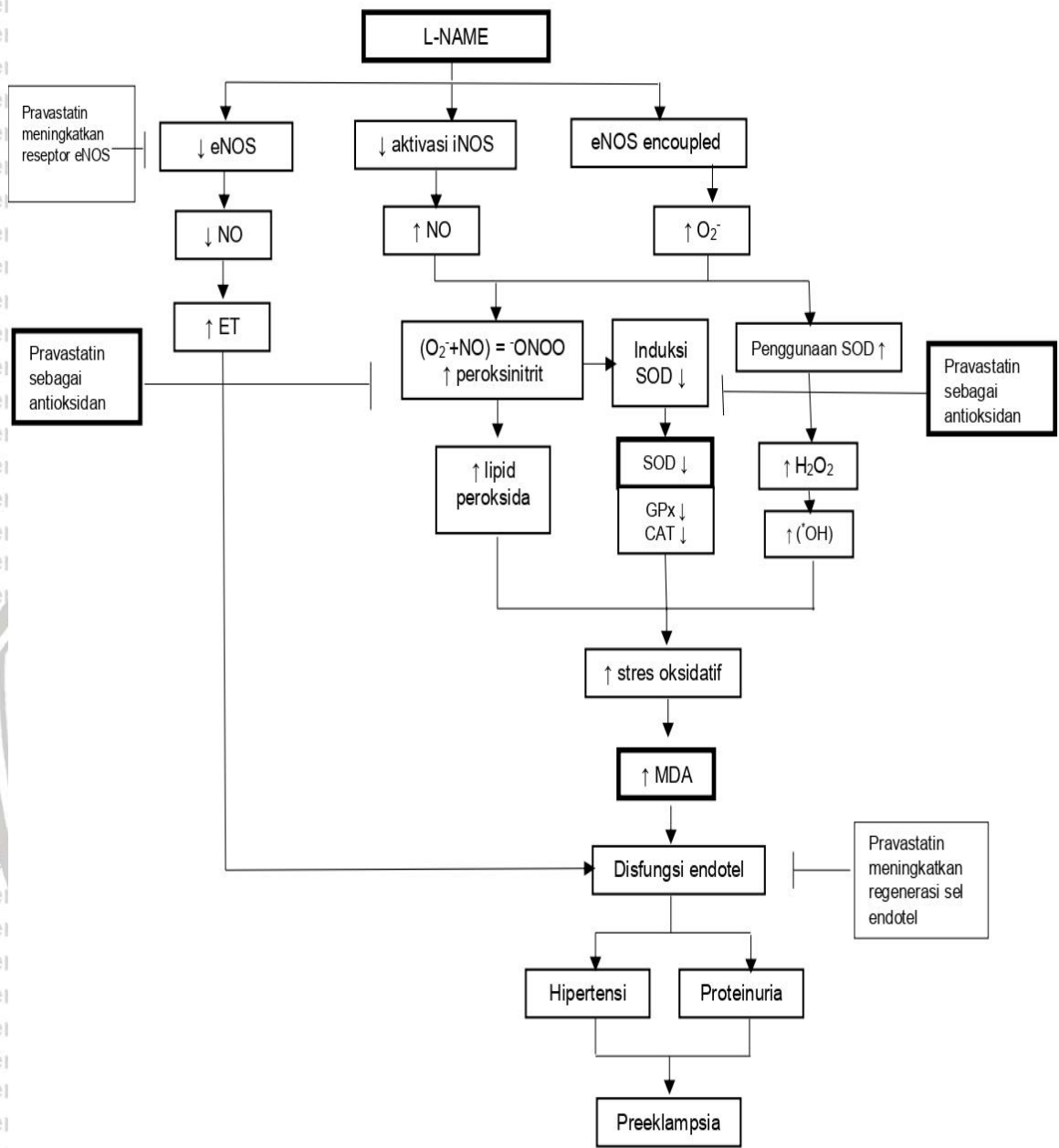
Tingginya ROS yang diproduksi menyebabkan adanya peningkatan pemanfaatan antioksidan sebagai bentuk mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas. Adanya defisiensi aktivitas SOD menyebabkan nitrit oksida (NO^{\cdot}) lebih cepat berikatan dengan superoksida ($O_2^{\cdot-}$) membentuk peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) yang merupakan agen pengoksidasi yang kuat untuk membentuk peroksida lipid. SOD berkompetisi dengan superoksida ($O_2^{\cdot-}$) dalam berikatan dengan nitrit oksida (NO^{\cdot}). Ketika superoksida ($O_2^{\cdot-}$) mengalahkan SOD untuk berikatan dengan nitrit oksida (NO^{\cdot}) maka terjadi kelebihan produksi peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) yang bertanggung jawab pada meningkatnya peroksida lemak. Hal ini juga

mengakibatkan induksi dalam produksi SOD menurun, ketika superoksida lebih memilih berikatan dengan nitrit oksida (NO^{*}).

Meningkatnya lipid peroksida, radikal hidroksil dan menurunnya kadar antioksidan menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi ROS dan antioksidan yang disebut dengan stres oksidatif. Konsekuensi dari stres oksidatif pada preeklamsia diantaranya meningkatnya kerusakan protein, lemak dan DNA, meningkatnya oksidasi LDL, menurunnya produksi melatonin, aktivasi monosit dan neutrofil yang berujung pada meningkatnya sitokin inflamatori. Kompleks kejadian ini menyebabkan terjadinya disfungsi endotel yang ditandai dengan menurunnya kadar NO (vasodilator kuat) dan meningkatnya endotelin (vasokonstriktor kuat) sehingga terjadi vasokonstriksi pembuluh darah dan memicu terjadinya hipertensi.



3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka teori

Keterangan:

- : diteliti
- : menyebabkan
- | : menghambat

L-NAME menghambat eNOS menyebabkan menurunnya produksi NO yang akan menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah dan meningkatkan tekanan darah. L-NAME juga menyebabkan terbentuknya eNOS *uncoupled* yang akan meningkatkan produksi ion superoksida. Pemberian L-NAME juga mengaktivasi iNOS yang memproduksi NO dalam jumlah besar namun secara cepat akan berikatan dengan ion superoksida menghasilkan peroksinitrit (OONO⁻). Peroksinitrit yang merupakan agen pengoksidasi yang kuat untuk membentuk peroksida lipid. Peroksida lipid dapat merusak membran, inti dan protein sel endotel menimbulkan disfungsi endotel. Produk akhir yang dihasilkan dari peroksida lipid yaitu MDA. Tingginya produksi superoksida sebagai salah satu agen ROS menyebabkan menurunnya induksi SOD sebagai agen antioksidan endogen lini pertama. Meningkatnya superoksida, peroksinitrit, lipid peroksidasi, radikal hidroksil dan menurunnya kapasitas antioksidan diantaranya SOD, GPx dan CAT menyebabkan timbulnya stres oksidatif. Stres oksidatif yang memicu pelepasan sitokin inflamasi dan faktor anti-angiogenik yang menyebabkan disfungsi endotel. Pravastatin memiliki efek antioksidan melalui peningkatan ekspresi gen antioksidan endogenous yang diperankan oleh faktor transkripsi Nrf-2. Gen yang terbukti diatur oleh faktor transkripsi ini melalui pengontrolan ekspresi pengkodean gen, diantaranya glutation peroxidase, superoksida dismutase, and tioredoksin. Pravastatin diduga mempunyai efek untuk meningkatkan sintesa NO melalui peningkatan regulasi reseptor dari eNOS serta memperbaiki disfungsi endotel dengan melindungi sel endotel vaskular dan menstimulasi regenerasinya.

3.3 Hipotesis Penelitian

3.3.1 Hipotesis

Pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar serum MDA dan meningkatkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia.

3.3.2 Sub Hipotesis

1. Pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar serum MDA pada tikus model preeklamsia.
2. Pemberian pravastatin dapat meningkatkan kadar serum SOD pada tikus model preeklamsia.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Desain Penelitian

Desain penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental* dengan menggunakan pendekatan *post test only group design* dimana peneliti melakukan pengukuran pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok kontrol, tanpa melakukan pretest sebelumnya. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvergicus*) galur wistar.

4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Sampel

Tikus galus wistar dipilih karena mudah perawatannya dan fungsi metabolismenya mirip dengan manusia. Sampel pada penelitian ini adalah hewan coba tikus bunting yang dihasilkan dari proses mengawinkan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya. Pemilihan sampel dilakukan secara acak. Sampel kemudian dikelompokkan ke dalam lima kelompok. Pengelompokan ini berdasarkan dengan teknik *simple random sampling*.

Kriteria inklusi dalam penelitian ini:

1. Usia tikus minimal ≥ 14 minggu dan memiliki tekanan darah normal.
2. Tikus betina bunting dengan usia gestasi hari pertama kebuntingan.
3. Tikus dalam keadaan sehat yang ditandai dengan pergerakan yang aktif dan nafsu makan yang baik.
4. Berat badan berkisar 150-200 gram.
5. Tekanan darah sistolik tikus bunting ≥ 140 mmHg dan protein urin positif ≥ 1 setelah diberikan L-Name.

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini:

1. Tikus yang pernah mendapatkan perlakuan atau intake bahan kimia apapun.
2. Tikus yang tampak sakit sebelum diberikan perlakuan.
3. Tikus yang melahirkan sebelum perlakuan.

Kriteria *drop-out*.

1. Tikus yang melahirkan sebelum penelitian selesai dilakukan.
2. Tikus yang sakit atau mati saat penelitian berlangsung.
3. IUFD

4.2.2 Besar Sampel

Besar sampel atau dalam penelitian ini disebut dengan replikasi adalah banyaknya pengukuran atau pengamatan yang dilakukan dalam setiap kelompok sampel penelitian.

Sampel penelitian dibagi dalam jumlah replikasi (n) pada setiap perlakuan (p) ditentukan dengan menggunakan rumus, dengan $p=5$, adalah sebagai berikut:

$$P(n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20, \text{ sehingga } n \geq 4$$

Dari hasil perhitungan, tiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan 4 kali sehingga total sampel sebanyak 20 sampel tikus. Pada masing-masing kelompok ditambahkan 1 ekor tikus sebagai cadangan apabila terdapat tikus yang mati atau melahirkan sebelum waktu pembedahan/ terminasi kehamilan, sehingga jumlah besar sampel yang dibutuhkan adalah 25 ekor tikus.

Tabel 4.1 Kelompok perlakuan

Subjek	L-NAME	Pravastatin
Kontrol Negatif (K-)	Tidak diberikan	Tidak diberikan
Kontrol Positif (+)	125 mg/KgBB	Tidak diberikan
Kontrol Perlakuan 1 (P1)	125 mg/KgBB	2 mg/hari
Kontrol Perlakuan 2 (P2)	125 mg/KgBB	4 mg/hari
Kontrol Perlakuan 3 (P3)	125 mg/KgBB	8 mg/hari

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biosains dan Laboratorium Faal Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan bulan Februari-Juni 2021.

4.4 Bahan dan Alat

4.4.1 Bahan dan Alat Pemeliharaan Hewan Coba

Bahan: Makanan yang diberikan adalah pakan standar ternak. Minum tikus diletakkan pada botol minuman dan pemberiannya secara *ad-libitum*. Kandang hewan berukuran 45x35x12 cm sebanyak 5 buah, dan masing-masing kandang ditempati oleh 4 tikus.

4.4.2 Bahan dan Alat untuk Perlakuan Hewan Coba

a. Pravastatin

Bahan : Bahan yang digunakan adalah tablet pravastatin 20 mg.

Alat : Spuit 5 cc, sonde lambung.

b. L-Name

Bahan : L-Name, PBS, aquades.

Alat : gelas ukur, mortar, timbangan mikro digital, spuit 1 cc.

4.4.3 Bahan dan Alat Pembedahan Hewan Coba

Bahan: sodium pentobarbital, kapas, alkohol *spray*.

Alat : sarung tangan, alkohol *spray*, alas lilin, jarum, gunting bedah, pinset, *minor surgery set*, spuit 5 cc, *plain vacutainer*.

4.4.4 Bahan dan Alat Pengukuran MDA

Bahan: *Rat MDA Elisa Kit* dengan no katalog: E-EL-0060 produksi *Elabscience*.

4.4.5 Bahan dan Alat Pengukuran SOD

Bahan: *Rat SOD Elisa Kit* dengan no katalog: E-EL-R1424 produksi *Elabscience*.

4.5 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas : Pemberian pravastatin dengan tiga dosis yang berbeda.
- b. Variabel terikat : Kadar serum MDA dan SOD pada tikus bunting model preeklamsia.

4.6 Definisi Operasional Penelitian

Tabel 4.2 Definisi operasional variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Jenis Data	Satuan	Metode
1.	Pravastatin	Obat golongan statin standar yang bersifat hidrofilik yang bekerja dengan menghambat HMG-CoA dan meningkatkan ekspresi HMOX-1 dengan dosis sediaan pada manusia 20 mg kemudian dikonversikan pada BB tikus untuk diberikan dengan dosis berbeda yaitu 2, 4 dan 8 mg/Kg/BB/hari.	Timbangan	Rasio	mg/Kg/BB	
2.	Kadar MDA	Kadar MDA adalah hasil metabolit peroksida lipid yang berada dalam serum darah yang diambil secara intrakradial melalui spuit injeksi.	Microplate reader	Rasio	ng/mL	ELISA
3.	Kadar SOD	Kadar SOD adalah total kadar enzim superoksida dismutase (CuSOD dan ZnSOD) yang berada di dalam serum darah yang diambil secara intrakradial melalui spuit injeksi.	Microplate reader	Rasio	ng/mL	ELISA

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Jenis Data	Satuan	Metode
4.	Tikus Bunting	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) galur wistar betina yang telah dikawinkan dengan tikus jantan, memperlihatkan tanda-tanda kebuntingan yang ditandai dengan peningkatan berat badan (Heyne, 2015).	Timbangan	Rasio	gram	
5.	Tikus Model Preeklamsia	Tikus bunting yang diberikan injeksi L-NAME secara intraperitoneal dengan dosis 125 mg / kg /BB/hari sejak usia kehamilan hari ke-13 sampai hari ke-19 dan preeklamsia terdeteksi dengan adanya tekanan darah sistolik > 140 mm Hg dengan pengukuran CODA dan atau protein urin >+1 dengan pengukuran dipstik.	CODA, dipstik tes		mmHg, +	
6.	Paparan L-Name	Injeksi L-NAME dengan dosis 125 mg/kg/BB/hari secara intraperitoneal yang diberikan pada tikus bunting pada usia gestasi ke-13 sampai dengan ke-19.	Timbangan, gelas ukur	Rasio	mg/Kg/BB	

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba

Penyesuaian lingkungan atau aklimatisasi bagi hewan coba dilakukan selama 7 hari dengan tujuan agar tikus dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru. Tikus diadaptasikan dengan kondisi suhu lingkungan yang stabil dan baik dan diberi makan dan minum standar laboratorium.

Tikus diletakkan pada kandang plastik yang berisi sekam dengan ukuran 45 cmx35 cmx12cm. Kandang tersebut ditutup dengan kawat berjaring. Setiap kandang ditempati 4 ekor tikus. Penggantian alas sekam dilakukan 2x dalam seminggu setiap pagi hari.

Tikus diberi pakan berupa pallet sebanyak 50 gr/hari/ekor yang mempunyai komposisi protein kasar, lemak kasar kalsium dan fosfor. Pakan tersebut dicampur terlebih dahulu dengan air sehingga konsistensinya menjadi lebih lunak. Tikus diberikan air minum berupa air mineral secara *ad libitum* yang diletakkan di dalam botol khusus.

4.7.2 Pembuatan Model Hewan Coba Preeklamsia

Tikus betina diberikan efek feromon. Proses ini dilakukan dengan cara memberikan sekam dari kandang tikus jantan ke kandang tikus betina selama 72 jam. Tikus betina kemudian dikawinkan dengan tikus jantan dengan perbandingan (1:1-3) dalam satu malam. Sebelum tikus betina dikawinkan, terlebih dahulu dilakukan swab vagina untuk menentukan fase reproduksi tikus. Pada keesokan harinya dilakukan pengecekan adanya *vaginal plug* sebagai tanda terjadi kopulasi. Pengecekan kopulasi juga dilakukan dengan swab vagina post matting. Jika ada sperma di hasil swab vagina, menandakan telah terjadi kopulasi.

Induksi preeklamsia dilakukan dengan memberikan L-Name pada tikus yang telah bunting secara *intrapertoneal*. L-Name diberikan dengan dosis 125 mg/KgBB/hari pada hari ke 13 s.d hari ke 19 kebuntingan (Zhu *et al.*, 2017; Rahardjo *et al.*, 2020).

Perhitungan dosis L-Name adalah sebagai berikut:

1. Dosis L-Name yang digunakan 125 mg/KgBB/hari. Pemberian *intrapertoneal* maksimal diberikan 0,2 cc setiap tikus.
2. Perhitungan dosis L-NAME setiap tikus estimasi BB 200 gram, yaitu:
L-NAME 125mg/KgBB/ hari = $125/1000 \times 200 = 25$ mg/ tikus
3. Pelarutan L-NAME menggunakan cara:

Larutan PBS = 1 tablet PBS (*Phospate Buffer Saline*) dilarutkan dengan 100 cc aquades.

4. Volume pemberian pertikus adalah 0,2 cc sehingga untuk 16 ekor tikus dibutuhkan 3,2 cc larutan PBS dan untuk L-NAME 25 mg/ tikus x 16= 400 mg.

5. Perhitungan larutan L-NAME

$$\begin{aligned}\text{Larutan L-NAME} &= 3,2 \text{ cc larutan PBS} + 400 \text{ mg L-NAME} \\ &= 3,2 \text{ cc larutan L-NAME untuk 16 tikus/ hari} \\ &= 0,2 \text{ cc/ tikus/ hari.}\end{aligned}$$

6. Pada kontrol negatif, diberikan injeksi PBS *intraperitoneal* dilakukan 1 kali/ hari dari kebuntingan ke 13 s.d 19.

Langkah-langkah pemberian injeksi L-NAME sebagai berikut:

1. Larutan L-NAME dimasukkan ke dalam spuit 1 ml sebanyak 0,2 cc.
2. Tikus dipegang pada kaki hingga pangkal ekor dengan menggunakan telapak tangan kiri, dengan cara mencengkeram mulai dari belakang tubuh dengan telunjuk dan jempol secara perlahan diletakkan disamping kiri leher.
3. Tentukan terlebih dahulu lokasi penyuntikan secara intraperitoneal
4. Gunakan tangan yang lain untuk menyuntik dengan cara jarum diinjeksikan dari abdomen yaitu pada daerah dibawah permukaan kulit dengan menarik kulit tikus agar tidak mengenai kandung kemih, hati dan rahim.
5. Tikus dilepaskan dan dikembalikan ke kandang.

4.7.3 Pengukuran Tekanan Darah

Pengukuran tekanan darah tikus dilakukan sebanyak tiga kali yaitu pada kebuntingan hari ke-12, hari ke-15 dan hari ke-19. Pengukuran tekanan darah menggunakan *Tail Cuff Method* menggunakan alat *Kent scientific CODA*.

Prosedur pengukuran tekanan darah adalah sebagai berikut:

1. Panaskan *platform* tempat meletakkan hewan coba sampai pada suhu 32° - 35°C.
2. Tabung tempat hewan coba dibuka kemudian tikus dimasukkan ke dalam tabung.

3. Pastikan ekor tikus berada diluar tabung, kemudian penutup tabung dikunci.
4. Letakkan tikus diatas platform yang telah dipanaskan.
5. Pasang manset oklusi pada ekor tikus dengan diameter yang besar terlebih dahulu sampai mendekati pangkal ekor.
6. Pastikan tikus dalam kondisi tenang.

4.7.4 Pengukuran Protein Urin

Pengukuran protein urin tikus dilakukan pada usia kebuntingan hari ke 12, hari ke-15 dan hari ke-19. Pengambilan atau penampungan urin tikus dilakukan dengan memampatkan tikus pada kandang metabolit selama 24 jam. Protein urin diukur melalui metode *urinalysis reagen test strips*. Hasil proteinurin berupa data kualitatif yang kemudian dikonversikan menjadi data semikuantitatif dengan menggunakan referensi Cunningham (2013). Protein urin 0,3 g/L setara dengan (+), protein urin 1,0 g/L setara dengan (++) , protein urin 3,0 g/L setara dengan (+++), protein urin >10 g/L setara dengan (++++). Proses konversi dilakukan dengan mentabulasi data hasil proteinuria (data dalam bentuk kualitatif), kemudian dikonversikan berdasarkan referensi Cunningham (2013) sehingga menjadi data angka (semikuantitatif). Data proteinuria tiap kelompok pengamatan kemudian dihitung rerata sehingga dapat dibandingkan antar masing kelompok pengamatan.

4.7.5 Penentuan Dosis Pravastatin

Didalam melakukan percobaan dengan menggunakan hewan uji, seringkali menggunakan bahan kimia baik sebagai bahan yang akan diteliti maupun sebagai pembanding. Untuk itu perlu diketahui cara mengubah dosis manusia ke hewan uji.

Tabel 4.3 Tabel Konversi Dosis Hewan Percobaan

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Kelinci 1,5 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	27,80	387,9
Tikus 200 g	0,14	1	3,9	56,0
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	1,0	14,2
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,07	1,0

Sumber (Stevani, 2016)

Dosis konversi pemberian obat dari manusia ke tikus seberat 200 gram dikalikan dengan faktor konversi sebesar 0,018 (Stevani, 2016). Pada penelitian ini dosis pemberian pravastatin menggunakan dosis 10 mg, 20 mg dan 40 mg mengacu pada penelitian Girardi (2017) yang kemudian dikonversikan pada sesuai dengan berat badan tikus. Dosis pravastatin jika dikonversikan berdasarkan tabel konversi dosis ke hewan coba, maka didapatkan dosis pravastatin untuk perlakuan 1, 2 dan 3 berturut-turut 0,18 mg, 0,36 mg dan 0,72 mg. Namun, pada penelitian ini, konversi dosis ini mengacu pada beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu penelitian Sun dan Zi (2010) dan Saad *et al.* (2014) yang menggunakan dosis pravastatin 5 mg/KgBB/hari pada hewan coba tikus. Pada penelitian ini, perhitungan dosis dikonversikan dengan berat badan tikus (rerata berat badan tikus = 200 g = 0,2 kg) dengan harapan mendekati pada perhitungan dosis penelitian sebelumnya. Perhitungan dosis pravastatin adalah sebagai berikut:

- a. Perlakuan 1 : $10 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} = 2 \text{ mg/ hari}$
- b. Perlakuan 2 : $20 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} = 4 \text{ mg/ hari}$
- c. Perlakuan 3 : $40 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} = 8 \text{ mg/ hari}$

Sediaan pravastatin yang akan diberikan pada hewan coba dalam penelitian ini berupa cairan karena akan diberikan secara peroral, sehingga ketiga dosis tersebut diubah ke dalam satuan ml melalui pengenceran dengan perhitungan sebagai berikut:

Dosis 8 mg diecerkan dengan aquades 2 cc, sehingga setiap dosis pemberian setiap perlakuan sebagai berikut:

a. Perlakuan 1 : $\frac{2}{8} \times 2 \text{ cc} = 0,5 \text{ cc}$

b. Perlakuan 2 : $\frac{4}{8} \times 2 \text{ cc} = 1 \text{ cc}$

c. Perlakuan 3 : $\frac{8}{8} \times 2 \text{ cc} = 2 \text{ cc}$

4.7.6 Pemberian Pravastatin pada tikus

Langkah pemberiannya adalah sebagai berikut:

1. Pravastatin dimasukkan ke dalam spuit 3 cc yang telah disambung dengan sonde dibagian ujungnya.
2. Bagian atas tengkuk tikus dipegang dengan pelan dan hati-hati.
3. Sonde dimasukkan ke dalam mulut tikus melalui langit-langit secara perlahan sampai ke faring lalu esophagus.
4. Kemudian pravastatin yang ada didalam spuit didorong kedalam esophagus hingga mencapai lambung.
5. Setelah itu tikus dilepaskan dan dikembalikan ke kandang.

4.7.7 Pembedahan Hewan Coba dan Pengambilan Bahan Pemeriksaan

Pembedahan dilakukan setelah 19 hari perlakuan dengan langkah berikut:

1. Peralatan bedah minor, pinset, gunting, kloroform, formalin 10% dan botol-botol tertutup disiapkan untuk organ hewan coba.
2. Tikus diterminasi dengan cara dislokasi servikal.
3. Tikus yang sudah pingsan diletakkan diatas alas papan dengan perut menghadap ke atas. Tikus ditempatkan pada alas suatu papan dengan menggunakan paku payung yang ditancapkan pada ke empat telapak kaki.
4. Dinding dada dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati, dengan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kiri dan kanan maka akan terlihat thorax kemudian darah diambil secara intrakardial melalui ventrikel

kanan jantung, darah yang diambil sebanyak kurang lebih 3 ml melalui spuit injeksi, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa diberi antikoagulan yang kemudian ditutup dengan sumbat karet.

4.7.8 Metode Pengukuran MDA

Pengukuran kadar serum MDA akan dilakukan dengan menggunakan Metode Elisa dengan no. katalog : E-EL-0060 produksi *Elabscience*.

1. Plate dicuci 2 kali sebelum ditambahkan standar, sampel dan kontrol.
2. Masing-masing *well* ditambahkan 100 μ l standar atau sampel selama 90 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
3. Cairan tiap *well* dihilangkan pada masing-masing *well* tanpa dicuci lalu ditambahkan 100 μ l *Bioetin-detection antibody working solution* selama 60 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
4. Dilakukan aspirasi dan pencucian pada masing-masing *well* dan proses diulangi dua kali dengan total 3 kali dicuci. Setiap *well* dicuci dengan mengisi *Wash Buffer* (350 μ l) dengan menggunakan pipet multisaluran, *manifold dispenser* atau *autowasher* dan dibiarkan selama 2 menit. Cairan dipastikan pada masing-masing *well* kosong.
5. Setelah pencucian terakhir, sisa pencucian yang tersisa dibersihkan lalu *well* dibalik dan dibersihkan dengan tisu kering.
6. Ditambahkan 100 μ l HRP-*avidin* pada setiap *well*.
7. Pelat mikrotiter ditutup dengan strip perekat baru selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
8. Dilakukan aspirasi dan pencucian 5 kali.
9. Ditambahkan 90 μ l TMB *substrate* dan diinkubasi selama 15-30 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
10. Ditambahkan 50 μ l *stop solution* pada setiap *well*.

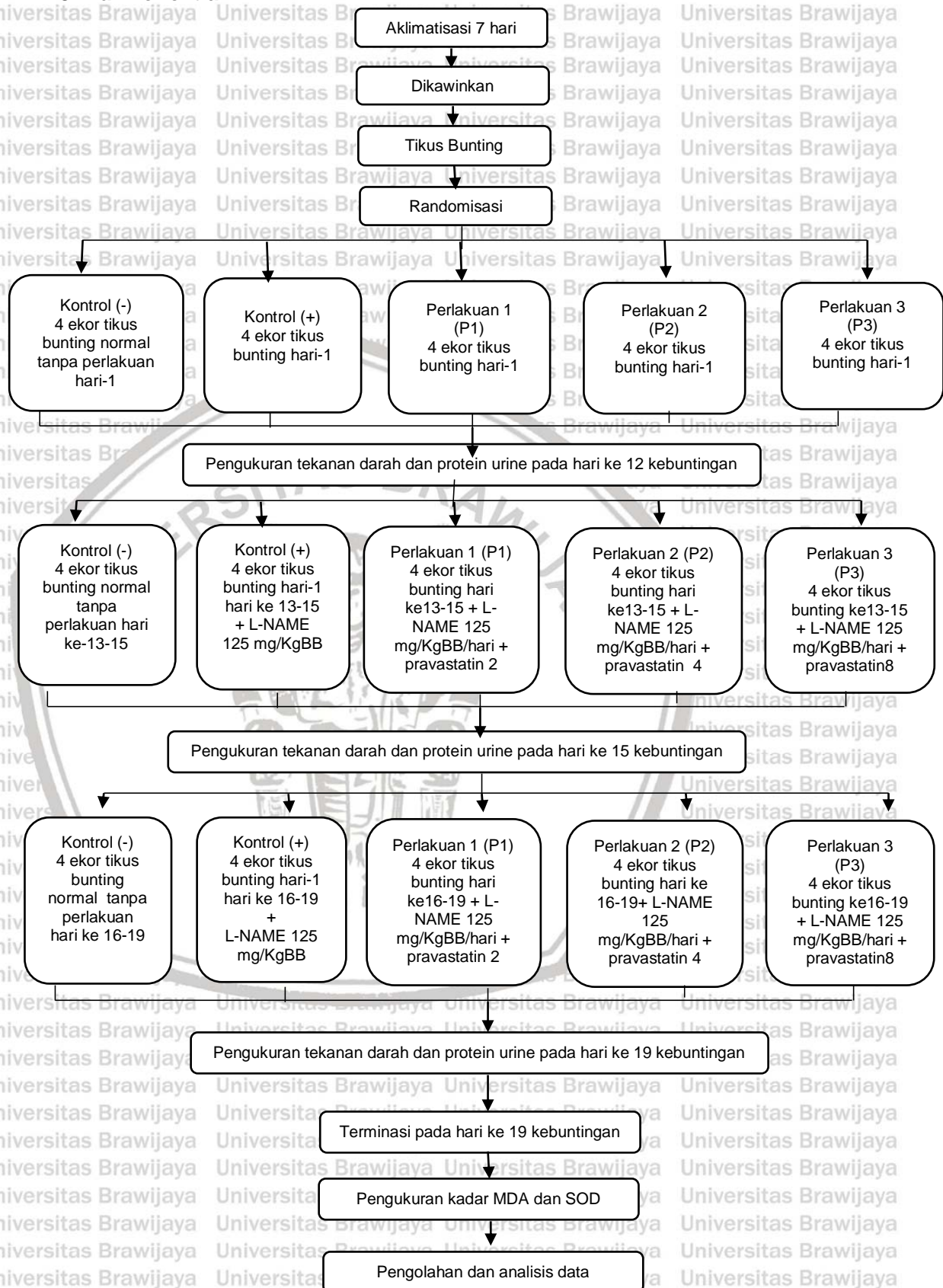
11. Kepadatan optik dibaca pada *micro-plate reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

4.7.9 Metode Pengukuran SOD

Pengukuran kadar serum MDA akan dilakukan dengan menggunakan Metode Elisa dengan no. katalog : E-EL-R1424 produksi *Elabscience*.

1. Plate dicuci 2 kali sebelum ditambahkan standar, sampel dan kontrol.
2. Masing-masing *well* ditambahkan 100 μ l standar atau sampel selama 90 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
3. Cairan tiap *well* dihilangkan pada masing-masing *well* tanpa dicuci lalu ditambahkan 100 μ l *Bioetin-detection antibody working solution* selama 60 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
4. Dilakukan aspirasi dan pencucian pada masing-masing *well* dan proses diulangi dua kali dengan total 3 kali dicuci. Setiap *well* dicuci dengan mengisi *Wash Buffer* (350 μ l) dengan menggunakan pipet multisaluran, *manifold dispenser* atau *autowasher* dan dibiarkan selama 2 menit. Cairan dipastikan pada masing-masing *well* kosong.
5. Setelah pencucian terakhir, sisa pencucian yang tersisa dibersihkan lalu *well* dibalik dan dibersihkan dengan tisu kering.
6. Ditambahkan 100 μ l HRP-*avidin* pada setiap *well*.
7. Pelat mikrotiter ditutup dengan strip perekat baru selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
8. Dilakukan aspirasi dan pencucian 5 kali.
9. Ditambahkan 90 μ l TMB *substrate* dan diinkubasi selama 15-30 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C.
10. Ditambahkan 50 μ l *stop solution* pada setiap *well*.
11. Kepadatan optik dibaca pada *micro-plate reader* dengan panjang gelombang 450 nm.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Analisa data pada penelitian ini menggunakan beberapa teknik analisa data, yaitu:

1. Uji *Saphiro Wilk* digunakan untuk uji normalitas data sampel
2. Uji *One Way Anova*
3. Uji Korelasi.

4.9.1 Uji Prasyarat Parametrik

Uji prasyarat parametrik digunakan untuk menganalisis kenormalan distribusi data sampel sebelum dilakukan uji parameterik. Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Saphiro Wilk*. Jika nilai Sig atau p-value menunjukkan nilai $> \alpha = 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi secara normal sehingga uji parametrik dapat digunakan. Namun, jika data tidak terdistribusi secara normal, maka dilakukan uji non parametrik untuk membuktikan hipotesis penelitian. Data variabel yang diuji dengan uji prasyarat parametrik adalah kadar SOD dan MDA.

4.9.2 Uji *One Way ANOVA*

Pengujian *one way ANOVA* digunakan untuk membandingkan rerata variabel terukur antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan. Analisis ini dilakukan terhadap rerata kadar MDA dan SOD. Tujuan analisis menggunakan *one way anova* adalah mengetahui pengaruh pemberian pravastatin berbagai dosis terhadap kadar MDA dan SOD. Jika pada uji *one way ANOVA* menghasilkan kesimpulan H_0 ditolak atau dapat didapatkan kesimpulan ada perbedaan yang bermakna (signifikan), maka analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda, yaitu dipilih uji *Beda Nyata Terkecil (BNT)*. Tujuan digunakan uji *BNT* adalah untuk menentukan dosis pravastatin yang paling berpengaruh terhadap penurunan kadar serum MDA dan peningkatan kadar serum SOD. Uji *BNT* digunakan dengan mempertimbangkan jumlah sampel pada penelitian ini dan

mengacu pada penelitian sebelumnya yaitu penelitian (Rahardjo *et al.*, 2020) yang mempunyai besar sampel dan kelompok perlakuan yang sama.

4.9.3 Uji Korelasi

Uji korelasi digunakan untuk menentukan bagaimana kuat hubungan suatu variabel dengan variabel lain dengan tidak mempersoalkan apakah suatu variabel tertentu tergantung kepada variabel lain. Jika semakin nyata hubungan linier (garis lurus), maka dapat disimpulkan makin kuat hubungan linier antara kedua variabel tersebut. Nilai kekuatan korelasi ditunjukkan dengan simbol (r) jika diukur pada sampel. Nilai koefisien korelasi berada di antara $-1 < 0 < 1$. Jika data terdistribusi normal maka uji korelasi yang digunakan yaitu uji pearson, namun jika data tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji spearman.

Tabel 4.4 Panduan interpretasi hasil uji hipotesis korelatif

No	Parameter	Nilai	Interpretasi
1.	Kekuatan korelasi	0,00-0,199	Sangat lemah
		0,20-0,399	Lemah
		0,40-0,599	Sedang
		0,60-0,799	Kuat
		0,80-1,000	Sangat kuat
2.	Nilai p	$p < 0,05$	Terdapat korelasi bermakna antara dua variabel yang diuji
		$p > 0,05$	Tidak terdapat korelasi yang bermakna antara dua variabel yang diuji
3.	Arah korelasi	+ (positif)	Searah, semakin besar nilai satu variabel semakin besar pula nilai variabel lainnya
		- (negatif)	Berlawanan arah. Makin besar nilai satu variabel, maka semakin kecil nilai variabel lainnya

(Dahlan, 2011)

Pada penelitian ini, uji korelasi digunakan untuk menentukan hubungan korelasi antara variabel dosis pravastatin dengan variabel MDA dan variabel dosis pravastatin dengan variabel SOD. Jika $p < 0,05$, maka korelasi antara kedua variabel bermakna. Nilai r menunjukkan kekuatan korelasi. Jika arah korelasi positif (nilai r positif), maka dapat diinterpretasikan semakin tinggi dosis pravastatin pada penelitian, maka makin tinggi kadar MDA atau makin tinggi kadar SOD.

Begitupun sebaliknya, jika arah korelasi negatif (nilai r negatif), maka dapat

disimpulkan makin tinggi dosis pravastatin pada perlakuan penelitian, maka makin rendah kadar MDA atau kadar SOD.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Pembuatan Tikus Model Preeklamsia

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian pravastatin berbagai dosis (2 mg, 4 mg, dan 8 mg) terhadap kadar MDA dan SOD pada tikus bunting model preeklamsia yang diinjeksi L-NAME. Sampel sejumlah 20 tikus bunting yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Tikus yang digunakan merupakan tikus betina galur wistar dengan kisaran berat badan 150-200 gram sejumlah 50 ekor, namun tikus yang bunting saat penelitian berjumlah 27 ekor. Sebanyak 7 ekor tikus bunting masuk ke dalam kriteria eksklusi dan *drop-out* sehingga tikus bunting yang digunakan selama penelitian berjumlah 20 ekor. Kategori tikus bunting berdasarkan kriteria eksklusi dan *drop-out* selama penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1 berikut:

Tabel 5.1 Kriteria Tikus Bunting Berdasarkan Kriteria Eksklusi dan Drop-out

Kelompok	Kategori	Jumlah
Eksklusi	• Hipertensi	1
	• Melahirkan sebelum perlakuan	1
Drop-out	• Mati saat perlakuan	2
	• Melahirkan saat perlakuan	1
	• IUFD	2

Pengelompokan tikus bunting dilakukan secara randomisasi. Tikus yang diperkirakan bunting (dilihat dari peningkatan berat badan dan pemeriksaan fisik) kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Seluruh sampel dilakukan pengukuran tekanan darah dan protein urin pada usia gestasi 12 (G12) untuk memastikan tikus tidak mengalami hipertensi dan kelainan ginjal yang menyebabkan bias pada penelitian. Tikus model preeklamsia dibuat dengan menginjeksikan L-NAME dengan dosis 125 mg/Kg/BB pada tikus bunting usia

gestasi 13-19 hari kebuntingan. Untuk menentukan tikus dalam kondisi preeklamsia selama penelitian berlangsung, tikus bunting diukur kembali tekanan darah dan protein urin pada usia gestasi 15 (G15) dan gestasi 19 (G19). Preeklamsia ditandai dengan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan tekanan darah diastolik ≥ 90 serta ditemukan proteinuria ≥ 300 mg dalam 24 jam atau pembacaan dipstick $\geq 2+$ (ACOG, 2019). Karakteristik tikus bunting berdasarkan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.2 berikut:

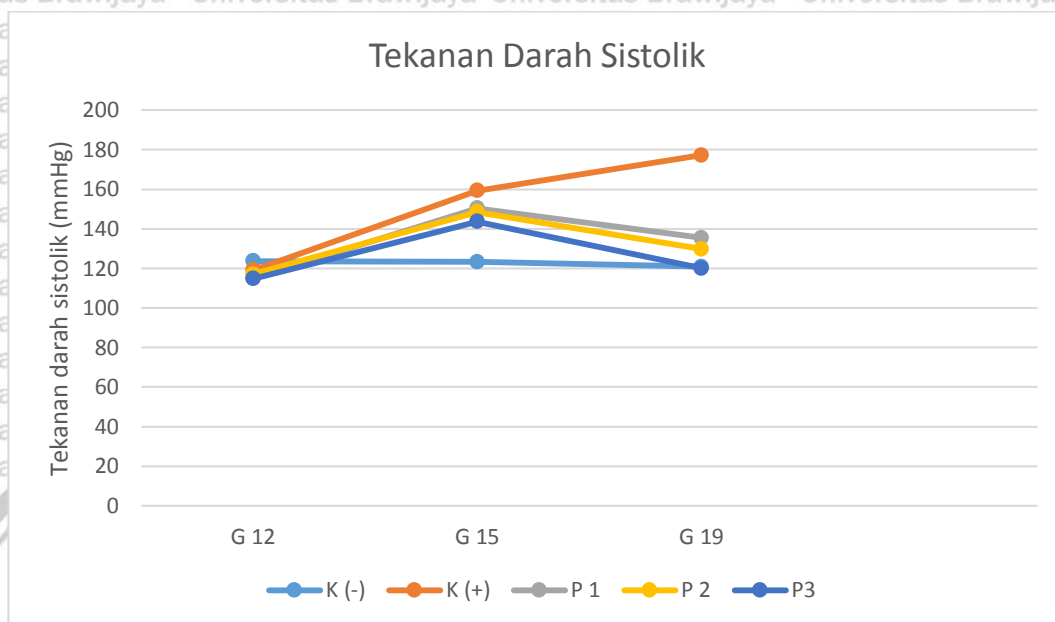
Tabel 5.2 Karakteristik Kelompok Pengamatan berdasarkan Tekanan darah sistolik dan protein urin

Kelompok	Tekanan Darah Sistolik (mmHg)			Protein urine (g/L)		
	G12	G15	G19	G12	G15	G19
Kontrol negatif	123,67 $\pm 2,91$	123,22 $\pm 3,73$	120,78 $\pm 7,46$	Negatif	Negatif	Negatif
Kontrol positif	119,08 $\pm 10,70$	159,32 $\pm 18,88$	177,14 $\pm 23,92$	Negatif	1,0	3,0
P1	114,86 $\pm 14,66$	150,36 $\pm 6,54$	135,36 $\pm 3,75$	Negatif	1,0	0,475
P2	117 $\pm 9,66$	148,45 $\pm 8,50$	129,68 $\pm 6,78$	Negatif	0,65	0,2
P3	114,82 $\pm 10,20$	143,59 $\pm 8,47$	120,05 $\pm 7,25$	Negatif	0,3	0,18

Keterangan: Karakteristik kelompok pengamatan berdasarkan tekanan darah sistolik dan protein urine. Tekanan darah (mmHg) dan protein urin (g/L) diukur saat usia gestasi 12 (G12), gestasi 15 (G15) dan gestasi 19 (G19). Kontrol negatif merupakan tikus bunting normal. Protein urin 0,3 g/L setara dengan (+), protein urin 1,0 g/L setara dengan (++), protein urin 3,0 g/L setara dengan (+++), protein urin >10 g/L setara dengan (++++). (Cunningham, 2013). Kontrol positif adalah tikus model preeklamsia (tikus bunting yang diinjeksi dengan L-NAME 125 mg/Kg/BB sejak usia gestasi 13-19). P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberi pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/hari, 8 mg/hari sejak usia gestasi 13-19 hari. Data proteinuria merupakan hasil konversi dari hasil proteinuria dipstick (data kualitatif) menjadi data angka (semikuantitatif) berdasarkan referensi Cunningham (2013). Data proteinuria tiap kelompok pengamatan kemudian dihitung masing-masing reratanya.

Tabel 5.2 menggambarkan karakteristik tikus bunting dari masing-masing kelompok perlakuan. Kelompok tikus bunting yang diinjeksi L-NAME baik kelompok kontrol positif maupun kelompok perlakuan menunjukkan adanya peningkatan tekanan darah sistolik dibandingkan dengan kelompok tikus bunting

normal pada pemeriksaan tekanan darah saat usia gestasi 15 (G15) sehingga dapat ditarik kesimpulan pemberian L-NAME menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan darah.



Gambar 5.1 Hasil Pengukuran Tekanan Darah Sistolik Kelompok Pengamatan

Keterangan: Rerata tekanan darah sistolik tikus bunting model preeklamsia yang diukur pada gestasi ke 12, 15 dan 19. K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+) merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari.

Tekanan darah kelompok kontrol positif cenderung mengalami peningkatan secara signifikan baik dari G15 hingga G19. Sedangkan pada kelompok perlakuan baik P1, P2, maupun P3 mengalami penurunan tekanan darah dari G15 ke G19. Penurunan tekanan darah yang paling signifikan dialami oleh kelompok P3 dengan pemberian dosis pravastatin sebanyak 8 mg/hari.

Pengukuran protein urin juga menjadi salah satu alat pemeriksaan untuk menegakkan diagnosa tikus dalam kondisi preeklamsia. Kelompok kontrol positif cenderung mengalami peningkatan protein urin dari usia G15 hingga G19. Sedangkan kelompok P1, P2, P3 mengalami peningkatan protein urin pada G15

namun cenderung mengalami penurunan pada G19. Penurunan protein urine dengan kadar yang paling rendah dialami oleh kelompok P3.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Hasil Uji Prasayarat Parametrik

Rerata kadar MDA pada kelompok pengamatan ditunjukkan pada tabel 5.3.

Rerata kadar MDA pada kelompok K(+) menunjukkan kadar MDA tertinggi dan kadar MDA terendah ditunjukkan pada kelompok P3. Rerata kadar MDA tampak menurun pada kelompok P1, P2 dan P3 jika dibandingkan dengan kelompok K(+).

Penurunan kadar MDA sebanding dengan peningkatan dosis pravastatin.

Tabel 5.3 Rerata Kadar MDA dan SOD Kelompok Pengamatan

Kelompok pengamatan	Rerata	
	Kadar MDA (ng/mL)	Kadar SOD (ng/mL)
K (-)	21,74	0,90
K (+)	32,19	0,65
P1	29,71	0,70
P2	25,87	0,89
P3	21,77	1,02

Keterangan: K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+) merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari

Rerata kadar SOD pada lima kelompok perlakuan ditampilkan pada tabel 5.3.

Kadar SOD tertinggi nampak pada kelompok P3 diikuti dengan kelompok K(-).

Kadar SOD terendah nampak pada kelompok K(+). Rerata kadar SOD pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan berturut-turut dari P1, P2 diikuti P3.

Kenaikan kadar SOD ini seiring dengan meningkatnya dosis pravatastatin.

Uji hipotesis pada penelitian ini menggunakan pendekatan analisis statistik parametrik. Skala pengukuran variabel dosis pravastatin dan kadar MDA serta SOD merupakan skala data rasio. Sebelum dilakukan uji parametrik, ada beberapa uji yang harus dilakukan sebagai syarat untuk melakukan uji parametrik. Salah

satu syarat yang harus dipenuhi untuk melakukan uji parametrik adalah data harus terdistribusi normal. Pada penelitian ini uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk menguji normalitas data. Data disebut terdistribusi normal jika $p\text{-value} > 0,05$ sedangkan data tidak terdistribusi normal jika $p\text{-value} < 0,05$. Tabel dibawah ini menunjukkan hasil uji *Shapiro-Wilk*:

Tabel 5.4 Hasil uji normalitas data

Kelompok pengamatan	<i>p-value</i>		Distribusi
	Kadar MDA	Kadar SOD	
K (-)	0,218	0,291	Normal
K (+)	0,356	0,994	Normal
P1	0,962	0,787	Normal
P2	0,561	0,397	Normal
P3	0,888	0,664	Normal

Keterangan: Jika $p\text{-value} > 0,05$ maka data terdistribusi normal. Jika $p\text{-value} < 0,05$ data tidak terdistribusi normal. K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+) merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari.

Tabel 5.4 menunjukkan bahwa kadar MDA dan kadar SOD pada semua kelompok perlakuan terdistribusi normal karena memiliki $p\text{-value} > 0,05$ pada uji *Shapiro-Wilk*. Syarat untuk melakukan uji parametrik sudah terpenuhi sehingga untuk membuktikan hipotesis penelitian, maka digunakan uji *One way ANOVA*.

5.2.2 Hasil Uji *One Way ANOVA* dan *Multiple Comparasion*

5.2.2.1 Hasil Uji Kadar MDA

Uji yang digunakan untuk membuktikan hipotesis penelitian adalah uji *One Way ANOVA*. Uji *One Way Anova* digunakan untuk membandingkan rerata kadar SOD masing-masing kelompok pengamatan. Salah satu syarat data dapat diuji dengan menggunakan *One Way ANOVA* adalah data harus homogen. Jika $p\text{-value}$ pada uji homogenitas $> 0,05$, maka dapat dikatakan data homogen, dan sebaliknya.

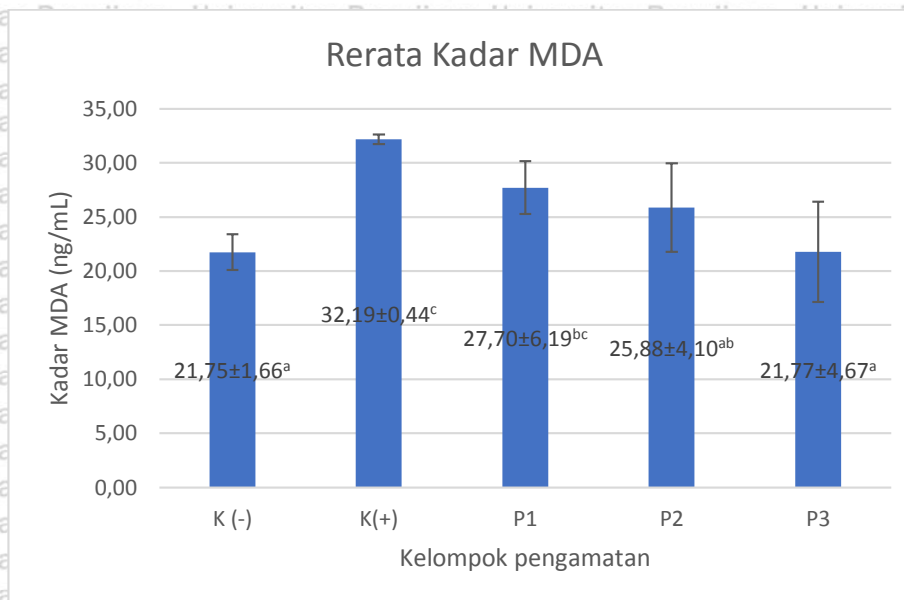
Pada uji homogenitas, data kadar MDA menunjukkan $p\text{-value}=0,096$, sehingga dapat dikatakan data kadar MDA adalah homogen.

Tabel 5.5 Perbandingan kadar MDA (ng/mL) Kelompok Pengamatan

Kelompok pengamatan	Rerata ± SD	p-value
K (-)	21,74±1,65 ^a	0,001
K (+)	32,19±0,44 ^c	
P1	29,71±6,19 ^{bc}	
P2	25,87±4,09 ^{ab}	
P3	21,77±4,63 ^a	

Keterangan: Hasil uji *one way* ANOVA menunjukkan ada perbedaan bermakna jika *p-value* < 0,05 dan tidak ada perbedaan bermakna jika *p-value* > 0,05. K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+) merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari. Pada hasil uji LSD jika rerata±sd memuat huruf yang berbeda pada perbandingan dua kelompok dapat diartikan ada perbedaan yang bermakna antar dua kelompok (*p-value* < 0,05) dan sebaliknya.

Tabel 5.5 menunjukkan bahwa *p-value* kadar MDA <0,05 pada uji oneway ANOVA sehingga dapat ditarik kesimpulan ada perbedaan yang bermakna rerata kadar MDA antar masing-masing kelompok. Dikarenakan uji *one way* ANOVA bermakna, maka dapat dilanjutkan dengan uji LSD (*Multiple comparison*) untuk melihat perbedaan antar dua kelompok. Hasil uji LSD rerata kadar MDA juga disajikan dalam bentuk histogram 5.2



Gambar 5.2 Histogram Rerata Kadar MDA pada Kelompok Pengamatan

Keterangan: K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+), merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari. Pada hasil uji LSD jika rerata±sd memuat huruf yang berbeda pada perbandingan dua kelompok dapat diartikan ada perbedaan yang bermakna antar dua kelompok (p -value < 0,05) dan sebaliknya.

Berdasarkan hasil uji LSD rerata kadar MDA antara kelompok kontrol negatif (21,74±1,65^a) dan kelompok kontrol positif (32,19±0,44^c) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Nilai rerata kadar MDA kontrol positif jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil uji LSD rerata kadar MDA kelompok kontrol positif (32,19±0,44^c) dengan kelompok P2 (25,87±4,09^{ab}) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,011$). Begitu juga dengan hasil uji LSD rerata kadar MDA kelompok kontrol positif (32,19±0,44^c) dengan kelompok P3 (21,77±4,63^a) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Rerata kadar MDA yang berbeda bermakna terlihat pada kelompok P2 dan P3 jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini dapat dilihat dari penurunan nilai rerata kadar MDA dimana kadar MDA kelompok P3 menurun hingga nilai kadar mendekati kadar MDA kelompok kontrol positif.

5.2.2.2 Hasil Uji Kadar SOD

Sebelum dilakukan uji *one way* ANOVA, terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas data, dan didapatkan *p-value* sebesar $0,81 > \alpha$ sehingga data dapat dikatakan homogen. Kemudian uji dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA dan didapatkan nilai *p-value* sebesar $0,086$ atau $< \text{nilai } \alpha = 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar SOD masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji *one way* ANOVA ditunjukkan pada tabel 5.5 dibawah ini.

Tabel 5.6 Perbandingan kadar SOD (ng/mL) Kelompok Pengamatan

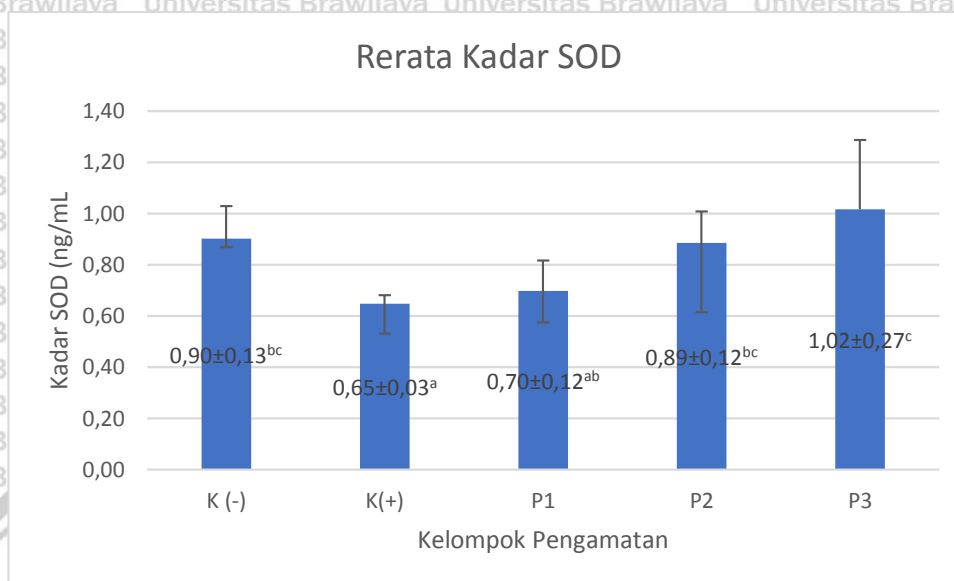
Kelompok pengamatan	Rerata \pm SD	<i>p-value</i>
K (-)	$0,90 \pm 0,13^{bc}$	
K (+)	$0,65 \pm 0,03^a$	
P1	$0,70 \pm 0,12^{ab}$	0,024
P2	$0,89 \pm 0,12^{bc}$	
P3	$1,02 \pm 0,27^c$	

Keterangan: Hasil uji *one way* ANOVA menunjukkan ada perbedaan bermakna jika *p-value* $< 0,05$ dan tidak ada perbedaan bermakna jika *p-value* $> 0,05$. K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+) merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari. Pada hasil uji LSD jika rerata \pm sd memuat huruf yang berbeda pada perbandingan dua kelompok dapat diartikan ada perbedaan yang bermakna antar dua kelompok (*p-value* $< 0,05$) dan sebaliknya.

Dikarenakan uji *one way* ANOVA bermakna, maka dapat dilanjutkan dengan uji LSD (Multiple comparison) untuk melihat perbedaan antar dua kelompok. Berdasarkan hasil uji LSD rerata kadar SOD antara kelompok K(+) ($0,65 \pm 0,03^a$) dengan kelompok K(-) ($0,90 \pm 0,13^{bc}$) menunjukkan adanya perbedaan ($p=0,036$). Kelompok K(+) ($0,65 \pm 0,03$) dan kelompok P2 ($0,89 \pm 0,12^{bc}$) dan P3 ($1,02 \pm 0,27$) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,047$, $p=0,004$).

Kadar SOD paling rendah ditunjukkan oleh kelompok K(+) dan kadar SOD cenderung naik pada kelompok perlakuan seiring dengan meningkatnya dosis

pravastatin. Hasil uji LSD rerata kadar SOD juga ditampilkan dalam bentuk histogram 5.3



Gambar 5.3 Histogram Rerata Kadar SOD pada Kelompok Pengamatan

Keterangan: K(-) merupakan kelompok tikus bunting normal, K(+) merupakan tikus bunting model preeklamsia, P1, P2 dan P3 merupakan tikus model preeklamsia yang diberikan pravastatin dengan dosis berturut-turut 2 mg/hari, 4 mg/ hari dan 8 mg/ hari. Pada hasil uji LSD jika rerata±sd memuat huruf yang berbeda pada perbandingan dua kelompok dapat diartikan ada perbedaan yang bermakna antar dua kelompok (p -value < 0,05) dan sebaliknya.

5.2.2.3 Hasil Uji Korelasi

Uji korelasi yang digunakan adalah uji korelasi Spearman. Tabel 5.6 menunjukkan hasil uji korelasi dosis pravastatin terhadap kadar MDA dan kadar SOD pada tikus model preeklamsia.

Tabel 5.7 Hasil uji korelasi Spearman

Variabel yang dihubungkan	Koefisien korelasi	Arah korelasi	Interpretasi	p-value
Dosis pravastatin terhadap kadar SOD	0,637	Positif	Kuat	0,026
Dosis pravastatin terhadap kadar MDA	0,562	Negatif	Sedang	0,057
Kadar SOD terhadap kadar MDA	0,483	Negatif	Sedang	0,054

Keterangan: Hasil uji korelasi spearman menunjukkan korelasi yang bermakna antar dua variabel jika *p-value* < 0,05 dan tidak ada korelasi yang bermakna jika *p-value* > 0,05. Arah korelasi positif (+) menunjukkan korelasi searah, dan arah korelasi negatif (-) menunjukkan korelasi yang berlawanan.

Pada tabel 5.6 menunjukkan adanya korelasi yang bermakna antara dosis pravastatin dan kadar SOD. Nilai koefisien korelasi menunjukkan kekuatan korelasi sedang antar dua variabel. Arah korelasi dimaknai searah, sehingga dapat disimpulkan makin tinggi dosis pravastatin maka kadar SOD makin meningkat. Korelasi antara dosis dengan kadar MDA menunjukkan korelasi yang tidak bermakna sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada korelasi antara peningkatan dosis pravastatin dengan penurunan kadar MDA. Hubungan antara kadar SOD dengan kadar MDA menunjukkan tidak ada korelasi yang bermakna.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembuatan Tikus Model Preeklamsia

Penelitian ini menggunakan injeksi L-NAME untuk membuat tikus model preeklamsia. L-NAME yang diinjeksikan sebanyak 125 mg/KgBB mulai pada usia gestasi 13 hingga 19. Hasil pembuatan tikus model preeklamsia yang diinjeksi L-NAME menunjukkan adanya peningkatan tekanan darah tikus dan proteinuria pada kelompok tikus yang diberikan L-NAME, sedangkan pada tikus bunting tanpa diberikan L-NAME yang hanya mendapatkan injeksi PBS tidak mengalami peningkatan tekanan darah dan peningkatan proteinuria. Hasil pembuatan hewan coba model preeklamsia pada penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya. Pemberian L-NAME pada tikus model hewan coba terbukti meningkatkan tekanan darah dan meningkatkan produksi proteinuria (Ma *et al.*, 2010; Ramesar *et al.*, 2010; De Souza *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2016). Peningkatan tekanan darah proteinuria yang nampak menjadi tolak ukur keberhasilan pembuatan hewan coba model preeklamsia pada penelitian ini karena gambaran klinis yang nampak menyerupai dengan kondisi klinis preeklamsia.

Kondisi preeklamsia akibat pemberian L-NAME menyebabkan terjadinya peningkatan tekanan darah. Peningkatan tekanan darah yang cukup signifikan nampak pada kelompok tikus model preeklamsia yang diberikan L-NAME selama tiga hari atau pada usia gestasi ke-15 (G15) dibandingkan dengan kelompok tikus tanpa L-NAME. Tekanan darah kelompok yang diberikan L-NAME cenderung mengalami peningkatan dari G15 hingga ke G19 dan tetap berada dalam kondisi hipertensi. Pemberian L-NAME menyebabkan penghambatan secara kronis dari Nitrit Oksida (NO). NO merupakan suatu vasodilator yang dirilis dari stimulasi

endothelial nitric oxide synthase (eNOS). Selain memiliki afinitas yang tinggi terhadap eNOS, L-NAME juga dapat menghambat isoform lain dari eNOS pada konsentrasi yang tinggi (Leo *et al.*, 2015). Penghambatan pada eNOS menghasilkan kondisi patologis yang menyerupai pada kondisi preeklamsia seperti peningkatan tekanan darah, vasokonstriksi renal, proteinuria, IUGR, dan trombositopenia (Talebianpoor dan Mirkhani, 2012). Penelitian ini sejalan dengan Shu *et al.* (2018) yang menggunakan 3 dosis L-NAME untuk menginduksi sindroma mirip preeklamsia, yaitu 40 mg/Kg/hari (dosis rendah), 75 mg/Kg/hari (dosis sedang), dan 125 mg/Kg/hari (dosis tinggi) mulai usia gestasi ke-9 dan ditemukan adanya peningkatan tekanan darah, proteinuria, mulai pada dosis sedang. Rahardjo *et al.* (2020) dalam penelitiannya juga menggunakan L-NAME dosis 125 mg/KgBB/hari untuk menginduksi preeklamsia pada tikus bunting. Penghambatan NOS menyebabkan peningkatan MAP sebanyak 6-7 mmHg pada pertengahan dan akhir kehamilan (Sunderland *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2019). Kunci utama dari peningkatan tekanan darah pada model preeklamsia ini merupakan hasil dari penghambatan NO yang merupakan objek yang penting terutama saat kehamilan. NO diketahui adalah vasodilator poten mempunyai peran yang penting dalam meregulasi tekanan vaskular selama kehamilan.

Proteinuria pada model hewan coba penelitian ini juga mengalami peningkatan pada kelompok tikus model preeklamsia tanpa dan dengan pravastatin dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pemberian L-NAME pada tikus model hewan coba terbukti meningkatkan tekanan darah dan meningkatkan produksi proteinuria (Liu *et al.*, 2016). Penghambatan NOS menggunakan L-NAME selain menyebabkan peningkatan tekanan darah yang berkelanjutan, juga menyebabkan proteinuria yang disebabkan vasokonstriksi ginjal dan cedera glomerulus. Pada kondisi preeklamsia terjadi peningkatan sFlt-1 yang bersirkulasi yang mengikat VEGF dan PlGF dengan afinitas tinggi, menyebabkan menurunnya

kadar VEGF yang bersirkulasi. Penurunan VEGF ini menyebabkan kematian sel pada tingkat membran basal glomerulus, dan pelepasan protein penyusunnya ke dalam urin sehingga meningkatkan proteinuria (Baijnath *et al.*, 2014). Proteinuria menjadi salah satu indikator keberhasilan induksi preeklamsia pada hewan coba, membuktikan bahwa ada kerusakan ginjal yang terjadi akibat pemberian L-NAME yang merupakan salah satu gejala klinis preeklamsia.

6.2 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) pada Tikus Model Preeklamsia

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa kadar SOD pada kelompok tikus bunting normal lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diinjeksi L-NAME. Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) merupakan inhibitor dari *nitric oxide synthase* (NOS) yang efeknya dapat meningkatkan tekanan darah dan vasokonstriksi (Shu *et al.*, 2018), serta meningkatkan stres oksidatif (Shu *et al.*, 2018; Talebianpoor dan Mirkhani, 2012). Stres oksidatif didefinisikan sebagai status ketidakseimbangan antara produksi ROS atau RNS dan kapasitas antioksidan endogen (Phaniendra *et al.*, 2015; Pizzino *et al.*, 2017; Valko *et al.*, 2007). Pembuatan tikus model preeklamsia dengan menggunakan L-NAME akan meningkatkan produksi ROS terutama superoksida dan peroksinitrit (Leo *et al.*, 2015). Dari hasil penelitian dapat dimaknai bahwa kadar SOD pada kondisi tikus preeklamsia lebih rendah dibandingkan kelompok tikus bunting normal, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada kondisi preeklamsia diduga terjadi penurunan SOD karena adanya peningkatan produksi ROS.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Genc *et al.*, (2011) yang menyebutkan bahwa kadar SOD signifikan lebih rendah pada pasien preeklamsia dibandingkan dengan wanita hamil yang sehat. Temuan ini diduga karena produksi antioksidan yang tidak memadai dan atau konsumsi antioksidan

yang berlebihan. Produksi antioksidan akan meningkat sebagai bentuk keseimbangan saat produksi ROS juga meningkat. Pada kondisi preeklamsia tidak hanya kadar SOD yang diduga menurun, namun aktivitas enzimatik SOD juga diduga menurun. Chamy Picó *et al.* (2006) dalam penelitiannya menemukan adanya aktivitas enzimatik SOD yang rendah pada kehamilan dengan preeklamsia. Aktivitas enzimatik SOD yang menurun diduga karena berkurangnya induksi produksi enzim SOD. Induksi yang menurun dari produksi SOD ini dikaitkan dengan meningkatnya ikatan anion superoksida dengan nitrit oksida yang seharusnya superoksida direduksi oleh SOD. Ikatan anion superoksida dan nitrit oksida yang jumlahnya besar akan membentuk peroksinitrit dalam jumlah yang besar pula dan disaat yang sama dapat menjelaskan menurunnya nitrit oksida (NO). Nitrit oksida berkompetisi dengan SOD dalam berikatan dengan anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$), dan terjadi kelebihan produksi peroksinitrit ($OONO^{\cdot}$) yang bertanggung jawab pada reaksi peradangan, peningkatan produksi prostaglandin yang menghambat relaksasi vaskular yang memicu terjadi hipertensi (Chamy Picó *et al.*, 2006; Kadri, 2010). Penurunan kapasitas antioksidan juga dicurigai akibat adanya peningkatan pemanfaatan antioksidan sebagai bentuk mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas (Sayyed dan Sontakke, 2013; Chamy Picó *et al.*, 2006).

Hasil uji komparasi menyebutkan bahwa ada perbedaan kadar SOD pada lima kelompok pengamatan ($p=0,024$). Secara umum dapat dikatakan bahwa pada tikus bunting model preeklamsia. Dosis pravastatin yang dianggap bermakna meningkatkan kadar SOD adalah dosis ke-2 dan ke-3 dengan pemberian pravastatin 4 dan 8 mg/hari sesuai dengan hasil uji LSD perbandingan kelompok tikus model preeklamsia dengan tikus model preeklamsia+pravastatin dosis 2 dan dosis 3 ($p=0,047$, $p=0,04$). Dosis 3 (8 mg/hari) dianggap mampu meningkatkan kadar SOD hingga mencapai kadar SOD pada tikus bunting normal. Hasil

penelitian ini sejalan dengan Brownfoot *et al.* (2015) yang melakukan studi pada HUVECs dan manusia. Pemberian pravastatin 40 mg/hari pada manusia yang setara dengan 8 mg/hari pada hewan coba berhasil menurunkan tekanan darah sistolik yang diikuti oleh stabilisasi sFlt-1, sEng dan ET-1 pada wanita dengan tanda klinis preeklamsia saat usia gestasi 24-29 minggu. Hasil penelitiannya pada HUVECs menunjukkan bahwa pemberian pravastatin 2000 $\mu\text{mol/L}$ meningkatkan regulasi jalur antioksidan endogen.

Hasil uji korelasi antara dosis pemberian pravastatin dengan kadar SOD menunjukkan korelasi yang bermakna ($p=0,026$) dengan koefisien korelasi 0,637 yang artinya ada hubungan kuat antara dosis dengan kadar SOD. Nilai positif dari koefisien korelasi dapat dimaknai bahwa semakin besar dosis pravastatin maka makin meningkatnya kadar SOD. Pravastatin mempunyai efek pleiotropik diantaranya adalah efek antioksidan (Bauer *et al.*, 2013; Marrs and Caroline, 2017). Hasil penelitian menunjukkan adanya hubungan yang searah antara peningkatan dosis pravastatin dengan peningkatan kadar SOD diduga karena meningkatkan faktor yang meregulasi antioksidan endogen.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Carrepeiro *et al.* (2011) yang menyebutkan bahwa statin meningkatkan ekspresi gen dari SOD. Brownfoot *et al.* (2015) lebih spesifik menyebutkan bahwa pemberian pravastatin meningkatkan translokasi Nrf2 pada inti sel pada sel kultur trofoblast. Nrf2 diketahui sebagai faktor transkripsi yang berpindah ke inti dan berikatan dengan gen dimana respons elemen transkripsinya terlibat dalam respons antioksidan seluler. Regulasi Nrf2 diperankan oleh *Hemeoxygenase-1* dimana peningkatan regulasi dari Nrf2 ini diinduksi oleh pemberian pravastatin. Gen yang terbukti diatur oleh faktor transkripsi ini melalui pengontrolan ekspresi pengkodean gen, diantaranya glutathione peroksidase, superoksida dismutase, and tioredoksin (Brownfoot *et al.*, 2015; Liebert, 2005). Nfr-2 mempunyai efek yang nyata terhadap

keseimbangan dari ROS dan RNS melalui regulasi pertahanan antioksidan yang sangat kompleks.

Secara detail, proses redoks ini melibatkan beberapa mekanisme yang saling terkait, diantaranya induksi katabolisme dari superoksida dan peroksida melalui superoksida dismutase (SOD), peroksiredoksin (Prx), dan glutation peroksida (GPx), serta sintesis faktor pereduksi, yaitu glutation (GSH). Nrf2 mengatur banyak enzim dan protein untuk meregulasi pensinyalan redoks yang terlokalisasi di kompartemen tertentu di dalam sel (Ma, 2013). Pravastatin dianggap mampu memperbaiki kondisi stres oksidatif dengan meningkatkan produksi antioksidan lini pertama. Namun, proses reduksi ROS ini tidak semata dilakukan oleh SOD saja, sehingga pemeriksaan kadar antioksidan lainnya yang terlibat bisa menjadi pertimbangan dalam tatalaksana preeklamsia.

6.3 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar Malondealdehid (MDA) pada Tikus Model Preeklamsia

Pengukuran kadar MDA pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA pada tikus bunting yang diinjeksi L-NAME jika dibandingkan dengan kelompok tikus bunting normal. Kelompok tikus bunting model preeklamsia+pravastatin baik dosis 1, 2 dan 3 mengalami penurunan kadar MDA. Penurunan kadar MDA pada kelompok perlakuan sebanding dengan peningkatan dosis pemberian pravastatin. Hasil uji komparasi kadar MDA lima kelompok pengamatan pada penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0,006$). Secara umum dapat dikatakan terjadi penurunan kadar MDA dengan pemberian pravastatin berbagai dosis. Karena hasil uji komparasi bermakna, maka dilanjutkan untuk uji komparasi dua kelompok. Kelompok tikus model preeklamsia mempunyai kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus bunting normal ($p=0,002$). Preeklamsia dapat menyebabkan peningkatan kadar

MDA sebagai produk akhir peroksidasi lipid. Pemberian L-NAME menyebabkan menurunnya produksi NO yang menyebabkan terbentuknya eNOS *encoupled* yang berefek pada peningkatan produksi ion superoksida. Selain itu, pemberian L-NAME mengaktivasi iNOS yang memproduksi NO dalam jumlah besar yang secara cepat berikatan dengan ion superoksida menghasilkan peroksinitrit (OONO⁻). Peroksinitrit yang merupakan agen pengoksidasi yang kuat untuk membentuk peroksida lipid (Leo *et al.*, 2015). Peroksida lipid mempunyai peran dalam merusak membran, inti dan protein sel endotel. Produk akhir dari peroksida lipid adalah MDA, dan pada penelitian ini digunakan sebagai penanda utama stres oksidatif. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ada peningkatan kadar MDA pada preeklamsia yang diduga akibat meningkatnya peroksidasi lipid.

Tingginya kadar MDA pada kelompok tikus yang diinjeksi L-NAME sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Gohil, Patel and Priyanka (2011), Can *et al.* (2014) Bakacak *et al.* (2015), dan Al-Kuraishy and Al-Gareeb (2018) menyebutkan bahwa terjadi peningkatan kadar serum MDA secara signifikan pada pasien dengan preeklamsia dibandingkan dengan kehamilan normal. Beberapa penelitian lain menyebutkan bahwa kadar MDA meningkat pada kondisi hipertensi.

Pada wanita hamil dengan hipertensi ditemukan adanya peningkatan kadar MDA dan menurunnya aktivitas *catalase* (Khoubnasab Jafari *et al.*, 2015).

Pada wanita hamil dengan preeklamsia, produk lipoperoksidasi mengalami peningkatan. Selain itu kadar ketersediaan dari nitrit oksida (NO) mengalami penurunan terutama pada plasma dan plasenta, yang mana dikarenakan peningkatan aktivitas NOS. NO dapat diaktivasi oleh anion superoksida sehingga dihasilkan produk radikal bebas yang kuat yaitu anion peroksinitrit (ONOO⁻). Kadar peroksinitrit yang berlebihan menyebabkan tingginya sintesa prostaglandin yang merupakan produk dari peroksidasi lipid dari asam arakhidonat. Prostaglandin ini

yang bertanggung jawab pada vasokonstriksi pembuluh darah dan memicu terjadinya hipertensi (Chamy Picó *et al.*, 2006).

Secara keseluruhan, ada perbedaan yang bermakna kadar MDA pada kelima kelompok perlakuan. Hal ini dapat dimaknai bahwa adanya penurunan kadar MDA dengan pemberian pravastatin berbagai dosis. Pemberian pravastatin dianggap mampu menurunkan kadar MDA. Dosis pravastatin yang dianggap dapat menurunkan kadar MDA secara bermakna adalah dosis 2 ($p=0,411$) dan 3 ($p=0,000$) (4 mg/hari dan 8 mg/hari). Dosis 3 (8 mg/hari) dianggap mampu menurunkan kadar hingga mencapai kadar MDA pada tikus bunting normal. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan pada manusia dengan pemberian pravastatin 40 mg/hari (pada hewan setara dengan 8 mg/hari) pada wanita dengan tanda klinis preeklamsia saat usia gestasi 24-29 minggu berhasil menurunkan tekanan darah sistolik yang diikuti oleh stabilisasi sFlt-1, sEng dan ET-1 (Brownfoot *et al.*, 2015). Dosis 40 mg/ hari diduga mempunyai efek optimal dalam menurunkan kadar MDA hingga mendekati kadar MDA normal. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ada penurunan yang bermakna kadar MDA seiring dengan meningkatnya dosis pravastatin meskipun secara statistik hasil uji korelasi tidak bermakna.

Penurunan kadar MDA setelah pemberian pravastatin diduga akibat menurunnya produksi ROS sehingga menurunnya radikal bebas yang dapat mengoksidasi lipid sebagai efek antioksidan. Efek antioksidan statin bekerja dalam mempengaruhi sintesis NO. Pada awal prosesnya, statin menyebabkan adanya peningkatan regulasi reseptor dari eNOS, sehingga eNOS menjadi aktif dan memodulasi dari stabilitas mRNA dari eNOS (Gajzlerska-Majewska *et al.*, 2018).

Wassmann *et al.* (2003) dalam studinya menunjukkan bahwa pravastatin meningkatkan bioavailabilitas NO, meningkatkan regulasi eNOS. Pravastatin juga menghambat ekspresi dari iNOS serta menurunkan kadar MDA ginjal (An *et al.*,

2011). Meningkatnya regulasi eNOS, dan menurunnya ekspresi iNOS menyebabkan menurunnya kadar NO yang berikatan dengan superoksida sehingga produksi peroksinitrit juga menurun. Perokstinitrit yang menurun diharapkan dapat mengurangi peroksidasi lipid yang mengarah pada produksi MDA sebagai hasil akhir. Brownfoot *et al.* (2015) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa pemberian pravastatin meningkatkan respon antioksidan seluler melalui pengontrolan ekspresi pengkodean gen salah satunya SOD. Pravastatin yang berefek pada meningkatnya bioavailibitas NO mencegah terbentuknya eNOS *encoupled* yang berkontribusi pada menurunnya superoksida. Kondisi ini pada akhirnya dapat menurunkan stres oksidatif yang terjadi pada preeklamsia. Pemberian pravastatin kondisi preeklamsia menyebabkan terjadinya penurunan kadar MDA yang diduga melalui penurunan produksi ROS.

6.4 Hubungan antara Kadar SOD dengan Kadar MDA pada Tikus Model Preeklamsia

Stres oksidatif dianggap mempunyai peran penting dalam perkembangan preeklamsia (de Lucca *et al.*, 2016; Taravati dan Tohidi, 2018). Beberapa studi memfokuskan bahwa stres oksidatif berperan utama pada preeklamsia dimana jaringan plasenta dianggap sebagai penghasil utama ROS. Kehamilan meningkatkan kerentanan terjadinya stres oksidatif yang berpotensi menimbulkan kerusakan jaringan (Kadri, 2010; Chiarello *et al.*, 2020). Pada kondisi normal produksi ROS mengalami peningkatan yang diimbangi dengan peningkatan produksi antioksidan sebagai bentuk mekanisme pertahanan dari kerusakan jaringan. Keseimbangan ini terganggu pada kehamilan dengan preeklamsia (Rani *et al.*, 2010; Kadri, 2010; Hansson *et al.*, 2015; Taravati dan Tohidi, 2018; Aouache *et al.*, 2018).

Penurunan antioksidan dan peningkatan produksi ROS mengarah pada peningkatan peroksidasi lipid diduga menjadi penyebab kerusakan endotel vaskular pada preeklamsia. Kondisi stres oksidatif dan insufisiensi dalam sistem pertahanan antioksidan mungkin menjadi faktor yang menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid pada preeklamsia. Peroksidasi lipid mungkin secara tidak langsung memberikan informasi tentang kerusakan sel yang diduga menjadi faktor penting dalam patogenesis preeklamsia. Peningkatan peroksidasi lipid ini dapat dilihat melalui peningkatan kadar MDA. Studi meta-analisis yang dilakukan Taravati dan Tohidi (2018) menyimpulkan bahwa terjadi penurunan signifikan pada total kapasitas antioksidan, sejalan dengan peningkatan yang signifikan dalam total peroksida lipid dan produk akhir stres oksidatif.

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada korelasi antara peningkatan kadar SOD dengan penurunan kadar MDA secara statistik namun pada penelitian ini ditemukan ada penurunan kadar MDA yang sejalan dengan peningkatan kadar SOD. Hal ini kemungkinan disebabkan karena terbatasnya sampel pada penelitian eksperimental. Respon protektif diinduksi dengan meningkatkan beberapa antioksidan ketika stres oksidatif terbentuk (Taravati dan Tohidi, 2018). Superoksida dismutase diketahui merupakan antioksidan lini pertama yang diinduksi sebagai pertahanan terhadap ROS. Katalase dan glutation pada kenyataannya juga terlibat dan diinduksi sebagai pertahanan terhadap stres oksidatif. Hasil penelitian ini sejalan dengan studi yang dilakukan An *et al.* (2011) dimana pemberian pravastatin meningkatkan katalase dan aktivitas SOD yang seiring dengan penghambatan inisiasi dan propogasi peroksidasi lipid. Penurunan peroksidasi lipid berimplikasi pada penurunan produk akhirnya, yaitu MDA.

Glutation (GSH) dan *glutathione-related enzymes*, sebagai salah satu sistem pertahanan utama dan *scavenger* dari ROS, mungkin memainkan peran penting dalam mengendalikan stres oksidatif. Superoksida dismutase, glutation

peroxidase (GPx) dan katalase (CAT) mendetoksifikasi radikal bebas sedangkan GSH adalah *scavenger* umum bagi radikal. Berbeda dengan glutathion peroksidase, GSH pada wanita preeklamsia menurun secara signifikan dibandingkan dengan wanita hamil normal. Peningkatan aktivitas GPx menyebabkan peningkatan konsumsi GSH. Situasi ini menunjukkan fakta bahwa perlindungan terhadap ROS oleh GSH pada wanita preeklamsia berkurang. Penurunan kadar GSH pada wanita preeklamsia dapat dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif lokal atau sistemik. Bersamaan dengan peningkatan aktivitas GPx dan katalase, penurunan konsentrasi GSH dapat menunjukkan tingkat hidrogen peroksida yang jauh lebih tinggi dalam sirkulasi maternal pada preeklamsia (Taravati dan Tohidi, 2018). Antioksidan yang terlibat dalam proses pertahanan terhadap ROS pada preeklamsia diduga melibatkan pertahanan antioksidan yang kompleks yang saling berkaitan.

Pravastatin diketahui mempunyai efek pleiotropik diantaranya adalah efek antioksidan (Bauer *et al.*, 2013; Marrs and Caroline, 2017). Mekanisme kerja pravastatin sebagai antioksidan diketahui melalui dua jalur. Pertama, pravastatin menghambat stres oksidatif yang diinduksi angiotensin-II dan mengurangi ekspresi dari NADPH oksidase. Penurunan ekspresi dari NADPH oksidase menyebabkan menurunnya produksi ROS akibat menurunnya pelepasan eNOS *encoupling* (Esteve-Valverde *et al.*, 2018). Kedua, pravastatin bekerja dalam meningkatkan regulasi faktor transkripsi Nrf-2 yang berperan mengatur respon antioksidan seluler (Brownfoot *et al.*, 2015). Faktor transkripsi ini mengatur pengkodean gen diantaranya glutathion peroxidase, superoksida dismutase, and tioredoksin (Liebert, 2005). Pravastatin juga diketahui meningkatkan ekspresi *Hemeoxygenase-1*, yang mengatur regulasi Nrf-2 (Esteve-Valverde *et al.*, 2018). Pemberian pravastatin diharapkan dapat meningkatkan regulasi antioksidan endogen yang berperan dalam proses reduksi ROS, namun proses ini merupakan proses kompleks yang

tidak hanya melibatkan satu antioksidan saja. Penentuan kadar berbagai antioksidan atau produk akhir stres oksidatif dapat dijadikan pertimbangan untuk diagnosis dan pengelolaan preeklamsia. Pemberian pravastatin diduga dapat meningkatkan antioksidan endogen sehingga pravastatin dapat dijadikan kandidat sebagai baik pencegahan maupun terapi pada preeklamsia namun dibutuhkan penelitian lanjut melalui berbagai tahap clinical trial yang melibatkan sampel yang lebih besar.

6.5 Keterbatasan Penelitian

Kesulitan utama yang dihadapi peneliti pada penelitian ini adalah pada proses membuntingkan tikus. Peneliti membutuhkan waktu yang cukup lama karena membuat tikus model preeklamsi. Beberapa cara sudah dilakukan untuk meningkatkan kemungkinan terjadinya kebuntingan, diantaranya swab vagina pre-matting, pengecekan plug vagina, swab vagina post-matting. Namun, angka kejadian kebuntingan masih terbilang kecil. Penentuan kebuntingan juga dilihat melalui pemeriksaan fisik secara subjektif dan berdasarkan peningkatan berat badan. Keterbatasan yang lain pada penelitian ini yaitu peneliti tidak bisa mengendalikan stresor selama penelitian, diantaranya mengendalikan kondisi lab yang dapat meningkatkan stresor tikus (suara bising, cahaya yang terus menerus), gedung untuk melakukan tensi yang terpisah sehingga tikus harus dimobilisasi yang dapat meningkatkan stresor sehingga berpengaruh pada pengukuran tekanan darah. Peneliti juga tidak dapat mengetahui efek pravastatin pada tikus bunting normal, sehingga tidak bisa membandingkan efek pravastatin pada tikus bunting normal dan tikus bunting yang diberikan L-NAME. Selain itu, peneliti tidak dapat membedakan efektivitas pravastatin untuk mencegah preeklamsia *early onset* dikarenakan L-NAME diinjeksikan pada saat implantasi plasenta yang diperkirakan sudah selesai. Pada penelitian ini, pravastatin terbukti

meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA, namun perlu dilakukan penelitian dengan sampel yang lebih besar sebelum dilakukan *clinical trial* kepada manusia, mengingat obat ini diberikan kepada ibu hamil.



BAB 7

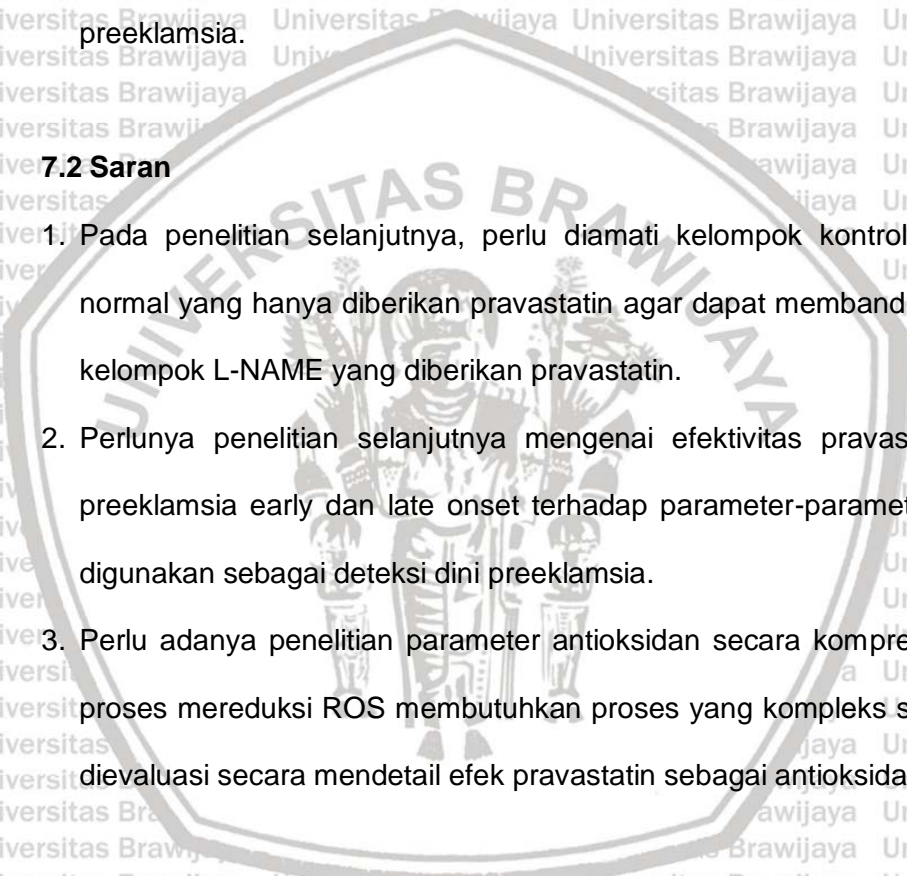
KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian pravastatin dapat meningkatkan kadar SOD pada tikus model preeklamsia.
2. Pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar MDA pada tikus model preeklamsia.

7.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya, perlu diamati kelompok kontrol tikus bunting normal yang hanya diberikan pravastatin agar dapat membandingkan dengan kelompok L-NAME yang diberikan pravastatin.
2. Perlunya penelitian selanjutnya mengenai efektivitas pravastatin terhadap preeklamsia early dan late onset terhadap parameter-parameter yang dapat digunakan sebagai deteksi dini preeklamsia.
3. Perlu adanya penelitian parameter antioksidan secara komprehensif, karena proses mereduksi ROS membutuhkan proses yang kompleks sehingga dapat dievaluasi secara mendetail efek pravastatin sebagai antioksidan.



Daftar Pustaka

- Aldika Akbar, M.I. et al., 2018. 28. The massive problem of preeclampsia in indonesia: In need of a redesigned national health care system. *Pregnancy Hypertension*, 13, hal.S16. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2018.08.051>.
- An, Y., Xin, H., Yan, W. dan Zhou, X., 2011. Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity by pravastatin in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63(3), hal.215–219.
- Anto, E.O., Roberts, P., Turpin, C.A. dan Wang, W., 2018. Oxidative Stress as a Key Signaling Pathway in Placental Angiogenesis Changes in Preeclampsia: Updates in Pathogenesis, Novel Biomarkers and Therapeutics. *Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 16(3), hal.167–181.
- Aouache, R., Biquard, L., Vaiman, D. dan Miralles, F., 2018. Oxidative stress in preeclampsia and placental diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5).
- Ayala, A., Muñoz, M.F. dan Argüelles, S., 2014. Lipid Peroxidation : Production , Metabolism , and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. , 2014.
- Backes, C.H. et al., 2011. Maternal Preeclampsia and Neonatal Outcomes. , 2011.
- Baijnath, S. et al., 2014. The optimization of a chronic nitric oxide synthase (NOS) inhibition model of pre-eclampsia by evaluating physiological changes. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 182, hal.71–75. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.08.021>.
- Bakacak, M. et al., 2015. Changes in copper, Zinc, and malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pre-eclamptic pregnancies. *Medical Science Monitor*, 21, hal.2414–2420.
- Bauer, A.J. et al., 2013. Pravastatin attenuates hypertension, oxidative stress, and angiogenic imbalance in rat model of placental ischemia-induced hypertension. *Hypertension*, 61(5), hal.1103–1110.
- Brownfoot, Fiona C et al., 2015. Effects of pravastatin on human placenta, endothelium, and women with severe preeclampsia. *Hypertension*, 66(3), hal.687–697.
- Burton, G.J. dan Jauniaux, E., 2004. Placental oxidative stress: From miscarriage to preeclampsia. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 11(6), hal.342–352.
- Can, M., Guven, B., Bektas, S. dan Arikan, I., 2014. Oxidative stress and apoptosis in preeclampsia. *Tissue and Cell*, 46(6), hal.477–481. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tice.2014.08.004>.
- Caniggia, I., Winter, J., Lye, S.J. dan Post, M., 2000. Oxygen and placental development during the first trimester: Implications for the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta*, 21(SUPPL.1), hal.25–30.

Carrepeiro, M.M. et al., 2011. Effect of n-3 fatty acids and statins on oxidative stress in statin-treated hypercholesterolemic and normocholesterolemic women. *Atherosclerosis*, 217(1), hal.171–178.

Chamy Picó, V.M. et al., 2006. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. *Biological Research*, 39(2), hal.229–236.

Chiarello, D.I. et al., 2020. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1866(2), hal.165354. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.12.005>.

Cindrova-Davies, T. et al., 2014. Energy status and HIF signalling in chorionic villi show no evidence of hypoxic stress during human early placental development. *Molecular Human Reproduction*, 21(3), hal.296–308.

Cunningham, F.G., Leveno, dkk, 2013. *Obstetri Williams*.

Dahlan, M.S., 2011. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*, Penerbit Salemba.

Esteve-Valverde, E. et al., 2018. Pravastatin for preventing and treating preeclampsia: a systematic review. *Obstetrical & gynecological survey*, 73(1), hal.40–55.

Ferguson, K.K. et al., 2017. Repeated measures of inflammation and oxidative stress biomarkers in preeclamptic and normotensive pregnancies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 216(5), hal.527.e1-527.e9. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2016.12.174>.

Förstermann, U. dan Sessa, W.C., 2012. Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), hal.1–13.

Gajzlerska-Majewska, W., Bomba-Opon, D.A. dan Wielgos, M., 2018. Is pravastatin a milestone in the prevention and treatment of preeclampsia? *Journal of Perinatal Medicine*, 46(8), hal.825–831.

Genc, H. et al., 2011. Evaluation of oxidative stress markers in first trimester for assessment of preeclampsia risk. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 284(6), hal.1367–1373.

Geonawan, H. dan Lesmana, R., 2020. *Pedoman Penggunaan Tikus Sebagai Hewan Uji Laboratorium*.

Giera, M., Lingeman, H. dan Niessen, W.M.A., 2012. Recent advancements in the LC- and GC-based analysis of malondialdehyde (MDA): A brief overview. *Chromatographia*, 75(9–10), hal.433–440.

Girardi, G., 2017a. Pravastatin to treat and prevent preeclampsia. Preclinical and clinical studies. *Journal of Reproductive Immunology*, 124(September), hal.15–20. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2017.09.009>.

Girardi, G., 2017b. Pravastatin to treat and prevent preeclampsia. Preclinical and clinical studies. *Journal of Reproductive Immunology*, 124(July), hal.15–20. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jri.2017.09.009>.

Gohil, J.T., Patel, P.K. dan Priyanka, G., 2011. Evaluation of oxidative stress and antioxidant defence in subjects of preeclampsia. *Journal of Obstetrics*

- and *Gynecology of India*, 61(6), hal.638–640.
- Gupta, S., Agarwal, A. dan Sharma, R.K., 2005. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstetrical and Gynecological Survey*, 60(12), hal.807–816.
- Hansson, S.R., Nääv, Å. dan Erlandsson, L., 2015. Oxidative stress in preeclampsia and the role of free fetal hemoglobin. *Frontiers in Physiology*, 6(JAN), hal.1–12.
- Hatanaka, T., 2000. Clinical pharmacokinetics of pravastatin: Mechanisms of pharmacokinetic events. *Clinical Pharmacokinetics*, 39(6), hal.397–412.
- Hedrich, H.J., 2019. *Taxonomy and stocks and strains*, Elsevier Inc.
- Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M. dan Kihara, Y., 2009. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circulation Journal*, 73(3), hal.411–418.
- HM. Al-Kuraishy, Al. Al-Gareeb, T.A., 2018. Concept and connotation of oxidative stress in preeclampsia. *J Lab Physicians*, 10(3), hal.276–282.
- Hung, T.H., Skepper, J.N., Charnock-Jones, D.S. dan Burton, G.J., 2002. Hypoxia-reoxygenation: A potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circulation Research*, 90(12), hal.1274–1281.
- Hypertension, G., 2019. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstetrics and gynecology*, 133(1), hal.e1–e25.
- Ighodaro, O.M. dan Akinloye, O.A., 2018. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), hal.287–293. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.
- Ilhan, Necip, Ilhan, Nevin dan Simsek, M., 2002. The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia. *Clinical Biochemistry*, 35(5), hal.393–397.
- Jena, M.K. et al., 2020. Pathogenesis of preeclampsia and therapeutic approaches targeting the placenta. *Biomolecules*, 10(6), hal.1–28.
- Kadri, H.M.F. Al, 2010. Role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. , hal.469–474.
- Karacay, Ö. et al., 2010. A quantitative evaluation of total antioxidant status and oxidative stress markers in preeclampsia and gestational diabetic patients in 24–36 weeks of gestation. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 89(3), hal.231–238.
- Khoubnasab Jafari, M., Ansarin, K. dan Jouyban, A., 2015. Comments on “use of malondialdehyde as a biomarker for assesing oxidative stress in different disease pathologies: A review.” *Iranian Journal of Public Health*, 44(5), hal.714–715.

Kusumawati, D., 2016. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Leo, M.D. et al., 2015. Involvement of inducible nitric oxide synthase and dimethyl arginine dimethylaminohydrolase in N ω -Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)-induced hypertension. *Cardiovascular Pathology*, 24(1), hal.49–55. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carpath.2014.09.002>.

Li, Z. et al., 2007. Recombinant vascular endothelial growth factor 121 attenuates hypertension and improves kidney damage in a rat model of preeclampsia. *Hypertension*, 50(4), hal.686–692.

Liebert, M.A., 2005. Pathway of Antioxidant Gene Regulation. *Regulation*, 7(68), hal.385–394. Available at: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ars.2005.7.385%5Cnhttp://www.bvs.hn/RMH/pdf/1994/pdf/Vol62-2-1994-6.pdf>.

Liu, X. et al., 2016. Developmental and Functional Brain Impairment in Offspring from Preeclampsia-Like Rats. *Molecular Neurobiology*, 53(2), hal.1009–1019.

Lurba, E. et al., 2004. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(4), hal.557–570.

Lu, H.F. et al., 2018. A computational study of the Fenton reaction in different pH ranges. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 20(35), hal.22890–22901.

de Lucca, L. et al., 2016. Delta-aminolevulinatase activity and oxidative stress markers in preeclampsia. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 84, hal.224–229. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.033>.

Ma, Q., 2013. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53(1), hal.401–426.

Ma, R.Q., Sun, M.N. dan Yang, Z., 2010. Effects of preeclampsia-like symptoms at early gestational stage on fetoplacental outcomes in a mouse model. *Chinese Medical Journal*, 123(6), hal.707–712.

Marrs, Caroline C., and M.M.C., 2017. Should we add pravastatin to aspirin for preeclampsia prevention in high-risk women? *Clinical obstetrics and gynecology*, 60(1), hal.161.

Marseglia, L. et al., 2014. Oxidative stress-mediated aging during the fetal and perinatal periods. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014.

Mudgett, J.S. et al., 2000. Essential role for p38 α mitogen-activated protein kinase in placental angiogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(19), hal.10454–10459.

Musarofah, 2015. *Tumbuhan antioksidan*, PT Remaja Rosdakarya, Bandung.

Myatt, L. dan Cui, X., 2004. Oxidative stress in the placenta. *Histochemistry and Cell Biology*, 122(4), hal.369–382.

Nugroho, S.W., Fauziah, K.R., Sajuthi, D. dan Darusman, H.S., 2018. Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague-Dawley. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 6(2), hal.32–37.

Orrenius, S., Gogvadze, V. dan Zhivotovsky, B., 2007. Mitochondrial oxidative stress: Implications for cell death. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47, hal.143–183.

Pereira, R.D. et al., 2015. Angiogenesis in the placenta: The role of reactive oxygen species signaling. *BioMed Research International*, 2015.

Perkins, A. V, 2006. Endogenous anti-oxidants in pregnancy and preeclampsia. , hal.77–83.

Phaniendra, A., Jestadi, D.B. dan Periyasamy, L., 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), hal.11–26.

Piedrafita, G., Keller, M.A. dan Ralser, M., 2015. The impact of non-enzymatic reactions and enzyme promiscuity on cellular metabolism during (Oxidative) stress conditions. *Biomolecules*, 5(3), hal.2101–2122.

Pizzino, G. et al., 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.

Rafeenia, A., Tabandeh, A., Khajeni, S. dan Marjani, A.J., 2014. Serum Copper, Zinc and Lipid Peroxidation in Pregnant Women with Preeclampsia in Gorgan. , hal.83–88.

Rahardjo, B. et al., 2020. The effect of extra virgin olive oil to decrease HSP-90, TNF- α and ET-1, in pre-eclampsia rat model. *Journal of Global Pharma Technology*, 12(1), hal.261–268.

Ramesar, S. V., Mackraj, I., Gathiram, P. dan Moodley, J., 2010. Sildenafil citrate improves fetal outcomes in pregnant, I-NAME treated, Sprague-Dawley rats. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 149(1), hal.22–26. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2009.11.005>.

Rani, N. et al., 2010. Role of oxidative stress markers and antioxidants in the placenta of preeclamptic patients. , 36(6), hal.1189–1194.

Rodrigo, R.A.T., 2009. *Oxidative Stress and Antioxidants: Their Role in Human Disease*, Nova Science Publisher, New York.

Rodriguez, C. et al., 2004. Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research*, 36(1), hal.1–9.

Saad, A.F. et al., 2014. Effects of pravastatin on angiogenic and placental hypoxic imbalance in a mouse model of preeclampsia. *Reproductive Sciences*, 21(1), hal.138–145.

Saad, A.F. et al., 2016. Pravastatin Effects on Placental Prosurvival Molecular Pathways in a Mouse Model of Preeclampsia. , hal.1–7.

Sahay, A.S. et al., 2015. International Journal of Gynecology and Obstetrics Regional differences in the placental levels of oxidative stress markers

- in pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, hal.1–6. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.03.001>.
- Savaj, S. dan Vaziri, N.D., 2012. An overview of recent advances in pathogenesis and diagnosis of preeclampsia. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 6(5), hal.334–338.
- Sayyed, A. dan Sontakke, A., 2013. Study of lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia. *Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University*, 2(2), hal.69–76.
- Semenza, G.L., 2011. Hypoxia-inducible factor 1: Regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1813(7), hal.1263–1268. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2010.08.006>.
- Shu, W. et al., 2018. Evaluation of blood vessel injury, oxidative stress and circulating inflammatory factors in an l-name-induced preeclampsia-like rat model. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16(2), hal.585–594.
- Singh, S.B., Dahiya, K. dan Bharti, A., 2011. Lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia. *JK Practitioner*, 16(1–2), hal.58–60.
- Siswonoto, S., 2008. *Hubungan Kadar Malondialdehid Plasma Stroke Iskemik Akut Correlation of Plasma Malondialdehyde With Program Pasca Sarjana Program Pendidikan Dokter Spesialis I*.
- De Souza, C.O. et al., 2012. Hepatoprotective and anti-inflammatory effects of silibinin on experimental preeclampsia induced by l-NAME in rats. *Life Sciences*, 91(5–6), hal.159–165. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2012.06.036>.
- Stevani, H., 2016. *Praktikum Farmakologi. Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi*, hal.6.
- Sun, M. dan Zi, Y., 2010. Effects of preeclampsia-like symptoms at early gestational stage on fetoplacental outcomes in a mouse model. *Chinese medical journal*, 123(6), hal.707–712.
- Sunderland, N., Hennessy, A. dan Makris, A., 2011. Animal Models of Preeclampsia. *American Journal of Reproductive Immunology*, 65(6), hal.533–541.
- Talebipoor, M.S. dan Mirkhani, H., 2012. The Effect of Tempol Administration on the Aortic Contractile Responses in Rat Preeclampsia Model. *ISRN Pharmacology*, 2012, hal.1–8.
- Tamura, A., Watanabe, T. dan Nasu, M., 2003. Effects of Atorvastatin and Pravastatin on Malondialdehyde-, hal.816–820.
- Taravati, A. dan Tohidi, F., 2018. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 57(6), hal.779–790. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2018.10.002>.
- Tian, M. et al., 2016. The PD-1/PD-L1 inhibitory pathway is altered in preeclampsia and regulates T cell responses in pre-eclamptic rats. *Scientific Reports*, 6(January), hal.1–14. Available at:

- <http://dx.doi.org/10.1038/srep27683>.
- Torres, M., 2003. Mitogen-activated protein kinase pathways in redox signaling. *Frontiers in Bioscience*, 8, hal.369–391.
- Valko, M. et al., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), hal.44–84.
- Waddell, B.J., Wharfe, M.D., Crew, R.C. dan Mark, P.J., 2012. A rhythmic placenta? Circadian variation, clock genes and placental function. *Placenta*, 33(7), hal.533–539. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2012.03.008>.
- Wardhana, M.P., Dachlan, E.G. dan Dekker, G., 2018. Pulmonary edema in preeclampsia: an Indonesian case-control study. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 31(6), hal.689–695. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/14767058.2017.1295442>.
- Wassmann, S. et al., 2003. Rapid effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition on coronary endothelial function. *Circulation research*, 93(9), hal.e98–e103.
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan.*, kanisius, Yogyakarta.
- Xuan, R.R., Niu, T.T. dan Chen, H.M., 2016. Astaxanthin blocks preeclampsia progression by suppressing oxidative stress and inflammation. *Molecular Medicine Reports*, 14(3), hal.2697–2704.
- Yang, S. et al., 2019. Ameliorative effects of pre-eclampsia by quercetin supplement to aspirin in a rat model induced by L-NAME. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 116(May), hal.108969. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108969>.
- Zhou, Y. et al., 2002. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *American Journal of Pathology*, 160(4), hal.1405–1423.
- Zhu, H. et al., 2017. The effect of pre-eclampsia-like syndrome induced by L-NAME on learning and memory and hippocampal glucocorticoid receptor expression: A rat model. *Hypertension in Pregnancy*, 36(1), hal.36–43. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1228957>.

Lampiran 1 Surat Keterangan Kelaikan Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : sekr.fk@ub.ac.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 13 / EC / KEPK / 01 / 2021

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

- JUDUL** : Pengaruh Pravastatin berbagai Dosis terhadap Berbagai Parameter Biomolekuler Preeklampsia pada Tikus *Wistar* Model Preeklampsia.
- PENELITI UTAMA** : Dr. dr. Bambang Rahardjo, Sp. OG (K)
- ANGGOTA** : dr. Anin Indriani, Sp. OG
Mergy Gayatri, S. ST, M. Sc
Nur Aini Retno Hastuti, S. ST, M. Keb
Entin Srihadi Yanti, S. Keb., Bd
Restiningsih, S. Keb., Bd
Andriyanti, S. Keb., Bd
Rasyidah, S. Keb., Bd
- UNIT / LEMBAGA** : Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Biomedik, Farmakologi, dan Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- DINYATAKAN LAIK ETIK.**

Malang,
Ketua,



Prof. Dr. dr. Mochlis Sabirin, ES, SpS, SpBS(K), SH, M. Hum, Dr(Hk)
NIPK. 20180246051611001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Hasil Penelitian Wajib Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Hard Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2 Surat Keterangan Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Veteran, Malang 65145, Indonesia
Telp. +62341 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192, Fax. +62341 565420
E-mail : sekr.fk@ub.ac.id <http://fk.ub.ac.id>

SURAT KETERANGAN

Nomor 420 /UN10.F08.08/ PK.03.08.3/2021

Yang bertanda tangan dibawah ini,

nama : dr. Aulia Rahmi Pawestri, Ph.D.(Trop.Med.)
NIP/NIK : 2012018705212001
pangkat dan golongan : Penata Muda Tk. I, III/b
jabatan : Ketua Badan Penerbitan Jurnal Fakultas Kedokteran

dengan ini menerangkan bahwa,

nama : Andriyanti
NIM : 196070400111013
program studi : Magister Kebidanan
judul : Pengaruh Pravastatin terhadap Kadar MDA dan SOD pada Tikus Model Preeklamsia
jenis artikel : Tesis
jumlah halaman : 91

berdasarkan pemindaian dengan perangkat lunak Turnitin, Badan Penerbitan Jurnal Fakultas Kedokteran menyatakan bahwa Artikel Ilmiah tersebut diatas memiliki **kemiripan 3 %**

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 28 Juli 2021
Ketua Badan Penerbitan Jurnal,



Aulia Rahmi Pawestri
Aulia Rahmi Pawestri, Ph.D.(Trop.Med.)
2012018705212001

Lampiran 3 Bukti Accepted Jurnal

ICoLiST 2021 - Letter of Acceptance

<https://confbrite.org/2021/icolist/kfz/user/loa.php?m=ZDHnUtkv6>

Print this page



ICoLiST 2021

4th International Conference on Life Sciences and Technology
 Universitas Negeri Malang, 31 August 2021
 Website: <http://icolist.biologi.um.ac.id/2021>
 Email: icolist.biologi@um.ac.id

Date: 4 August 2021

Letter of Acceptance for Abstract

Dear Authors: Andriyanti(a), Restiningsih (a), Bambang Rahardjo (b*), Mukhamad Nooryanto (c), Nur Permatasari (d)

We are pleased to inform you that your abstract (ABS-148, Oral Presentation), entitled:

"EFFECT OF PRAVASTATIN ON LEVELS OF NITRIC OXIDE DAN SUPEROKSIDA DISMUTASE ON PREECLAMPSIA RAT MODEL"

has been reviewed and accepted to be presented at ICoLiST 2021 conference to be held on 31 August 2021 in Malang, Indonesia.

Please submit your full paper and make the payment for registration fee before the deadlines, visit our website for more information.

Thank You.

Best regards,



Assist. Prof. Hendra Susanto, S.Pd., M.Kes., Ph.D.
 ICoLiST 2021 Chairperson



Konfrenzi.com - Conference Management System

Lampiran 4 Analisis data

A. STATISTIK SOD

DATA KADAR SOD

K (-)	K(+)	P1	P2	P3
1,09	0,69	0,86	1,06	1,38
0,88	0,66	0,71	0,78	1,06
0,79	0,61	0,65	0,82	0,86
0,85	0,64	0,58	0,88	0,76

HASIL UJI NORMALITAS

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KADAR SOD	K Neg	,330	4	,868	4	,291
	K Pos	,146	4	,998	4	,994
	P1	,221	4	,961	4	,787
	P2	,268	4	,893	4	,397
	P3	,213	4	,942	4	,664

a. Lilliefors Significance Correction

HASIL UJI HOMOGENITAS

Test of Homogeneity of Variances

KADAR SOD			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,507	4	15	,086

HASIL UJI KOMPARASI SEMUA KELOMPOK

ANOVA

KADAR SOD					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,372	4	,093	3,867	,024
Within Groups	,361	15	,024		
Total	,732	19			

POST HOC TESTS

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: KADAR SOD							
	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K Neg	K Pos	,25316182*	,10963565	,036	,0194790	,4868447
		P1	,20259500	,10963565	,084	-,0310879	,4362779
		P2	,01589250	,10963565	,887	-,2177904	,2495754
		P3	-,11443750	,10963565	,313	-,3481204	,1192454
	K Pos	K Neg	-,25316182*	,10963565	,036	-,4868447	-,0194790
		P1	-,05056682	,10963565	,651	-,2842497	,1831160
		P2	-,23726932*	,10963565	,047	-,4709522	-,0035865
		P3	-,36759932*	,10963565	,004	-,6012822	-,1339165
	P1	K Neg	-,20259500	,10963565	,084	-,4362779	,0310879
		K Pos	,05056682	,10963565	,651	-,1831160	,2842497
		P2	-,18670250	,10963565	,109	-,4203854	,0469804
		P3	-,31703250*	,10963565	,011	-,5507154	-,0833496
	P2	K Neg	-,01589250	,10963565	,887	-,2495754	,2177904
		K Pos	,23726932*	,10963565	,047	,0035865	,4709522
		P1	,18670250	,10963565	,109	-,0469804	,4203854
		P3	-,13033000	,10963565	,253	-,3640129	,1033529
	P3	K Neg	,11443750	,10963565	,313	-,1192454	,3481204
		K Pos	,36759932*	,10963565	,004	,1339165	,6012822
		P1	,31703250*	,10963565	,011	,0833496	,5507154
		P2	,13033000	,10963565	,253	-,1033529	,3640129

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

KADAR SOD						
Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3		
Duncan ^a	K Pos	4	,6482382			
	P1	4	,6988050	,6988050		
	P2	4	,8855075	,8855075	,8855075	
	K Neg	4		,9014000	,9014000	
	P3	4			1,0158375	
	Sig.			,057	,099	,277
	Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.						

B. STATISTIK MDA

DATA KADAR MDA

K (-)	K(+)	P1	P2	P3
21,30	32,45	30,74	28,66	27,59
20,30	31,57	28,36	24,01	19,48
21,25	32,55	25,02	21,02	16,91
24,13	32,19	26,69	29,83	23,08

HASIL UJI NORMALITAS

Tests of Normality							
	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KADAR MDA	K Neg	,357	4	.	,847	4	,218
	K Pos	,249	4	.	,884	4	,356
	P1	,160	4	.	,991	4	,962
	P2	,251	4	.	,924	4	,561
	P3	,189	4	.	,978	4	,888

a. Lilliefors Significance Correction

HASIL UJI HOMOGENITAS

Test of Homogeneity of Variances				
KADAR MDA				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2.400	4	15	.096	

HASIL UJI KOMPARASI SEMUA KELOMPOK

ANOVA					
KADAR MDA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	308,814	4	77,204	8,179	,001
Within Groups	141,592	15	9,439		
Total	450,406	19			

POST HOC TESTS

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: KADAR MDA							
	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	K Neg	K Pos	-10,44852250*	2,17249285	,000	-15,0790814	-5,8179636
		P1	-5,95831000*	2,17249285	,015	-10,5888689	-1,3277511
		P2	-4,13307000	2,17249285	,076	-8,7636289	,4974889
		P3	-,02125250	2,17249285	,992	-4,6518114	4,6093064
	K Pos	K Neg	10,44852250*	2,17249285	,000	5,8179636	15,0790814
		P1	4,49021250	2,17249285	,056	-,1403464	9,1207714
		P2	6,31545250*	2,17249285	,011	1,6848936	10,9460114
		P3	10,42727000*	2,17249285	,000	5,7967111	15,0578289
	P1	K Neg	5,95831000*	2,17249285	,015	1,3277511	10,5888689
		K Pos	-4,49021250	2,17249285	,056	-9,1207714	-,1403464
		P2	1,82524000	2,17249285	,414	-2,8053189	6,4557989
		P3	5,93705750*	2,17249285	,015	1,3064986	10,5676164
	P2	K Neg	4,13307000	2,17249285	,076	-,4974889	8,7636289
		K Pos	-6,31545250*	2,17249285	,011	-10,9460114	-1,6848936
		P1	-1,82524000	2,17249285	,414	-6,4557989	2,8053189
		P3	4,11181750	2,17249285	,078	-,5187414	8,7423764
	P3	K Neg	,02125250	2,17249285	,992	-4,6093064	4,6518114
		K Pos	-10,42727000*	2,17249285	,000	-15,0578289	-5,7967111
		P1	-5,93705750*	2,17249285	,015	-10,5676164	-1,3064986
		P2	-4,11181750	2,17249285	,078	-8,7423764	-,5187414

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

KADAR MDA					
	Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	K Neg	4	21,7450625		
	P3	4	21,7663150		
	P2	4	25,8781325	25,8781325	
	P1	4		27,7033725	27,7033725
	K Pos	4			32,1935850
	Sig.			,090	,414

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

C. UJI KORELASI

1. HASIL UJI KORELASI DOSIS TERHADAP SOD

Correlations				
			Dosis	KADAR SOD
Spearman's rho	Dosis	Correlation Coefficient	1.000	.637*
		Sig. (2-tailed)	.	.026
		N	12	12
	KADAR SOD	Correlation Coefficient	.637*	1.000
		Sig. (2-tailed)	.026	.
		N	12	12

2. HASIL UJI KORELASI DOSIS TERHADAP MDA

Correlations				
			Dosis	KADAR MDA
Spearman's rho	Dosis	Correlation Coefficient	1.000	-.562
		Sig. (2-tailed)	.	.057
		N	12	12
	KADAR MDA	Correlation Coefficient	-.562	1.000
		Sig. (2-tailed)	.057	.
		N	12	12

3. HASIL UJI KORELASI KADAR SOD TERHADAP KADAR MDA

Correlations				
			KADAR SOD	KADAR MDA
Spearman's rho	KADAR SOD	Correlation Coefficient	1,000	-,438
		Sig. (2-tailed)	.	,054
		N	20	20
	KADAR MDA	Correlation Coefficient	-,438	1,000
		Sig. (2-tailed)	,054	.
		N	20	20

Lampiran 5 BB Induk dan Janin Tikus

A. BERAT BADAN INDUK TIKUS BUNTING

Kelompok	sampel	BB G1 (g)	BB G 10 (g)	BB G19 (g)
K(-)	1	173	198	210
	2	164	180	198
	3	164	179	200
	4	198	213	235
K(+)	1	182	190	219
	2	162	175	190
	3	175	190	210
	4	169	185	208
P1	1	183	208	227
	2	178	197	212
	3	185	205	221
	4	194	209	229
P2	1	170	188	205
	2	193	207	218
	3	181	195	219
	4	172	202	230
P3	1	184	196	202
	2	180	207	216
	3	175	189	204
	4	181	197	217

B. BERAT BADAN JANIN

KELOMPOK	RERATA BB JANIN (g)				RERATA BB JANIN TOTAL (g)	RERATA JUMLAH ANAK	RERATA JUMLAH FETAL YANG DIABSORSI
	SAMPEL 1	SAMPEL 2	SAMPEL 3	SAMPEL 4			
K (-)	3,41	3,31	3,17	4,53	3,61±0,63	7,25±0,48	0
K (+)	3,05	3,01	3,12	0,23	2,35±1,42	2,94±0,48	4±4,08
P 1	3,60	2,52	2,79	2,98	2,97±0,46	3,75±2,21	1,25±1,89
P 2	2,78	3,55	3,28	3,53	3,28±0,36	6,25±2,06	3±2,94
P 3	3,63	3,52	4,06	3,22	3,61±0,35	5,5±3,51	1±0,80

Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian



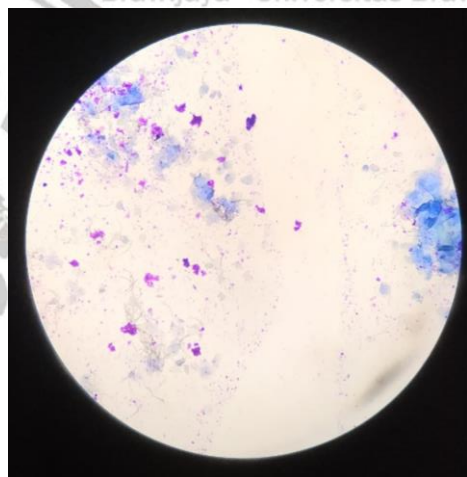
Kandang perawatan



Kandang metabolit



Swab vagina



Penampakan mikroskopis flagel sperma pada wab post mating



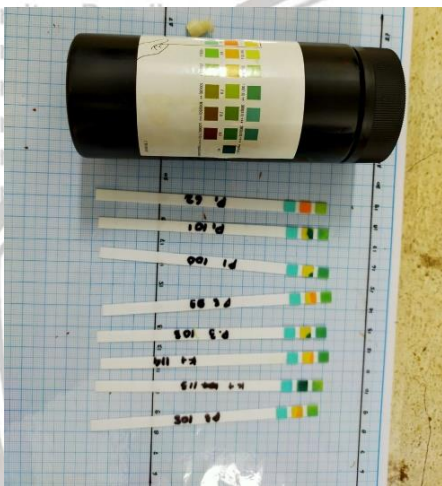
Pengecekan vaginal plug



Identifikasi kebuntingan



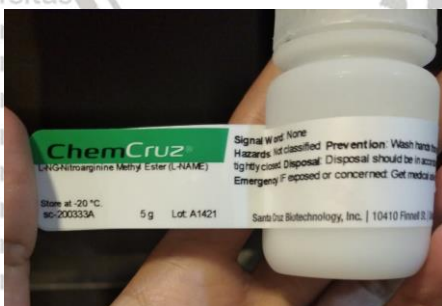
Pengukuran tekanan darah dengan CODA



Pengukuran protein urine



Penimbangan L-NAME dan pravastatin



L-NAME



Pravastatin



Penyuntikan L-NAME



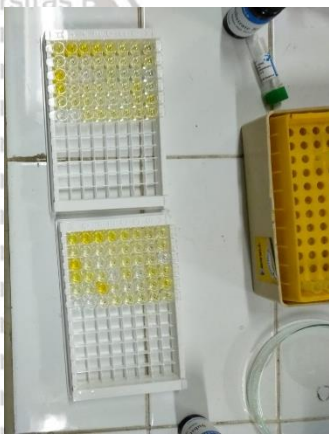
Penyondean pravatin



Pembedahan Tikus



Pengambilan darah Tikus



Pengukuran kadar MDA dan SOD dengan metode ELISA

RIWAYAT HIDUP

Andriyanti, lahir di Sidoarjo, 10 Januari 1990. Anak kedua dari empat bersaudara putri dari (Alm). Bapak Sumiyatno dan Ibu Hartini. Lulus SD Negeri Tenggulunan tahun 2002, lulus SMP Negeri 1 Candi tahun 2005 dan lulus SMA Negeri 1 Sidoarjo tahun 2008. Tahun 2008 melanjutkan pendidikan S1 Bidan di Prodi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, lulus tahun 2012.



Kemudian melanjutkan program Profesi Bidan, lulus tahun 2013. Pada tahun 2019 mengambil pendidikan Program Studi Magister Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tahun 2014 sampai dengan tahun 2017 penulis bekerja di RS Universitas Airlangga (RS UNAIR) Surabaya, kemudian tahun 2017 sampai dengan sekarang bekerja sebagai dosen di Prodi Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

