

**PENGARUH PRAVASTATIN TERHADAP KADAR
HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 α DAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β PADA TIKUS
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR MODEL
PREEKLAMPSIA**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**



Oleh :

RASYIDAH

196070400111016

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

TESIS

**PENGARUH PRAVASTATIN TERHADAP KADAR
HYPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 α DAN
TRANSFORMING GROWTH FACTOR- β PADA TIKUS
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR MODEL
PREEKLAMPSIA**

Oleh:
RASYIDAH
19670400111016

Dipertahankan didepan penguji
pada tanggal: 26 Agustus 2021
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PEMBIMBING

Dr. dr. Rahajeng, Sp. OG (K)
NIP 196912032009042002
Ketua

Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes.
NIP 197511252005012001
Anggota

Malang, 2 September 2021
Universitas Brawijaya
Fakultas Kedokteran
Dekan,



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

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 dikutip 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, 26 Agustus 2021

Mahasiswa,



Nama : Rasyidah
NIM : 196070400111016
PS : Magister Kebidanan
Fak : Kedokteran UB

HALAMAN PERUNTUKAN



Tesis ini aku persembahkan untuk Ibu dan Ramaku yang tercinta, Suami dan Anaku, serta Adik- Adikku.

“Sesungguhnya setelah kesulitan itu pasti ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap” (QS. Al-Insyirah:6-8).

“Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman dan yang berilmu beberapa tingkat lebih tinggi” (QS. Al Mujadalah:11).



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan semesta alam yang telah memberikan rahmat dan petunjuknya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Pengaruh Pravastatin terhadap Kadar *Hypoxia Inducible Factor-1 α* dan *Transforming Growth Factor- β* pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Model Preeklampsia”.

Keterkaitan penulis untuk mengangkat judul ini didasari oleh kompleksnya komplikasi yang ditimbulkan oleh preeklampsia bahkan menjadi salah satu penyebab kematian Ibu di Indonesia. Dengan memahami etiopatogenesis pada preeklampsia, maka peneliti mencoba melihat perubahan HIF-1 α sebagai penanda hipoksia dan proses dinamis pada TGF- β sebagai faktor pro angiogenik pada kehamilan preeklampsia. Beberapa penelitian telah mencoba memberikan pengobatan preeklampsia dan menemukan bahwa pravastatin bekerja dengan mengembalikan ketidakseimbangan angiogenik, peningkatan fungsi endotel dan pencegahan cedera akibat oksidasi dan peradangan. Pravastatin dalam berbagai dosis yang akan diteliti dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan terapi potensial untuk memperbaiki kondisi preeklampsia. Dengan selesainya pembuatan tesis ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Nuhfil Hanani AR, MS selaku Rektor Universitas Brawijaya beserta segenap jajarannya atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med., SpA (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, atas izin uang diberikan selama penulis menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Dr. dr. Sutrisno, SpOG (K), selaku Ketua Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberi dukungan selama menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
4. Dr. dr. Rahajeng, SpOG (K) selaku ketua komisi pembimbing dan dan Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes selaku anggota pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan masukan selama proses penyusunan tesis ini.

5. Dr. dr. Bambang Rahardjo, Sp. OG (K) selaku penguji I dan Dr. rer. nat. Tri Yudani M R., M.App. Sc. selaku penguji II yang mau memberikan masukan dan saran yang membangun.
6. Kedua orangtua, Bapak Kadarisman SE, M.Ak. dan Ibu Siti Fatimah, berkat segala cinta, doa dan dukungan sehingga penyusunan tesis ini berjalan lancar.
7. Suami Tri Septiyo Nururrohim, S.Pd. dan putriku Ghinan Nuha Zahirah, terimakasih atas segala cinta, doa dan dukungannya.
8. Adik - adikku Lutfiyatul Afifah dan Faiq Aulia Arham yang selalu menjadi *support system* terbaik.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis ini yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Sangat disadari bahwa masih ada kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Agustus 2021

Penulis



RINGKASAN

Rasyidah

Pengaruh Pravastatin terhadap Kadar *Hypoxia Inducible Factor-1 α* dan *Transforming Growth Factor- β* Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Model Preeklampsia, Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
Ketua Komisi Pembimbing: Dr. dr. Rahajeng, Sp. OG (K), Anggota: Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes.

Preeklampsia merupakan suatu kondisi patologis yang terjadi pada kehamilan yang dapat menyebabkan mortalitas maupun morbiditas pada ibu dan juga janin. Pada preeklampsia, sitotrofoblas pada sel trofoblas gagal berdiferensiasi menjadi fenotip endotel, sehingga invasi terhadap arteri spiralis menjadi dangkal. Kondisi ini dapat menyebabkan kondisi hipoksia pada plasenta. Hipoksia pada plasenta preeklampsia akan melepaskan *Syngytiotrophoblast-derived Microparticles* dan menyebabkan stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS yang meningkat merupakan tahap awal terjadinya iskemia plasenta, kemudian akan menyebabkan overekspresi HIF-1 α (*Hypoxia Inducible Factor- α*). HIF-1 α akan menyebabkan peningkatan stimulasi produksi sFlt-1 dan inaktivasi *endotelial Nitric Oxide* (eNOS) sintase, sehingga terjadi penurunan produksi NO. Penurunan kadar NO akan memberi umpan balik ke HIF-1 α sehingga akan memperburuk kondisi stres oksidatif. Peningkatan HIF-1 α juga meningkatkan produksi sFlt-1 dan sEng yang berlebihan sehingga akan menghambat TGF- β . Endoglin memodulasi signal TGF- β di sel endotel dan sEng menghambat sinyal TGF- β sehingga aktivitas Nitrit Oxide Syntase (NOS) juga terhambat. Produksi berlebihan sEng pada preeklampsia akan mengganggu bioaktivitas TGF- β sehingga menghambat vasodilatasi yang akan menyebabkan fungsi vaskular sel endotel maternal terganggu. Kondisi tersebut menyebabkan disfungsi endotel yang merupakan salah satu penyebab awal terjadinya preeklampsia.

Beberapa penelitian membuktikan bahwa pravastatin memiliki efek pencegahan atau terapi yang kuat pada preeklampsia dan berpotensi meningkatkan prognosis wanita hamil, janin, dan neonatus. Pravastatin bekerja dengan mengembalikan ketidakseimbangan angiogenik, peningkatan fungsi endotel dan pencegahan cedera akibat oksidasi dan peradangan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pravastatin berbagai dosis terhadap kadar HIF-1 α dan TGF- β pada tikus bunting model preeklampsia. Tikus bunting diberikan injeksi L-NAME (*NG-nitro-L-arginine methyl ester*) 125 mg/kgBB untuk membuat tikus model preeklampsia. Banyak penelitian membuktikan bahwa pemberian L-NAME menyebabkan disfungsi endotel dan mensimulasikan kondisi kehamilan dengan preeklampsia. L-NAME menyebabkan gangguan pensinyalan di semua arteri termasuk diantaranya memblokir aktivitas eNOS sehingga menghambat sintesis NO.

Penelitian ini merupakan *true eksperimental* dengan menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) wistar bunting model preeklampsia. Sampel sebanyak 20 ekor yang dibagi masing-masing menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif (tikus bunting normal), kelompok kontrol positif (tikus bunting model preeklampsia), perlakuan 1 (tikus bunting model preeklampsia + pravastatin dosis 2 mg), perlakuan 2 (tikus bunting model preeklampsia + pravastatin dosis 4 mg) dan perlakuan 3 (tikus bunting model preeklampsia + pravastatin dosis 8 mg).

Hasil pada penelitian ini didapatkan bahwa pemberian pravastatin dalam berbagai dosis berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar HIF-1 α pada tikus wistar bunting model preeklampsia (p value=0,000< α). Terlihat adanya penurunan kadar HIF-1 α seiring bertambahnya dosis pravastatin yang diberikan. Pemberian pravastatin dalam berbagai juga memiliki pengaruh yang bermakna dalam menaikkan kadar TGF- β (p value=0,003< α). Ada korelasi yang kuat dan berlawanan antara kadar HIF-1 α dan kadar TGF- β (p value< α).

Ketidakeimbangan oksidatif dan disregulasi dari pensinyalan *Hypoxia Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) dan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) terbukti telah terlibat dalam patogenesis preeklampsia. L-NAME diketahui bekerja menghambat sintesis NO

dengan menghambat aktifitas enzim *Heme Oxygenase-1* (HMOx-1) sehingga menimbulkan gangguan pensinyalan pada NO. Sedangkan pravastatin bekerja menghambat jalur sintesis kolesterol *3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) reductase* sehingga enzim *Heme Oxygenase-1* (HMOx-1) tidak terhambat. HMOx-1 diketahui berperan dalam katabolisme karbon monoksida (CO) dan mengaktivasi eNOS untuk memproduksi NO. CO sebagai vasodilator kuat dapat membantu menjaga keseimbangan angiogenik dengan menekan ekspresi faktor antiangiogenik. Ada derajat tinggi *crossstalk* (hubungan timbal balik) antara pensinyalan HIF-1 dan NO. Banyak respons seluler terhadap NO dimediasi oleh HIF-1 α dan juga sebaliknya. Semakin besar dosis paravastatin yang diberikan, maka level serum HIF-1 α semakin rendah. Selain itu, pensinyalan molekul TGF- β berkaitan dengan nitrit oksida pada sindroma preeklampsia. Semakin besar dosis paravastatin yang diberikan, maka level serum TGF- β semakin meningkat sehingga fungsi pro angiogenik dari TGF- β dapat bekerja maksimal. Jadi dapat ditarik kesimpulan bahwa pravastatin mampu memperbaiki disfungsi endotel yang disebabkan oleh pemberian L-NAME.



Summary

Rasyidah

Effect of Pravastatin on Hypoxia Inducible Factor-1 α and Transforming Growth Factor- β Levels in Preeclampsia Model Wistar Rats (*Rattus norvegicus*), Master program in midwifery, Faculty of Medicine, Brawijaya University
Chair of Supervisory : Dr. dr. Rahajeng, Sp. OG (K), Member: Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes.

Preeclampsia is a pathological condition that occurs in pregnancy that can cause mortality and morbidity in the maternal and neonatal. Cytotrophoblasts in trophoblast cells fail to differentiate into an endothelial phenotype, so that invasion of the spiral arteries becomes shallow. This condition can cause hypoxic conditions in the placenta. Placental Hypoxia in preeclampsia will release Syncytiotrophoblast-derived Microparticles and cause oxidative stress which is characterized by increasing Reactive Oxygen Species (ROS). Increased ROS is an early stage of placental ischemia, which will cause overexpression of HIF-1 α (Hypoxia Inducible Factor-1 alpha). HIF-1 α will cause increased stimulation of sFlt-1 production and inactivation of endothelial Nitric Oxide (eNOS) synthase, and decreasing NO levels production. Decreased levels of NO will provide feedback to HIF-1 α so that it will make oxidative stress in bad conditions. The increasing HIF-1 α level is also increases the production of sFlt-1 and sEng so that it will inhibit TGF- β . However, Endoglin modulates TGF β signal in endothelial cells but sEng inhibits TGF- β signalling so that Nitric Oxide Synthase (NOS) activity is also inhibited. Excessive production of sEng in preeclampsia will disrupt the bioactivity of TGF- β thereby inhibiting vasodilation which will cause impaired vascular function of maternal endothelial cells. This condition causes endothelial dysfunction which is one of the early stage of preeclampsia.

Several studies have shown that pravastatin has a strong preventive or therapeutic effect in preeclampsia and has the potential to improve the prognosis of pregnant women, fetuses, and neonates. Pravastatin works by restoring angiogenic imbalance, improving endothelial function and preventing oxidative and inflammatory injury.

The aim of this study was to determine the effect of pravastatin at various doses on HIF-1 α and TGF- β levels in pregnant rats with preeclampsia model. Pregnant rats were given injection of L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester) 125 mg/kgBW to make a rat model of preeclampsia. Many studies have shown that administration of L-NAME can cause endothelial dysfunction and simulate the condition of pregnancy with preeclampsia. L-NAME causes signaling disturbances in all arteries including blocking eNOS activity thereby inhibiting NO synthesis.

This study is a true experimental study using pregnant wistar rats (*Rattus norvegicus*) with a preeclampsia model. A sample of 20 individuals were divided into each 5 groups. Negative control group (normally pregnant rats), positive control group (preeclamptic model pregnant rats), treatment 1 (preeclampsia model pregnant rat + pravastatin dose 2 mg), treatment 2 (preeclampsia model pregnant rat + pravastatin dose 4 mg) and treatment 3 (pregnant rat model of preeclampsia + pravastatin dose 8 mg).

The results of this study showed that the administration of pravastatin in various doses had a significant effect in decreasing levels of HIF-1 α in rat model with preeclampsia (p value=0.000< α). There was a decreasing level of HIF-1 α corresponding with adding dose of pravastatin. Pravastatin in various dose was also had a significant effect in increasing TGF- β levels (p value=0.003< α). There is a strong correlation between HIF-1 α levels and TGF- β levels (p value< α).

Dysregulation and Oxidative imbalance of HIF-1 α and TGF- β signaling have been shown to be implicated in the pathogenesis of preeclampsia. The ability of L-NAME is known by inhibiting NO synthesis therefore the activity of the enzyme Heme Oxygenase-1 (HMOx-1) is interrupted, this condition can make NO signaling disturbances.

Pravastatin inhibit the cholesterol synthesis mediated by 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase, so that the Heme Oxygenase-1 (HMOx-1) enzyme is can activated. HMOx-1 play an imprtant role in carbon monoxide (CO) catabolism and activates eNOS to produce NO. CO as a potent vasodilator can help maintain angiogenic balance by suppressing the expression of antiangiogenic factors. There is a high degree of crosstalk between HIF-1 and NO signaling. Many cellular responses to NO are mediated by HIF-1 α and vice versa. The higher the dose of paravastatin, the lower the serum HIF-1 α level. In addition, TGF- β signaling molecule is associated with nitric oxide in the preeclampsia syndrome. The higher the dose of paravastatin, the higher the serum level of TGF- β so that the pro-angiogenic function of TGF- β can work optimally. So it can be concluded that pravastatin is able to repair endothelial dysfunction.



DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS.....	iv
HALAMAN PERUNTUKAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
RINGKASAN.....	viii
SUMMARY.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
DAFTAR SINGKATAN.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.2.1 Rumusan Masalah Umum.....	6
1.2.2 Rumusan Masalah Khusus.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	7
1.4.2 Manfaat Praktis.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Preeklampsia.....	8
2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Preeklampsia.....	8
2.1.2 Epidemiologi Preeklampsia.....	8
2.1.3 Etiologi.....	9
2.1.3.1 Plasentasi Abnormal.....	9
2.1.3.2 Ketidakseimbangan Faktor Angiogenik.....	14
2.1.3.3 Faktor Imunologi.....	15
2.1.4 Patofisiologi.....	19
2.1.5 Manifestasi Klinis.....	22
2.1.6 Faktor Risiko Preeklampsia.....	23
2.1.7 Komplikasi.....	24
2.1.8 Diagnosis Preeklampsia.....	24
2.1.9 Penatalaksanaan Preeklampsia.....	25

2.2	HIF-1 α (<i>Hypoxia Inducible Factor-1α</i>).....	27
2.2.1	Struktur HIF-1 α	27
2.2.2	Jalur Aktivasi dan Supresi	28
2.2.3	Peran HIF-1 α pada Preeklampsia	30
2.3	TGF- β (<i>Transforming Growth Factor-β</i>)	33
2.3.1	Struktur TGF- β	33
2.3.2	Jalur Aktivasi dan Supresi	34
2.3.3	Peran TGF- β pada Preeklampsia	35
2.4	Pravastatin	37
2.4.1	Struktur Kimia dan Mekanisme Aksi Pravastatin	37
2.4.2	Farmakokinetik Pravastatin	38
2.4.3	Interaksi Obat, Kontraindikasi dan Efek Samping Obat	39
2.4.4	Dosis dan Sediaan Pravastatin	40
2.4.5	Peranan Hmox-1 sebagai Jalur Proteksi Preeklampsia	40
2.4.6	Pengaruh Pravastatin terhadap Preeklampsia.....	42
2.5	Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	44
2.5.1	Klasifikasi <i>Rattus norvegicus</i>	44
2.5.2	Ciri Morfologi.....	45
2.5.3	Biologi dan Perilaku Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	45
2.5.4	Tikus Strain Wistar Model Preeklampsia	47
2.5.5	Prosedur Pemberian Obat Pada Tikus Wistar sebagai Hewan Coba dalam Penelitian	50
BAB 3 KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN		
3.1	Kerangka Teori.....	51
3.2	Kerangka Konsep.....	55
3.3	Hipotesis penelitian	57
BAB 4 METODE PENELITIAN		
4.1	Jenis dan Desain Penelitian	58
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian	58
4.2.1	Populasi	58
4.2.2	Sampel dan Besar Sampel.....	58
4.2.3	Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	60
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	61
4.4	Bahan dan Alat.....	61
4.5	Variabel Penelitian	62
4.6	Definisi Operasional	63
4.7	Prosedur Penelitian	63
4.7.1	Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba Tikus Wistar	63
4.7.2	Pengawinan Tikus Betina Strain Wistar.....	64
4.7.3	Randomisasi	64
4.7.4	Pembuatan Model Preeklampsia pada Hewan Coba	64
4.7.5	Pemberian Pravastatin	66
4.7.6	Pengukuran Tekanan darah.....	67
4.7.7	Pengukuran Protein Urin	68
4.7.8	Pengambilan Darah Tikus Strain Wistar Model Preeklampsia	68
4.7.9	Pengukuran kadar HIF-1 α dan kadar TGF- β	69
4.8	Analisis Data	71
4.9	Alur Penelitian	73

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Tikus Buting Model Preeklampsia	74
5.2 Analisis Data	78
5.2.1 Hasil Uji Syarat Parametrik	78
5.2.2 Hasil Uji Kadar HIF-1 α	79
5.2.3 Hasil Uji Kadar TGF- β	80
5.2.4 Hasil Uji Korelasi	82
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Tekanan darah dan Protein Urin pada Tikus Wistar Model Preeklampsia	84
6.2 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar HIF-1 α pada Tikus Wistar Model Preeklampsia.....	87
6.3 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar TGF- β pada Tikus Wistar Model Preeklampsia.....	89
6.4 Kendala dan Keterbatasan Penelitian.....	91
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan.....	92
7.2 Saran.....	92
DAFTAR PUSTAKA.....	93
LAMPIRAN	109
RIWAYAT HIDUP	124



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nama Dagang, Nama Generik, Sediaan Pravastatin..... 40

Tabel 2.2 Jumlah Maksimum Volume Pemberian Obat pada Hewan Uji Coba dalam Beberapa Metode Pemberian (dalam ml)..... 50

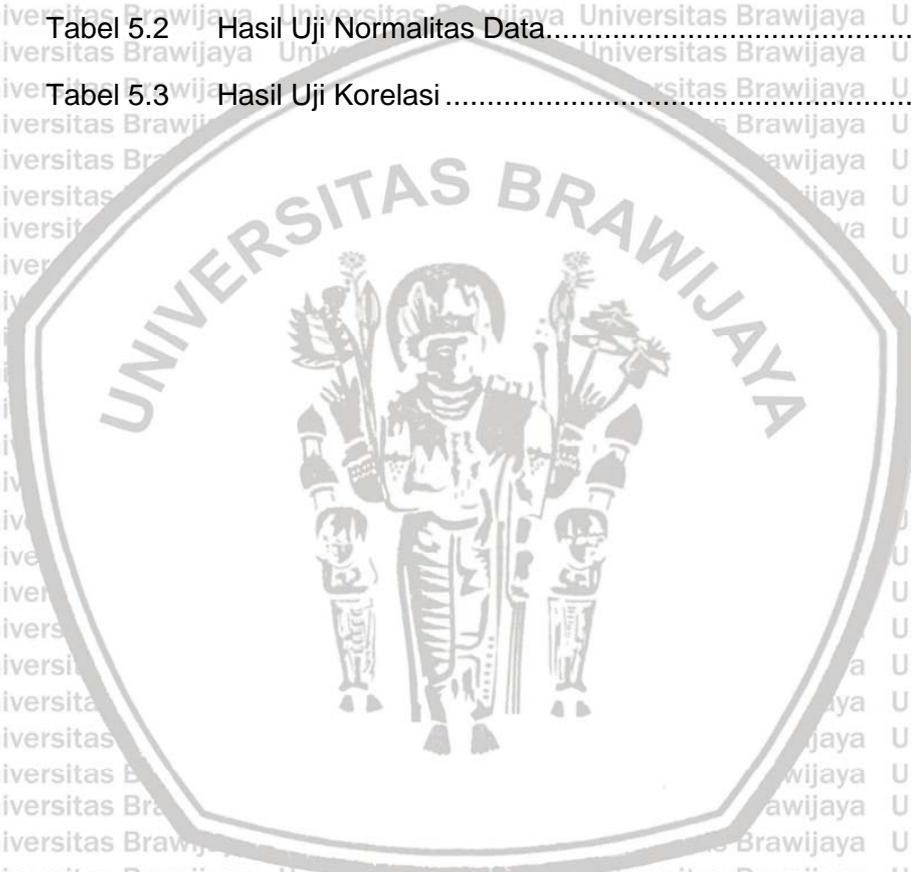
Tabel 2.3 Konversi Dosis Manusia dan Antar Jenis Hewan..... 50

Tabel 4.1 Definisi Operasional..... 62

Tabel 5.1 Karakteristik Tikus Bunting Berdasarkan Kriteria Eksklusi dan Drop Out..... 74

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Data..... 78

Tabel 5.3 Hasil Uji Korelasi..... 82



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Remodelling Vaskuler Plasenta pada Kehamilan Normal dan Pada Preeklampsia	11
Gambar 2.2	Invasi Trofoblast terhadap Arteri Spiralis	13
Gambar 2.3	Tahap Angiogenesis	14
Gambar 2.4	Keseimbangan Thelper 1 dan Thelper 2	16
Gambar 2.5	Peran Disregulasi Immunologis dalam Patofisiologi Preeklampsia	17
Gambar 2.6	Skema Patofisiologi Preeklampsia	19
Gambar 2.7	Faktor yang Terlibat dalam Patofisiologi Preeklampsia	21
Gambar 2.8	Gambar Molekul HIF-1 α	27
Gambar 2.9	Hidroksilasi HIF-1 α oleh Oksigen	27
Gambar 2.10	Gambar Aktivasi Gen yang Berespon terhadap Hipoksia yang diinduksi oleh HIF-1 α	28
Gambar 2.11	Jalur <i>Signalling</i> HIF-1 α	29
Gambar 2.12	Representasi Mekanisme Pengaruh NO terhadap HIF-1 α pada Preeklampsia	32
Gambar 2.13	Struktur TGF- β	33
Gambar 2.14	Jalur Aktivasi dan Supresi TGF- β	34
Gambar 2.15	Penghambatan TGF- β oleh sEng	36
Gambar 2.16	Struktur Kimia Pravastatin	37
Gambar 2.17	Jalur Pertahanan Endogen dalam Kehamilan	41
Gambar 2.18	Patomekanisme Preeklampsia dan Efek Pleiotropik Statin	43
Gambar 2.19	<i>Rattus norvegicus</i>	45
Gambar 3.1	Kerangka Teori	51
Gambar 3.2	Kerangka Konsep	55
Gambar 4.1	Cara Sampling	59
Gambar 4.2	Alur Penelitian	73



Gambar 5.1 Karakteristik Tekanan darah Sistolik Tikus Wistar Sebelum dan Sesudah diberikan L-NAME dan Pravastatin 75

Gambar 5.2 Karakteristik Proteinurin Sistolik Tikus Wistar Sebelum dan Sesudah diberikan L-NAME dan Pravastatin..... 77

Gambar 5.3 Histogram Rerata Kadar HIF-1 α pada Semua Kelompok Sampel setelah diberikan L-NAME dan Pravastatin 79

Gambar 5.4 Histogram Rerata Kadar TGF- β pada Semua Kelompok Sampel setelah diberikan L- NAME dan Pravastatin 81



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Kelaikan Etik.....109

Lampiran 2 Surat Keterangan Bebas Plagiasi.....110

Lampiran 3 Bukti *Accepted* Jurnal.....111

Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian.....112

Lampiran 5 Analisis Data.....118



DAFTAR SINGKATAN

ACOG : *American Congress of Obstetricians and Gynecologists*

ADMA : *Asymmetric Dimethyl-L-Arginine*

AKI : *Angka Kematian Ibu*

ALK : *Activin Receptor – Like Kinase*

ARG : *Arginin*

ARNT : *Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator*

AT-1AA : *Angiotensin II Type-1 Receptor Autoantibodies*

CBP : *Cyclic AMP Response Element-Binding Protein*

DIC : *Disseminated Intra Coagulant*

eNOS : *endothelial Nitric Oxide Synthase*

EPO : *erythropoietin*

ET-1 : *Endothelin-1*

FDA : *Food and Drug Association*

FIH : *Factor Inhibiting HIF-1*

FSH : *Follicle Stimulating Hormone*

H₂O₂ : *Hidrogen Peroksida*

HELLP : *Hemolytic Elevated Liver Enzim And Low Platelet*

HIF-1 α : *Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha*

HMG-CoA : *Hidroksimetilglutaril-Koenzim A*

Hmox-1 : *Heme Oxygenase 1*

IFN γ : *Interferon Gamma*

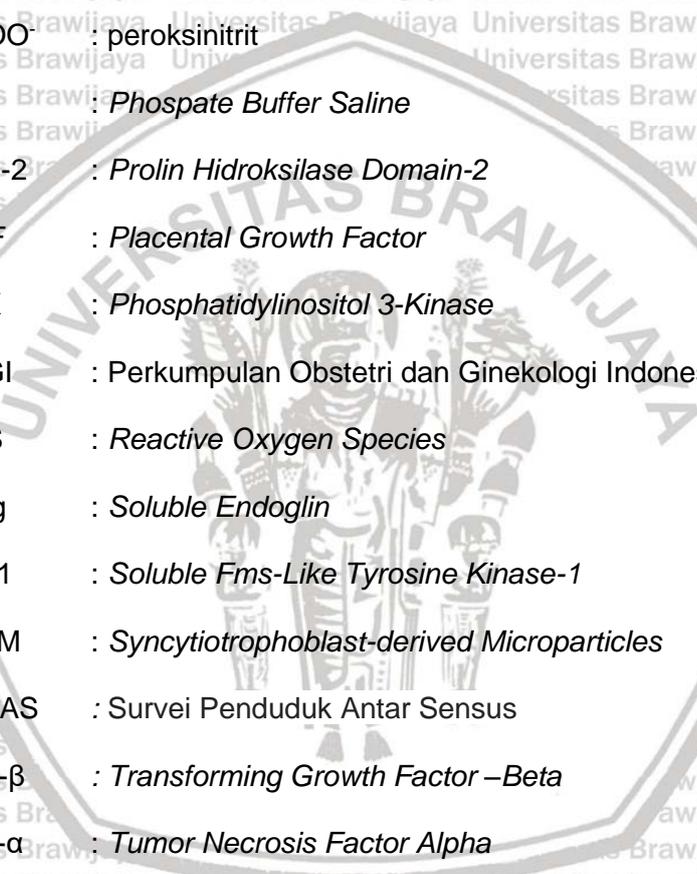
IUGR : *Intra Uterine Growth Restriction*

Kemenkes : *Kementerian Kesehatan*

LDA : *Low Dose Aspirin*

LH : *Luteinizing Hormone*

- LMWH : *Low Molecular Weight Heparin*
- MAPK : *Mitogen-Activated Protein Kinase*
- MDA : *Malondialdehyde*
- NADPH : *Neutrofil Nicotinamide Adenin Dinucleotida Fosfat*
- NO : *Nitric Oxide*
- O₂⁻ : *superoksida*
- OH⁻ : *Hidroksil*
- ONOO⁻ : *peroksinitrit*
- PBS : *Phospate Buffer Saline*
- PHD-2 : *Prolin Hidroksilase Domain-2*
- PIGF : *Placental Growth Factor*
- PI3K : *Phosphatidylinositol 3-Kinase*
- POGI : *Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia*
- ROS : *Reactive Oxygen Species*
- sEng : *Soluble Endoglin*
- sFlt-1 : *Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase-1*
- STBM : *Syncytiotrophoblast-derived Microparticles*
- SUPAS : *Survei Penduduk Antar Sensus*
- TGF-β : *Transforming Growth Factor –Beta*
- TNF-α : *Tumor Necrosis Factor Alpha*
- VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*
- VPL : *Von Hippel Lindau*
- WHO : *World Health Organization*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Angka Kematian Ibu (AKI) merupakan salah satu indikator status kesehatan suatu negara. Pada pelaporan *Millenial Development Goals* (MDGs) tahun 2017, Indonesia merupakan negara dengan AKI tertinggi ketiga di Asia Tenggara pada tahun 2015, yaitu 305 per 100.000 kelahiran hidup, dan turun menjadi 177 per 100.000 kelahiran hidup tahun 2017. Sedangkan Target *Sustainable Development Goals* (SDGs) AKI diharapkan menurun menjadi 70 per 100.000 kelahiran hidup pada tahun 2030 di seluruh negara (Kemenkes RI, 2020).

Menurut WHO, 16% kematian ibu di seluruh negara dikaitkan dengan gangguan hipertensi. Penyebab tertinggi kematian ibu di Indonesia pada tahun 2016 adalah gangguan hipertensi selama kehamilan (33,07%), perdarahan obstetri (27,03%) dan infeksi (6,06%). Menurut data Profil Kesehatan Indonesia tahun 2019, jumlah AKI tahun 2019 di provinsi Jawa Timur merupakan tertinggi ke-2 setelah Provinsi Jawa Barat, yaitu sebanyak 520 orang dengan penyebab terbanyak adalah hipertensi kehamilan yang berjumlah 162 orang. Preeklampsia adalah salah satu gangguan hipertensi selama kehamilan yang sering terjadi (Cunningham, 2014; Kemenkes RI, 2020)

Preeklampsia merupakan sindroma klinis dengan karakteristik hipertensi dan proteinuria setelah usia kehamilan 20 minggu yang sebelumnya normotensi (Ghulmiyyah, 2012; Burton *et al*, 2019; Ives *et al*, 2020). Preeklampsia mempengaruhi 5-10% kehamilan, dan menjadi salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas maternal dan neonatal di seluruh dunia. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan kematian ibu sekitar 70.000 dan juga

kematian janin dan neonatal lebih dari 500.000 setiap tahunnya yang disebabkan oleh kehamilan dengan preeklampsia. (Isha, 2011; Han *et al*, 2014).

Manifestasi klinis pada preeklampsia adalah hipertensi dan proteinuria yang melibatkan endotelium sebagai target. (Watanabe *et al*, 2013; Cunningham, 2014). Hipertensi pada preeklampsia ditandai dengan vasokonstriksi perifer dan penurunan *compliance* dari arteri dan proteinuria berhubungan dengan lesi patognomonik pada renal, di mana sel-sel endotel dari glomerulus membengkak dan hilangnya fenestrasi endotelial. Preeklampsia dapat mempengaruhi semua sistem organ dan jika tidak ditangani dengan baik biasanya akan berkembang menjadi eklampsia (Langelo, 2013; Cunningham *et al*, 2014; Burton *et al*, 2019).

Mekanisme yang menyebabkan preeklampsia masih belum jelas, namun "Teori Dua Tahap" menjelaskan kemungkinan patofisiologi preeklampsia. Tahap pertama dimulai dari invasi trofoblas yang buruk sehingga terjadi plasentasi abnormal, pembentukan kembali pembuluh darah arteri spiralis yang tidak lengkap, dan hipoksia plasenta. Tahap kedua bermanifestasi sebagai sindrom ibu hipertensi dan proteinuria dengan disfungsi endotel sistemik. Tahap pertama dikaitkan dengan respon imun dan faktor genetik, tahap kedua diduga karena peningkatan faktor antiangiogenik sistemik, aktivasi respon inflamasi dan adanya faktor imunologi tertentu (Mirkovic *et al*, 2018; Ives *et al*, 2020).

Ketersediaan oksigen sangat mempengaruhi fungsi plasenta pada semua tahap kehamilan. *Hypoxia Inducible Factors-1 α* merupakan mediator utama adaptasi plasenta. Invasi trofoblas yang dangkal pada plasenta menyebabkan gagalnya remodeling arteriol spiral yang akan menginisiasi keadaan hipoksia. Pada plasenta hipoksia, terjadi peningkatan regulasi HIF-1 α yang merupakan faktor transkripsi kunci dan pengatur sel sebagai respons terhadap kadar oksigen yang rendah. Plasentasi abnormal merupakan tahap

pertama dari “Teori Dua Tahap” (Rath *et al.*, 2014; Galbiati *et al.*, 2015; Mirkovic *et al.*, 2018).

Proses plasentasi membutuhkan peranan angiogenesis untuk memenuhi kebutuhan oksigen dan nutrisi janin. Angiogenesis melibatkan peran faktor pro angiogenik dan faktor antiangiogenik yang berperan penting untuk pembentukan pembuluh darah baru dalam perkembangan plasenta. Faktor antiangiogenik yaitu sFlt-1 dan sENG, sedangkan faktor angiogenik yaitu TGF- β , VEGF, PIGF.

Gangguan angiogenesis merupakan indikator pertama kerusakan sel endotel pada pasien preeklampsia dan merupakan tahap 2 dari “Teori Dua Tahap” yang menyebabkan sindrom maternal (Blank & Karlsson, 2015; Mirkovic *et al.*, 2018; Rana *et al.*, 2019; Villalaina, 2020).

Pemeriksaan yang dapat membantu penegakan diagnosa preeklampsia selain gejala klinis dan pemeriksaan ultrasonografi doppler terhadap arteri uterina adalah penanda biologis. Penanda biologis preeklampsia yang digunakan sebagai prediktor pasti masih belum ada, namun beberapa biomarker yang berhubungan dengan sel trofoblast dapat menggambarkan adanya disfungsi plasenta, yaitu faktor angiogenik seperti sFlt-1, sEng VEGF, PIGF, TGF- β . TGF- β membantu pembentukan pembuluh darah baru serta meningkatkan permeabilitas vaskular dan merupakan mediator inflamasi yang hampir ditemukan dalam semua organ (Sulistyowati, 2017; Ives *et al.*, 2020).

Banyak penelitian yang mengamati level HIF-1 α meningkat pada kondisi preeklampsia, sehingga HIF-1 α dianggap memiliki potensi signifikan sebagai penanda preeklampsia. (Burke, 2013; Akhiles *et al.*, 2014). Faktor proangiogenik TGF- β masih sedikit diteliti dibandingkan VEGF dan PIGF yang banyak diteliti sebagai penanda biologis dari preeklampsia. VEGF, PIGF dan TGF- β adalah faktor proangiogenik, bedanya VEGF dan PIGF dipengaruhi oleh faktor

antiantiogenik sFlt-1, sedangkan TGF- β dipengaruhi oleh faktor antiangiogenik sEng.

Terapi dasar untuk preeklampsia sejauh ini adalah terminasi kehamilan, dan berisiko meningkatnya kejadian kelahiran prematur. Wanita preeklampsia juga dilaporkan berisiko terkena penyakit kardiovaskular dalam waktu 10 tahun setelah melahirkan. Berbagai obat telah diteliti kemampuannya untuk mencegah dan mengobati preeklampsia. Statin dilaporkan dapat meningkatkan regenerasi endotel vaskular, dan pravastatin merupakan golongan obat statin yang merupakan kandidat terkuat untuk pencegahan dan terapi potensial untuk preeklampsia (Constantine, 2013; Brown *et al*, 2018; Alwis *et al*, 2020).

Pravastatin bekerja dengan mengembalikan ketidakseimbangan angiogenik, peningkatan fungsi endotel dan pencegahan cedera akibat oksidasi dan peradangan (Majewska *et al*, 2018; Smith, 2020). Pravastatin dianggap ampuh mengatur stres oksidatif melalui ekspresi *Heme-Oxygenase-1* (Hmox-1) yang melalui jalur sintesis kolesterol HMG-CoA *reductase* sehingga mampu menekan ekspresi sFLT-1 dan sENG serta mampu meningkatkan kadar TGF- β dan NO pada sel endotel (Brownfoot *et al.*, 2016; Girardi, 2017; Putra *et al.*, 2018; Alwis *et al*, 2020).

Beberapa uji klinis kecil telah melaporkan bahwa pravastatin memiliki efek pencegahan dan juga terapi yang kuat pada preeklampsia yang berpotensi meningkatkan prognosis wanita hamil, janin, dan neonatus (Jurisic *et al*, 2018).

Uji klinis yang dilakukan Brownfoot *et al* (2015) membuktikan bahwa 40 mg pravastatin yang diberikan setiap hari dapat menstabilkan tekanan darah dan mencegah kejadian prematur pada 3 dari 4 ibu hamil preeklampsia dengan usia kehamilan <30 minggu. Lefkou *et al* (2016) menambahkan pravastatin 20 mg/hari pada 10 ibu hamil preeklampsia yang menerima pengobatan LMWH plus LDA dan hasilnya adalah hipertensi dan proteinuria menjadi stabil sejak 10 hari

setelah pengobatan dan aliran darah plasenta meningkat dibandingkan kelompok kontrol yang menerima pengobatan LMWH plus LDA saja. Costantine *et al* (2016) setelah berkonsultasi dengan FDA memberikan pravastatin dosis 10 mg/hari untuk kelompok berisiko tinggi preeklampsia, hasilnya yaitu 5 dari 10 pasien tersebut yang mengalami preeklampsia, dan berat badan lahir bayi pada ibu yang diberikan pravastatin juga lebih besar dibandingkan kelompok yang diberikan placebo. Jurisic *et al*, (2018) juga menunjukkan bahwa pravastatin + L-Arginin mungkin menjadi pilihan terapi yang baik untuk meningkatkan aliran darah di arteri umbilikalis sehingga memperpanjang usia kehamilan dan memperbaiki kondisi janin pada kehamilan kembar. Jadi, ada kemungkinan terapi murah dan banyak tersedia untuk preeklampsia di seluruh dunia, jika pravastatin yang merupakan HMGCoA *reductase inhibitor* terbukti aman dalam uji coba terkontrol secara acak (*Random Control Trial*) (Ahmed&Ramma, 2015).

Meskipun studi pemberian pravastatin pada wanita hamil telah dilakukan, namun kelayakan untuk menyelidiki patofisiologi preeklampsia pada wanita hamil terbatas, sehingga penelitian terhadap hewan coba tetap dilakukan untuk studi yang lebih mendalam untuk kepentingan terapi ataupun pencegahan preeklampsia (Constantine *et al*, 2016; Girardi, 2017; Gattford *et al*, 2020). Hewan coba menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pertimbangan karena banyak digunakan dalam berbagai penelitian, mempunyai kemampuan beradaptasi hidup dalam lingkungan laboratorium, mudah diberi perlakuan, lebih tenang dan ukuran lebih besar dari mencit (Tolistiawaty, 2014; Rauf *et al.*, 2018).

Pembuatan tikus model preeklampsia dapat dilakukan dengan pemberian NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) yang merupakan inhibitor NO synthase (NOS) yang terbukti dapat menginduksi preeklampsia. (Hale *et al*, 2011; Araujo *et al*; Shu *et al*, 2018). Pemberian L-NAME terbukti dapat menyebabkan hipertensi jangka panjang, hipovolemia, retardasi pertumbuhan

intrauterine, proteinuria, trombositopenia, dan morfologi ginjal abnormal, mirip dengan gejala gangguan hipertensi pada kehamilan. Identifikasi preeklampsia pada hewan coba dengan melakukan pemeriksaan tekanan darah menggunakan alat pengukur *scientific CODA* dan dipstik test pada urin metabolit (Zhu *et al.*, 2016; Amaral *et al.*, 2017; Rahardjo *et al.*, 2020).

Adebambo *et al* (2018) menjelaskan bahwa ketidakseimbangan oksidatif dan disregulasi dari pensinyalan HIF-1 α dan TGF- β terlibat dalam patogenesis preeklampsia. HIF-1 α dan TGF- β juga sama-sama berhubungan langsung dengan NO dengan jalur pensinyalan masing-masing. Peningkatan ekspresi relatif HIF-1 α mencapai maksimum pada induksi hipoksia sistemik hari ke 7 pada jantung (Wanandi *et al.*, 2010). Kondisi HIF- α yang meningkat pada kondisi preeklampsia akan memicu peningkatan sFit-1 dan sEng. Peningkatan sEng akan menghambat pensinyalan TGF- β dan memblokir aktivasi sintase oksida nitrat dalam sel endotel sehingga menurunkan efek proangiogenik dan vasodilatasi dari TGF- β pada endotel normal (Lucca *et al.*, 2015; Burton *et al.*, 2019; Zhang *et al.*, 2020). Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin mengetahui pengaruh pravastatin berbagai dosis terhadap kadar HIF-1 α dan TGF- β pada tikus strain wistar model preeklampsia.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah pemberian pravastatin mampu menurunkan kadar *Hypoxia Inducible Factor-1 alpha* dan meningkatkan kadar *Transforming Growth Factor- β* pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1.2.2.1 Apakah pemberian pravastatin dengan berbagai dosis dapat menurunkan kadar serum HIF-1 α pada tikus strain wistar model preeklampsia?

1.2.2.2 Apakah pemberian pravastatin dengan berbagai dosis dapat meningkatkan kadar serum TGF- β pada tikus strain wistar model preeklampsia?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Setelah dilakukan penelitian ini, diharapkan dapat membuktikan pengaruh pemberian pravastatin terhadap kadar HIF-1 α dan TGF- β pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia.

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Menganalisis pengaruh pravastatin terhadap penurunan kadar serum HIF-1 α pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia.

1.3.2.2 Menganalisis pengaruh pravastatin terhadap peningkatan kadar serum TGF- β pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian pravastatin terhadap penurunan kadar HIF-1 α dan peningkatan kadar TGF- β pada hewan coba tikus bunting model preeklampsia.

1.4.2 Manfaat Praktis

- Memberikan kontribusi pengetahuan di bidang fetomaternal dalam upaya mengurangi morbiditas dan mortalitas maternal akibat preeklampsia.
- Sebagai dasar uji klinis selanjutnya penggunaan pravastatin untuk memperbaiki kondisi preeklampsia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Preeklampsia

2.1.1 Definisi dan Klasifikasi Preeklampsia

Preeklampsia adalah kelainan yang terjadi pada kehamilan yang ditandai dengan hipertensi onset baru pada usia kehamilan lebih dari 20 minggu.

Proteinuria sering muncul sebagai tanda pada kehamilan dengan preeklampsia namun tanda atau gejala preeklampsia lainnya juga dapat muncul tanpa disertai proteinuria (ACOG, 2019).

Preeklampsia adalah hipertensi onset baru setelah usia kehamilan 20 minggu (tekanan sistolik ≥ 140 mmHg dan/atau tekanan diastolik ≥ 90 mmHg) seringkali disertai dengan proteinuria dan dapat dikaitkan dengan edema dan peningkatan agregasi platelet. Preeklampsia dapat berkembang menjadi eklampsia dengan gejala kejang parah yang dapat mengakibatkan koma dan kematian jika tidak diobati dengan tepat (Brennan *et al.*, 2014; Burton *et al.*, 2019).

Preeklampsia adalah kelainan gestasional yang dapat mempengaruhi 5%-10% dari kehamilan, ditandai dengan hipertensi dan proteinuria yang menjadi salah satu penyebab kematian ibu dan janin. Berdasarkan waktunya, preeklampsia dibagi menjadi *early onset*, yaitu preeklampsia terjadi pada usia kehamilan < 34 minggu dan *late onset*, yaitu preeklampsia yang terjadi pada usia kehamilan ≥ 34 minggu. Klasifikasi preeklampsia menjadi preeklampsia ringan dan preeklampsia berat. Preeklampsia ringan merupakan sindrom spesifik kehamilan dengan tekanan darah $\geq 140/90$ mmHg dan proteinuria yang signifikan (≤ 300 mg/24 jam). Preeklampsia berat ditandai dengan tekanan darah $\geq 160/110$ mmHg, disertai proteinuria $\geq 5g/24$ jam atau $+3$ atau lebih (Prawirohardjo, 2013).

2.1.2 Epidemiologi Preeklampsia

Prevalensi preeklampsia terjadi pada sekitar 5%-10% kehamilan di seluruh dunia dan menyumbang 10%-15% dari angka kematian ibu.

Preeklampsia menjadi penyebab ketiga terbesar mortalitas dan morbiditas maternal menurut *World Health Organization (WHO)* dengan perkiraan 62.000 sampai 77.000 kematian dari sekitar 127 juta kelahiran setiap tahunnya.

Preeklampsia juga menyebabkan kematian 500.000 neonatal setiap tahunnya selain mortalitas dan morbiditas ibu (Abalos *et al.*, 2013; Sutton *et al.*, 2018; English *et al.*, 2015).

Kejadian preeklampsia di setiap negara berbeda, mungkin disebabkan oleh perbedaan geografis, sosial, ekonomi dan ras. Hal ini juga mungkin karena perawatan maternal yang kurang, akses perawatan ke rumah sakit yang kurang memadai, sumber daya, dan kurang tepatnya diagnosis yang dilakukan. AKI Indonesia akibat preeklampsia masih cukup tinggi dibanding negara lain di Asia Tenggara atau dunia (Ghulmiyyah *et al.*, 2012; Lo *et al.*, 2013; Muhani, 2015).

Menurut SUPAS tahun 2016, AKI sebesar 91 per 100.000 kelahiran hidup di provinsi Jawa Timur. Penyebab tertinggi kematian ibu pada tahun 2016 adalah preeklampsia/ eklampsia, yaitu sebesar 165 orang (30,90%). Menurut data Profil Kesehatan Indonesia tahun 2020, jumlah AKI tahun 2019 di provinsi Jawa Timur merupakan tertinggi ke-2 setelah Provinsi Jawa Barat, yaitu sebanyak 520 orang dengan penyebab terbanyak adalah hipertensi kehamilan yang berjumlah 162 orang (Kemenkes RI, 2020).

2.1.3 Etiologi

Penyebab pasti terjadinya preeklampsia masih belum jelas, sehingga dikatakan bahwa preeklampsia adalah "*the disease of theories*". Adapun berbagai teori yang dijelaskan adalah:

2.1.3.1 Plasentasi abnormal

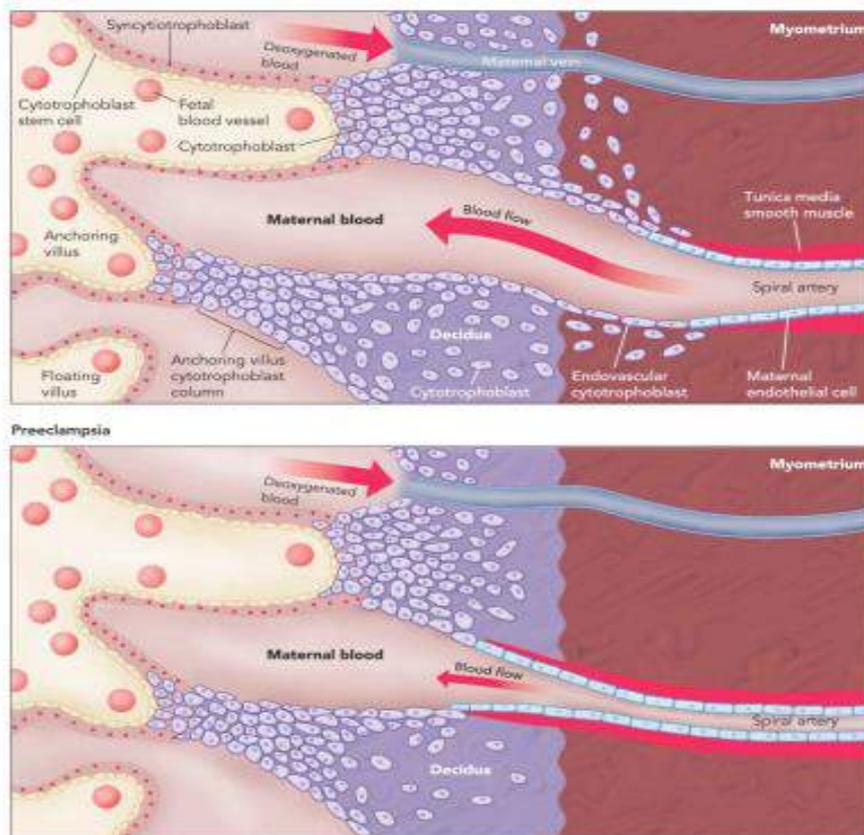
Plasenta adalah sebuah organ khusus yang mengatur pertumbuhan janin dan kondisi ibu selama kehamilan, yang berperan sebagai mediator fetomaternal dan segera berakhir setelah melahirkan. Kehamilan yang normal tergantung pada pembentukan plasenta. Kondisi patologi selama kehamilan seperti preeklampsia dan pertumbuhan janin terhambat berhubungan erat dengan terjadinya disfungsi plasenta. Plasentasi yang sukses memerlukan invasi tropoblas yang dalam, dan vaskularisasi tropoblas yang membentuk aliran pembuluh darah fetomaternal yang diakhiri dengan remodeling pembuluh darah maternal yang komplis pada tingkat arteri spiralis untuk memperoleh sirkulasi uteroplasental yang efektif (Furuya *et al.*, 2011; Possomato, 2016).

Plasenta manusia terbagi atas tiga lapisan jaringan, yaitu (1) basal plate (permukaan maternal) dan anchoring villi (ekstensi paling distal dari batang vili utama) yang berinteraksi langsung dengan endometrium maternal, (2) unit vili-vili terminal dimana tempat terjadinya pertukaran gas dan nutrisi secara aktif, dan (3) chorionic plate (permukaan sisi fetal) dan batang vili yang berasal dari jaringan ikat padat berisi pembuluh fetal yang lebih besar. Amnion dan korion menutupi *chorionic plate*, dan tali pusat mengumpulkan arteri dan vena korionik pada *chorionic plate*. Struktur yang mendasar dari plasenta terbentuk selama pertengahan awal kehamilan (Uzan *et al.*, 2011; Possomato, 2016).

Selama plasentasi normal, terjadi invasi tropoblas ke arteri spiralis uterus. Invasi sel tropoblas tersebut menyebabkan kerusakan lapisan otot, lapisan elastik, dan jaringan saraf yang terdapat pada dinding arteri spiralis dan penggantian sel endotel dengan sel tropoblas. Interaksi ini bertujuan untuk menginduksi pembentukan pembuluh darah ibu ke dalam pembuluh dengan kapasitas tinggi dan resistensi rendah yang dapat menyediakan akses oksigen ke dalam sirkulasi ibu dan nutrisi untuk plasenta dan untuk perkembangan janin.

Sel trofoblas mengadopsi fenotip endotel, dan mengekspresikan molekul adesi yang secara klasik ditemukan pada permukaan sel endotel selama invasi. Hal ini disebut dengan *pseudovasculogenesis* atau *epithelial-endothelial transformation*.

Jika invasi sel trofoblas mampu melakukan diferensiasi sel, maka arteri spiralis pada uterus dilapisi oleh sel trofoblas pada akhir trimester kedua kehamilan, sehingga sel endotel tidak ditemukan di endometrium dan miometrium bagian superficial. Akhirnya arteri spiralis mempunyai diameter yang lebih besar sebagai kompensasi agar suplai darah ke janin yang sedang berkembang dapat meningkat (Furuya *et al.*, 2011; Powe *et al.*, 2011; Mayrink *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Remodeling vaskuler plasenta pada kehamilan normal dan preeklampsia (Powe *et al.*, 2011).

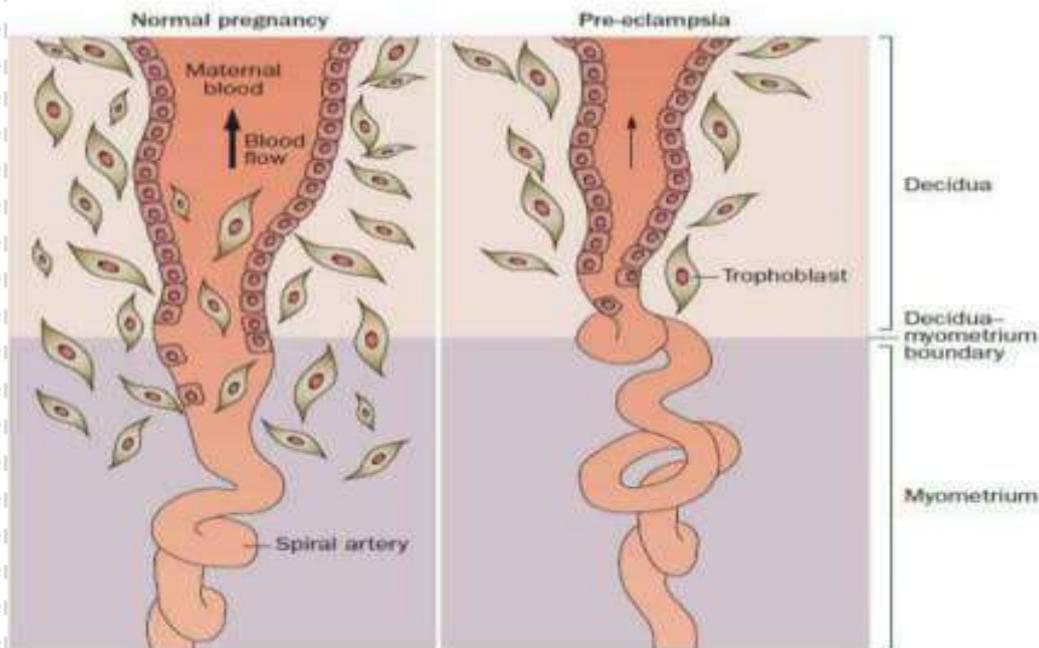
Keterangan: Gambar atas menunjukkan remodelling vaskular pada kehamilan normal dan pada gambar bawah menunjukkan kegagalan remodelling arteri spiralis pada kehamilan dengan preeklampsia. Pada preeklampsia, invasi sel trofoblas ke arteri spiralis tidak sempurna, sitotrofoblas gagal berdiferensiasi menjadi fenotip endotel, sehingga invasi terhadap arteri spiralis menjadi lebih dangkal. Pembuluh darah tetap kaku dan menyempit sehingga arteri spiralis mengalami vasokonstriksi.

Preeklampsia diawali dengan adanya gangguan invasi trofoblas terhadap arteri spiralis yang terjadi pada usia kehamilan antara 8-16 minggu.

Invasi sitotropoblas yang tidak sempurna pada preeklampsia terjadi pada bagian proksimal desidua sehingga 30-50% arteri spiralis pada dasar plasenta mengalami kegagalan remodeling, dan komponen otot dan jaringan saraf secara anatomi masih utuh. Penyebab utama invasi sitotropoblas yang dangkal masih sulit dipahami (Powe *et al*, 2011; Gathiram, 2016; Mayrink *et al*, 2018).

Arteri spiralis yang mengalami kegagalan "*remodeling arteri spiralis*" mempunyai diameter pembuluh darah yang lebih kecil (vasokonstriksi), memiliki resistensi tinggi yang menyebabkan aliran darah ke plasenta berkurang (insufisiensi aliran uteroplasenta) yang menyebabkan suplai oksigen dan nutrisi berkurang, sehingga perubahan abnormal dari sitotrofoblas menyebabkan hipoksia pada plasenta. Hipoksia sebagai akibat dari plasentasi abnormal menyebabkan terjadinya penurunan perfusi pada plasenta sehingga berkontribusi terhadap timbulnya komplikasi yang terjadi pada janin dan ibu (Hagman, 2012 ; Burke, 2013).

Invasi yang dangkal sel trofoblas pada lapisan arteri spiralis dan matriks jaringan menyebabkan arteri spiralis tidak mengalami distensi dan vasodilatasi, sehingga terjadi penurunan perfusi plasenta. Plasenta mengeluarkan molekul berupa molekul adhesi interseleuler-1 (ICAM-1) dan molekul adhesi sel vaskuler-1 (VCAM-1) saat kondisi hipoksia, dan juga kadar prostaglandin yang meningkat, sedangkan aktifitas Nitric Oksida sel endotel mengalami *down regulasi*. Iskemia plasenta akan merangsang sistem imun maternal sehingga menghasilkan sitokin proinflamasi, stres oksidatif, apoptosis sel dan kerusakan struktural plasenta. (Powe *et al*, 2011; Chaiworapongsa *et al*, 2014, Everett, 2014).



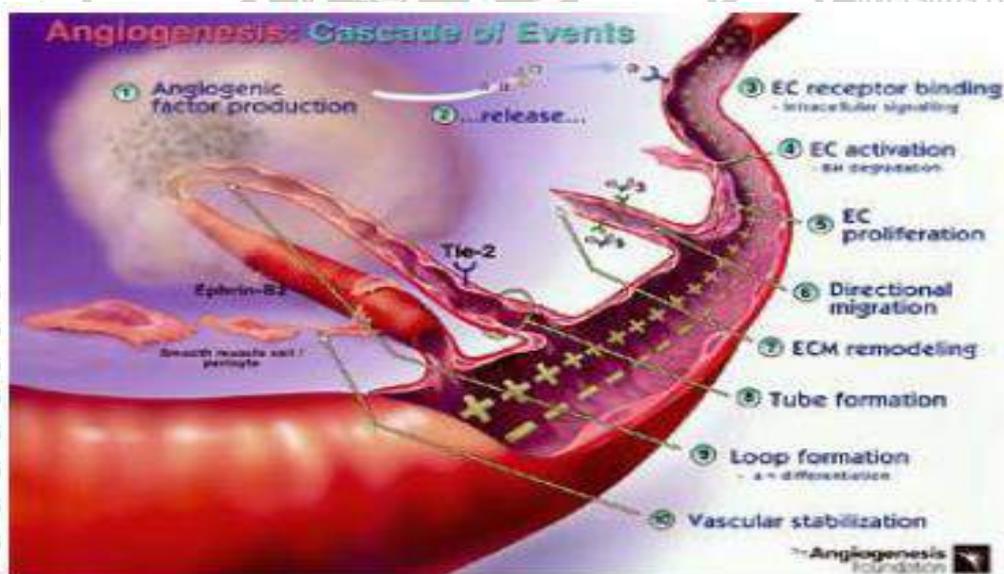
Gambar 2.2 Invasi trofoblast pada arteri spiralis (Chaiworapongsa et al, 2014).

Keterangan: Pada kehamilan normal, invasi trofoblas pada arteri spiralis mampu mencapai segemen miometrium. Sedangkan pada preeklampsia, invasi trofoblas pada arteri spiralis gagal mencapai segemen miometrium, sehingga menyebabkan diameter arteri spiralis tetap kecil.

Hipoksia pada plasenta akibat plasentasi yang abnormal akan menyebabkan stres oksidatif meningkat dan menghasilkan ROS/ radikal bebas, dan bersifat toksik terhadap membran sel endotel pembuluh darah. Reactive Oxygen Species (ROS) akan yang tinggi akan menginduksi lipid peroksidase. Membran sel endotel akan lebih mudah mengalami kerusakan oleh lipid peroksidase, karena mengandung banyak asam lemak tidak jenuh dan letaknya berhubungan langsung dengan aliran darah. Sel endotel yang terpapar peroksida lemak menghasilkan MDA (*Malondialdehyde*) sebagai perantara kerusakan membran sel, dimulai dari membran sel endotel, kemudian fungsi endotel terganggu, bahkan seluruh struktur sel endotel menjadi rusak. Kondisi ini disebut "disfungsi endotel". Jadi iskemia plasenta dianggap dapat menyebabkan disfungsi vaskuler dan disfungsi endotel sistemik (Possomato, 2016; Sulistyawati, 2017).

2.1.3.2 Ketidakseimbangan Faktor Angiogenik

Oksigen dan asupan nutrisi sangat dibutuhkan dalam pembentukan embrio untuk pembentukan pembuluh darah baru (vaskulogenesis), selanjutnya penyusunan sel endotel dan terjadi diferensiasi membentuk percabangan pembuluh darah baru, yang disebut angiogenesis. Angiogenesis diperlukan untuk mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ jika terjadi kerusakan jaringan melalui pembentukan pembuluh darah baru. Tahapan proses angiogenesis berupa pelepasan yaitu enzim protease dari sel endotel yang teraktivasi, kemudian pembentukan pembuluh darah vaskular dilanjutkan *Extra Cellular Matrix* yang didegradasi, proliferasi dan migrasi dari sel endotel, serta pembentukan *Sel endotel Membran* baru dan dilanjutkan dengan maturasi dan pembuluh darah yang dimodulasi untuk memperbaiki jaringan. (Hariharan, 2017)



Gambar 2.3 Tahap Angiogenesis (Hariharan, 2017).

Keterangan: Tahapan proses angiogenesis berupa aktivasi sel endotel (EC) oleh faktor angiogenik, proliferasi EC, degradasi membran basal (ECM), pembentukan struktur tabung pembuluh darah, dan stabilisasinya.

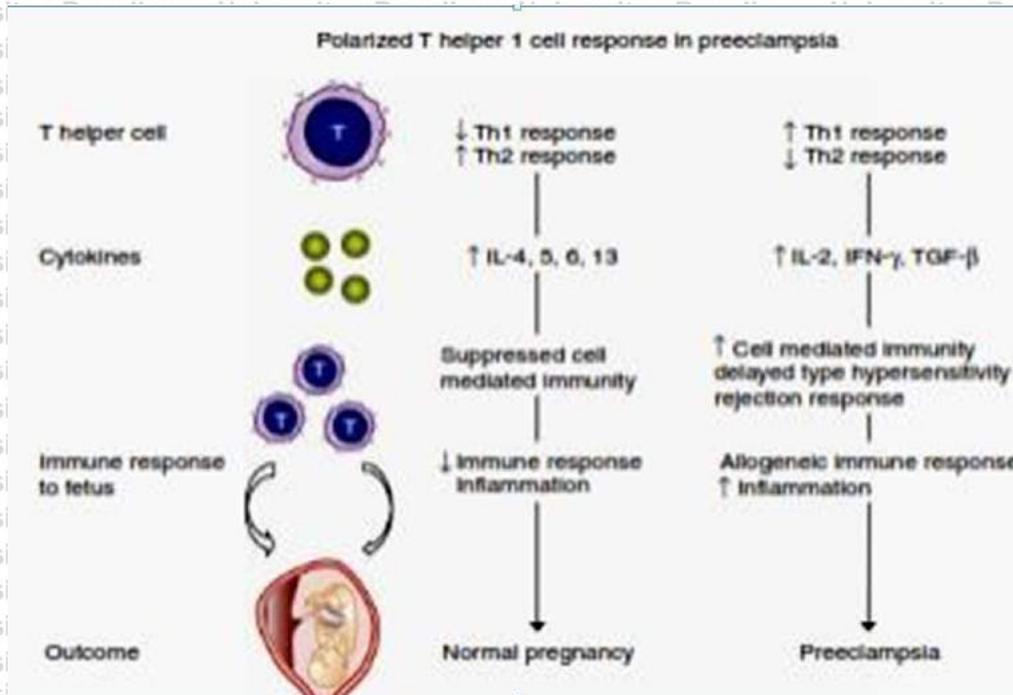
Dalam keadaan normal, *placental growth factor* (PlGF) dan VEGF merupakan faktor proangiogenik yang potensial dalam kehamilan. Faktor pertumbuhan tersebut merangsang prostaglandin dan *Nitric Oxide* (NO), yaitu

vasodilator yang menjaga kesehatan sel endotel. Sedangkan pada preeklampsia, terdapat pelepasan faktor antiangiogenik yang lebih dominan dibandingkan faktor proangiogenik yang menyebabkan vasodilatasi tidak terjadi sehingga muncul disfungsi endotel. VEGF dan PlGF dihambat kerjanya oleh sFlt-1. Faktor lain yang berperan adalah sEng yang menghambat kerja TGF- β sehingga produksi NO dihambat. Ketidakseimbangan antara faktor proangiogenik dengan antiangiogenik menyebabkan terjadinya disfungsi endotel, vasospasme, mikroangiopati (Anne, 2013; Draganovic, 2016).

Peningkatan sFlt-1 yang diinduksi *hypoxia-induced factor* (HIF) memperburuk stres oksidatif dengan memodulasi *heme oxygenase-1* (Hmox-1). sFlt-1 yang berikatan dengan *vascular endothelial growth factors* (VEGF) mengubah keseimbangan angiogenik yang selanjutnya memperburuk hipoksia dan stres oksidatif (Matsyuma *et al*, 2012; Gede, 2013).

2.1.3.3 Faktor Immunologi

Pada ibu hamil, normalnya respons imun tidak akan menolak adanya embrio berkat adanya *Human Leukocyte Antigen Protein G* (HLA-G), yang berperan penting dalam melindungi janin dari adanya lisis oleh sel *Natural Killer* (NK) ibu. Adanya HLA-G juga merangsang sitokin pro inflamasi dan akan mempermudah invasi sel trofoblas janin ke dalam jaringan desidua ibu hamil. Invasi trofoblas berperan penting agar jaringan desidua menjadi lunak dan gembur sehingga memungkinkan adanya dilatasi arteri spiralis. Penurunan ekspresi HLA-G yang terjadi pada preeklampsia diikuti dengan peningkatan produksi sitokin pro inflamasi di daerah plasenta sehingga terjadi maladaptasi (Cornelius, 2018).



Gambar 2.4 Keseimbangan antara Thelper 1 dan Thelper 2 (Ali, 2015)

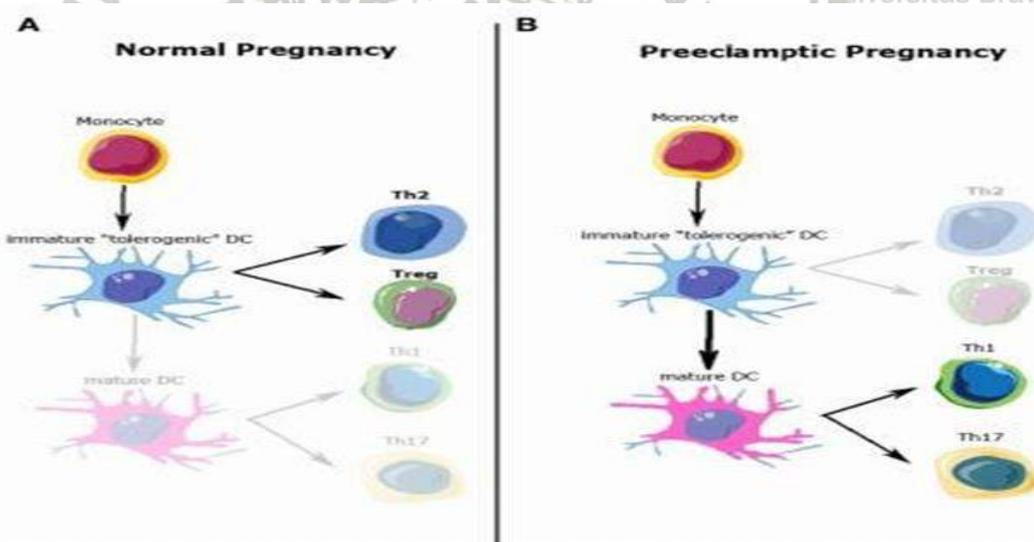
Keterangan: Pada kehamilan normal, Th2 mendominasi sehingga tidak terjadinya reaksi penolakan janin (memiliki respon immunotoleran). Sedangkan pada preeklampsia terjadi kondisi pro inflamasi ditandai dengan sitokin proinflamasi yang meningkat sehingga Th1 mendominasi.

Pada gambar 2.4 dapat dijelaskan bahwa maladaptasi imunologi ditandai dengan ketidakseimbangan rasio sel T, yaitu Th1 dan Th2 yang menyebabkan produksi sitokin proinflamasi meningkat. Pada sel Th1 terjadi peningkatan TNF- α dan peningkatan INF γ , sedangkan pada Th2 terjadi peningkatan IL-6 dan penurunan TGF- β . Peningkatan sitokin proinflamasi menyebabkan hipoksia pada plasenta sehingga membebaskan zat-zat toksik yang beredar dalam sirkulasi darah ibu dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya ROS/ radikal bebas oksigen. ROS akan memacu sintesa IL-6 pada sel endotel. Pada preeklampsia, kadar IFN- γ meningkat dan berhubungan dengan peningkatan ekspresi ICAM-1 dan sintesa IL-6 (Ahmed&Ramma, 2011; Ali, 2015; Harmon, 2016).

Regulatory T (Treg) adalah sel imunoregulasi yang penting dalam mengatur respon imun dan mencegah penyakit autoimun. Treg berperan penting

dalam mempertahankan kehamilan. Treg mengekspresikan *Programmed cell death protein 1* (PD1), IL-2, TGF- β dan IL-10, sehingga Treg dianggap memiliki peran penting dalam toleransi janin dan induksi imunitas maternal. Treg dapat menekan proliferasi sel B, sebagai faktor yang berperan dalam patofisiologi preeklamsia melalui sekresi autoantibodi. Penurunan kadar Treg berhubungan dengan onset preeklamsia. Treg dikaitkan dengan peningkatan apoptosis dan aktivasi sel sitotoksik (Tian *et al.*, 2016; Parchim & Xia, 2018).

Sel Th17 adalah subtype T helper CD4+ yang melindungi tubuh dari mikroba ekstraseluler dan memiliki peran penting dalam inflamasi dan penyakit autoimun. Peningkatan Th17 menyebabkan peningkatan tekanan darah dan stres oksidatif. Peningkatan Th17 dan penurunan Treg pada preeklamsia menunjukkan ketidakseimbangan Th17/Treg (Lu&Hu, 2019).



Gambar 2.5 Peran disregulasi imunologis dalam patofisiologi preeklamsia (Rana *et al.*, 2019).

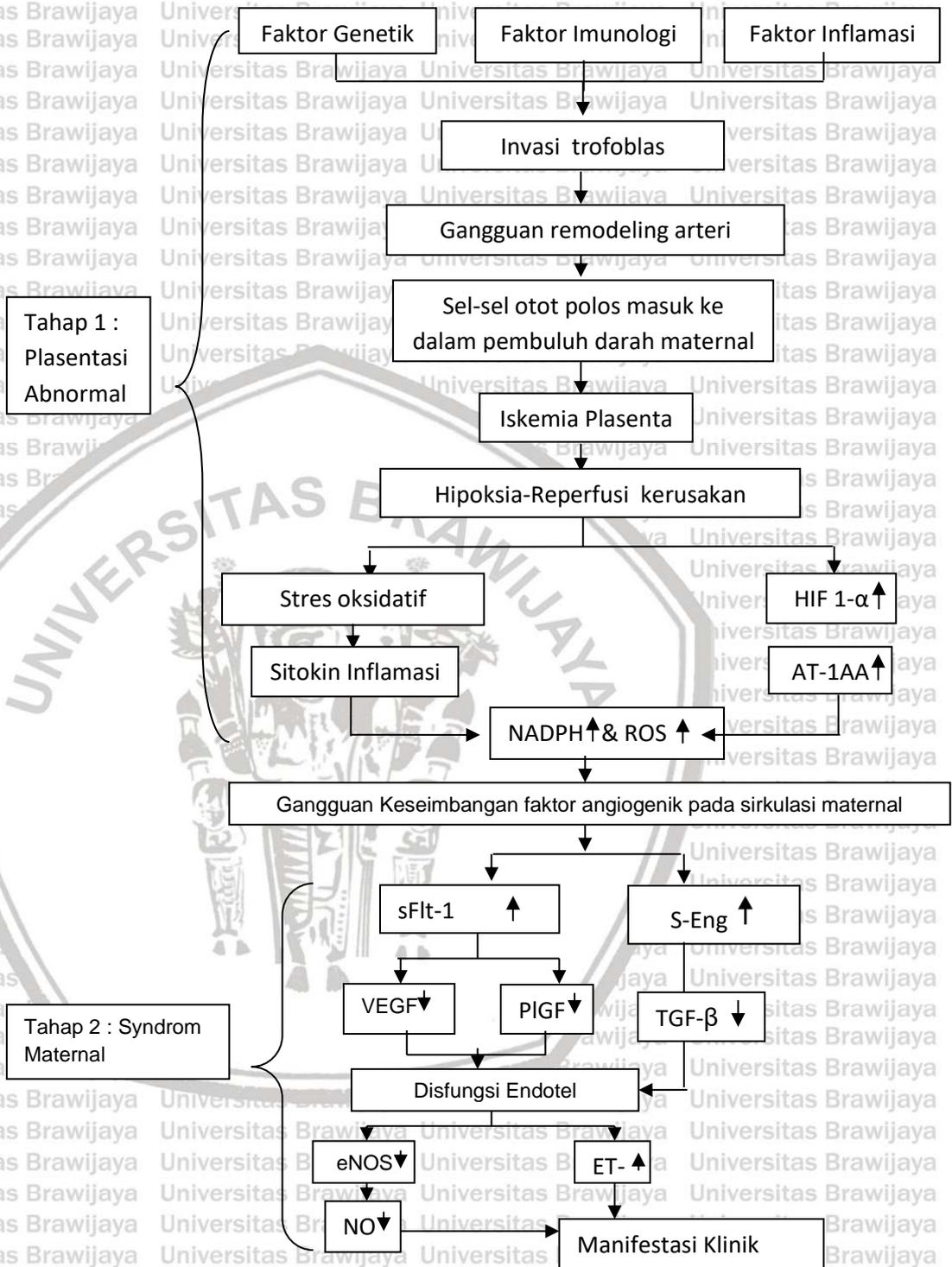
Keterangan: Pada kehamilan normal (gambar A), Treg dan sitokin regulator memastikan kontrol dan fungsi sel proinflamasi serta memastikan invasi berjalan baik. DC di desidua menunjukkan fungsi Th2 di dalam rahim untuk menginduksi immunotoleransi ibu-janin. Pada kehamilan dengan preeklamsia (gambar B), terjadi penurunan kadar Treg dan peningkatan Th17 yang menyebabkan peningkatan tekanan darah dan stres oksidatif.

Kondisi stres oksidatif ditambah dengan faktor angiogenesis dan faktor imunologi dalam patofisiologi preeklamsia digambarkan dalam

peningkatan ROS, ET-1 dan ekspresi sel B yang memproduksi autoantibodi untuk *Angiotensin II type 1-Receptor Autoantibody* (AT1-AA). AT1-AA adalah autoantibodi IgG yang distimulasi paparan tujuh asam amino peptida pada loop ekstraseluler dari reseptor AT1. Reseptor AT1 berada pada endotel, ulosit glomer dan jaringan trofoblas plasenta. AT1-AA dapat merangsang faktor imun seperti TNF- α , IL-6, C-Reactive protein dan matrix metalloproteinase. AT1-AA IgG juga dapat menyebabkan disfungsi endotel dan hipoksia plasenta melalui modulasi faktor antiangiogenik seperti ET-1, Tromboxan A2 dan sFlt-1. Peningkatan sFlt-1 dan penurunan PlGF berhubungan dengan gangguan pertumbuhan intrauterin (Lu&Hu, 2019).

Preeklampsia lebih sering ditemukan pada kehamilan pertama karena pada primigravida terjadi pembentukan *blocking antibodies* terhadap antigen plasenta tidak sempurna. Disregulasi imunologi pada plasenta menyebabkan abnormalitas plasentasi berupa invasi trofoblas lebih awal sehingga menyebabkan ketidakseimbangan imunologi. Abnormalitas plasentasi, hipoksia plasenta dan inflamasi akan menyebabkan ekspresi zat aktif pada sirkulasi ibu, menyebabkan disfungsi vaskular, inflamasi sistemik dan kecenderungan trombotik sehingga muncul gejala preeklampsia (Cubro *et al.*, 2018). Studi klinis menyebutkan bahwa terjadi penurunan T-helper sejak awal trimester dua pada kehamilan dengan preeklampsia dibandingkan dengan kehamilan normal. Pada 50% wanita preeklampsia ditemukan antibodi yang melawan sel endotel, sedangkan pada kelompok kehamilan normal hanya sebesar 15% (Aryandhito, 2017).

2.1.4 Patofisiologi



Gambar 2.6 Skema patofisiologi preeklampsia (Phipps et al, 2019).

Patofisiologi terjadinya preeklampsia diduga melalui dua tahapan (*two stage disorder*), yaitu:

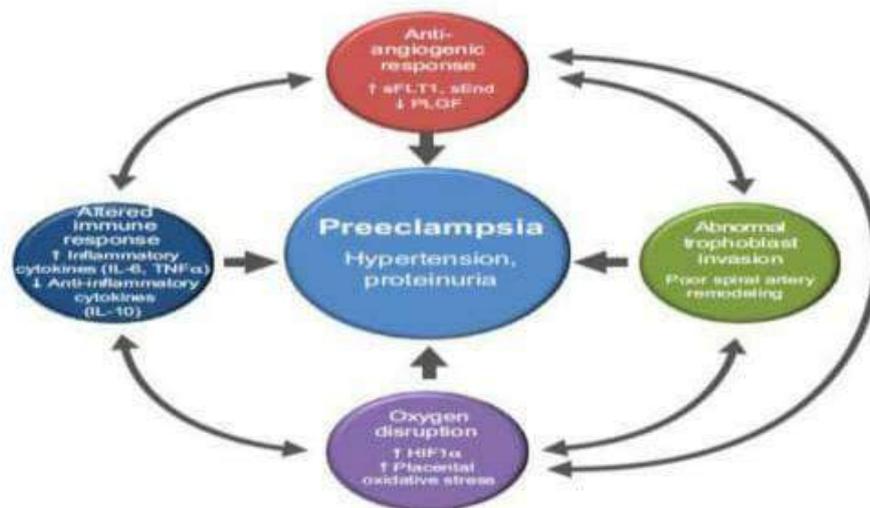
- 1) Tahapan Pertama, yaitu plasentasi yang abnormal. Sel sitotrofoblas dari plasenta normalnya menginvasi arteri spiralis maternal sehingga diameter arteri lebih luas dengan kapasitas lebih besar dan tidak kaku. *Remodelling* umumnya mulai pada akhir trimester pertama dan selesai pada usia kehamilan 18-20 minggu. Kegagalan remodeling arteri spiralis menghasilkan penurunan perfusi plasenta yang akan mengganggu fungsi sel endotel maternal dan kondisi hipoksia. Hal ini masih gejala preklinik dan bersifat asimtomatik
- 2) Tahapan Kedua, yaitu adanya gangguan sistemik yang muncul pada ibu dan janin sebagai lanjutan dari tahapan pertama. Pada tahapan ini muncul gejala klinik preeklampsia yang ditandai dengan disfungsi endotel pada sistem sirkulasi maternal (Mirkovic, 2018).

Pada tahap pertama, sitotrofoblas melakukan invasi ke dinding uterus maternal sangat dangkal dan invasi endovaskuler tidak berlanjut hingga ujung dari arteri spiralis. Keadaan ini menunjukkan bahwa sitotrofoblas mengalami kegagalan dalam mengubah subtype epitel proliferasif menjadi subtype endotelial invasif dapat menyebabkan kegagalan dalam remodeling arteri spiralis. Kegagalan remodeling ini mengakibatkan sel endotel maternal digantikan oleh sitotrofoblas sehingga memicu cedera iskemik, hipoksia dan reperfusi kerusakan trofoblas. Kondisi hipoksia ditandai dengan peningkatan HIF 1- α dan hipoksia dapat memicu pengeluaran AT-1AA (Lucca *et al.*, 2015).

Kondisi hipoksia yang berulang disertai reperfusi akan memicu stres oksidatif yang merangsang pelepasan sejumlah besar *mikropartikel syncytiotrophoblast* (STBM). Hipoksia dan STBM dapat mengaktifkan imunosit termasuk neutrofil dan sel dendritik. Imunosit aktif dapat merangsang produksi

Transforming Nekrosis α (TNF α) dan mempromosi stres oksidatif melalui *Neutrofil Nicotinamide Adenin Dinucleotida Fosfat* (NADPH) (Burton *et al.*, 2019).

Plasentasi yang buruk tersebut dipercaya sebagai akar penyebab tahap dua yaitu sindrom pada maternal yang ditandai dengan adanya ketidakseimbangan faktor angiogenik. Pada preeklampsia, faktor-faktor antiangiogenik seperti sFlt-1 dan sEng mengalami peningkatan. sFlt-1 menghambat VEGF dan PlGF untuk berikatan dengan reseptor yang berada pada endotel sehingga terjadi disfungsi endotel. Hambatan sFlt-1 menyebabkan reduksi sintesis Nitrogen Oksida (NO) melalui inaktivasi dari sintase NO endotelial (eNOS) dan peningkatan kadar ET-1 sehingga menimbulkan gejala klinis preeklampsia pada maternal (Patil *et al.*, 2016; Phipps *et al.*, 2019).



Gambar 2.7 Faktor yang terlibat dalam patofisiologi preeklampsia (Pennington *et al.*, 2012).

Gambar 2.9 menjelaskan bahwa keempat faktor dapat saling mempengaruhi satu dengan yang lainnya. Kekurangan oksigen pada plasenta dapat mengganggu invasi sel trofoblas, begitu pula sebaliknya.

Peningkatan ekspresi sitokin pro inflamasi juga bisa meningkatkan ekspresi anti angiogenik sFlt-1. Kemudian HIF-1 α akan ikut meningkat akibat adanya

respon imun, dan sel trofoblas yang mati karena kondisi hipoksia akan meningkatkan reaksi inflamasi berupa produksi autoantibodi (Pennington *et al.*, 2012).

Invasi yang tidak memadai dari trofoblas pada arteri spiralis menyebabkan terjadinya perfusi yang tidak adekuat pada plasenta. Hal ini menyebabkan terjadinya iskemik atau hipoksia pada plasenta yang selanjutnya merangsang pelepasan sejumlah faktor kedalam sirkulasi maternal. Faktor antiangiogenik (sFlt, sEng), mediator inflamasi (sitokin seperti TNF- α , IL-6), sel-sel imun (neutropil, monosit, sel NK, sel T), *Angiotensin-1 Autoantibody*, dan dislipidemia dalam sirkulasi maternal menyebabkan terjadinya respon inflamasi yang berlebihan dan meningkatkan lingkungan oksidatif (ROS, seperti superoksida, dan RNS, seperti peroksinitrit) dalam pembuluh darah. Rangkaian peristiwa tersebut selanjutnya menyebabkan disfungsi endotelium yang ditandai dengan vasokonstriksi yang meningkat, penurunan vasodilatasi dan perubahan proses angiogenesis. Ketidakseimbangan tersebut menyebabkan terjadinya respon maternal sistemik berupa meningkatnya tekanan darah dan resistensi vaskular pada semua organ termasuk plasenta. Meningkatnya konstiksi pada arteri uterus atau plasenta menyebabkan suatu lengkung feedback negatif, yang menyebabkan situasi iskemik yang lebih berat lagi pada plasenta. Hal ini menjelaskan patologi sentral terjadinya preeklampsia (Brennan *et al.*, 2016).

2.1.5 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis yang timbul pada preeklampsia adalah hipertensi dan adanya proteinuria yang melibatkan endotelium sebagai target penyakit tersebut. Hipertensi pada preeklampsia ditandai oleh vasokonstriksi perifer dan penurunan pemenuhan arteri. Sedangkan proteinuria pada preeklampsia dihubungkan

dengan patognomonik lesi renalis yang dikenal sebagai endoteliosis glomerular, di mana sel-sel endotel dari glomerulus membengkak dan hilangnya fenestrasi endotelial (Watanabe et al, 2013; Adhi *et al*, 2015; Burton, 2019).

Sindrom ini akan muncul pada akhir trimester 2 sampai trimester 3 kehamilan. Munculnya endoteliosis glomerular, peningkatan permeabilitas vaskuler dan respon inflamasi sistemik yang berlebihan akan mengakibatkan kerusakan organ dan hipoperfusi sehingga muncul adanya proteinuria, hipertensi, edema serebri, sindrom HELLP, dan IUGR. Biasanya gejala klinis akan berkurang atau bahkan menghilang setelah melahirkan, namun jika dibiarkan maka preeklampsia memburuk bahkan masuk ke dalam kondisi eklampsia yang menyebabkan ibu kejang, stroke, kegagalan multiorgan bahkan kematian (Cunningham, 2014; Lo *et al.*, 2013; Leon *et al*, 2019; Miller, 2019).

2.1.6 Faktor Risiko Preeklampsia

Nullipara memiliki risiko 3 kali lipat mengalami preeklampsia. Kehamilan multipel memiliki risiko lebih tinggi mengalami preeklampsia dibandingkan kehamilan normal. Obesitas secara relevan berasosiasi dengan IMT merupakan faktor risiko preeklampsia. Diabetes Melitus, jika diabetes terjadi sebelum hamil, maka risiko meningkat hampir 4 kali lipat. Kehamilan multifetus, hiperplasentosis/kelainan trofoblast dapat menurunkan perfusi uteroplasenta sehingga mempengaruhi aktivasi endotel dan terjadinya vasospasme. Riwayat adanya preeklampsia pada kehamilan sebelumnya. Usia ibu >35 tahun, adanya abnormalitas kongenital pada fetus, hipertensi kronik, penyakit ginjal, lupus sistemik eritematosa, trombofilia, sindrom antifosfolipid dan genetik (Masuyama *et al.*, 2012; Cunningham, 2014; English *et al.*, 2015; Pujiyani *et al*, 2018; Gray *et al.*, 2020).

Faktor risiko preeklampsia dibagi menjadi 3 berdasarkan kondisi yang paling

banyak dijumpai, yaitu: Riwayat preeklampsia sebelumnya, hipertensi kronis dan diabetes mellitus pragestasional (Rana *et al*, 2019).

2.1.7 Komplikasi

Beberapa komplikasi akibat preeklampsia yang dapat terjadi pada maternal adalah kejang, stroke hemoragik, gagal ginjal, gagal hati, ruptur hepar, koagulasi intravaskular, ablasio retina, buta kortikal dan edema paru. Selain itu, komplikasi jangka panjang preeklampsia terhadap maternal adalah peningkatan risiko terhadap terjadinya penyakit kardiovaskular di kemudian hari. Selain terhadap maternal, preeklampsia juga berdampak buruk terhadap fetus, menyumbang sekitar 5% terhadap kematian janin dalam kandungan, persalinan preterm, pertumbuhan janin terhambat dan luaran neonatus yang buruk seperti enterokolitis nekrotikans, sindrom distres pernapasan dan perdarahan intraventrikular (Thornton, 2011; Lambert *et al*, 2014; Adhi, 2015; Hammer, 2015; Amaral *et al*, 2017; Abdellaoui *et al*, 2018; Burton, 2019; McElwain *et al*, 2020; Dubey, 2020).

2.1.8 Diagnosis preeklampsia

Diagnosis klinis pada preeklampsia adalah hasil pemeriksaan tekanan darah pada usia kehamilan 20 minggu $\geq 140/90$ mmHg dengan minimal dua kali pemeriksaan dengan jeda waktu 4 jam dan proteinuria yang signifikan (≤ 300 mg/24 jam), atau rasio protein kreatinin $\geq 0,3$, atau pembacaan hasil dipstik urin $1+$. Jika hasil pemeriksaan tekanan darah $\geq 160/110$ mmHg, lalu disertai dengan salah satu gejala lain seperti , proteinuria (≥ 5 g per 24 jam atau $+3$ atau $+4$ dalam pemeriksaan kualitatif), oliguria (produksi urin kurang dari 500 cc per 24 jam), edema paru, sianosis, kadar kreatinin plasma meningkat, pandangan kabur, nyeri epigastrium, penurunan trombosit dengan cepat (kurang dari 100.000 sel/ mm^3), sindrom HELLP, maka masuk dalam kriteria preeklampsia berat. Edema merupakan bagian dari trias diagnosis untuk preeklampsia, yaitu edema parah

yang timbul secara mendadak, terutama edema tangan dan wajah dapat sebagai gambaran penting gejala penyakit tersebut yang dapat di deteksi oleh pasien (Maynard, 2011; Prawirohardjo 2013; Adhi, 2015; Leon *et al*, 2019).

Selain klinis, penanda biologis juga dapat digunakan untuk membantu menegakkan diagnosis preeklampsia. HIF-1 α menjadi salah satu penanda hipoksia seluler, ekspresinya akan meningkat pada proliferasi trofoblas plasenta sisi maternal dengan preeklampsia. Level HIF-1 α yang meningkat pada kondisi hipoksia juga akan menyebabkan respons inflamasi berlebihan yang dapat memicu terjadi preeklampsia. Peningkatan ekspresi HIF-1 α berhubungan dengan hipertensi, proteinuria, gangguan pertumbuhan janin dan kegagalan diferensiasi trofoblas dari proliferasi menjadi invasif. Beberapa penanda biologis lain meliputi faktor angiogenik seperti VEGF, PlGF, TGF- β , sFlt-1, sEng. Penelitian terbaru menunjukkan plasenta pada preeklampsia mengekspresikan lebih banyak mRNA sFlt-1 dan sEng. Studi *in vitro* menunjukkan bahwa sEng menghambat pensinyalan TGF- β dan memblokir aktivasi sintase oksida nitrat yang dimediasi TGF- β dalam sel endotel. Pemeriksaan lain yang dapat membantu penegakan diagnosa adalah pemeriksaan ultrasonografi doppler terhadap arteri uterina yang menunjukkan adanya insufisiensi sirkulasi (Servitje, 2012; Sulistiowaty, 2017; Rana *et al*, 2019; McElwain *et al*, 2020).

2.1.9 Penatalaksanaan preeklampsia

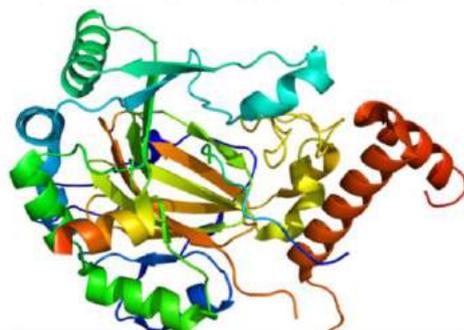
Penatalaksanaan preeklampsia bertujuan menghindari komplikasi maternal yang mungkin terjadi seperti edema paru, eklampsia dan perdarahan serebral. Penatalaksanaan preeklampsia secara definitif adalah terminasi kehamilan. Pengambilan keputusan untuk terminasi kehamilan harus memperhatikan usia gestasi, tingkat keparahan preeklampsia, kondisi maternal, serta kondisi fetus. Terminasi segera perlu dilakukan jika usia kehamilan sudah >34 minggu. Jika usia kehamilan 24-34 minggu, pemberian obat kortikosteroid

pada ibu hamil dengan preeklampsia dapat diberikan untuk pematangan paru janin. (Lambert *et al*, 2014; English *et al*, 2015).

Upaya pencegahan preeklampsia adalah memperhatikan asupan nutrisi ibu hamil agar kebutuhan nutrisi (makronutrien maupun mikronutrien) terpenuhi dengan baik, perawatan antenatal yang baik sehingga bisa dilakukan *screening* risiko PE sejak awal kehamilan, dan suplementasi obat yang diperlukan (suplementasi kalsium minimal 1 gr/hari). Mikronutrien yang dianjurkan untuk dikonsumsi adalah asam folat, vitamin D, vitamin C, vitamin E, kalsium, magnesium, omega 3 dan zinc. Perawatan antenatal meliputi pemantauan berat badan dan tekanan darah selama kehamilan (Kemse *et al*, 2014; POGI, 2016). Aspirin dosis 75mg/hari menjadi salah satu obat terapi preventif untuk mencegah preeklampsia dan diberikan pada usia kehamilan < 16 minggu terhadap wanita yang berisiko tinggi preeklampsia dengan efektifitas hanya 24% (Lo *et al*, 2013; Brown *et al*, 2014). Obat-obatan seperti progesteron, L-Arginine dan LMWH menunjukkan efikasi dalam mencegah preeklampsia (Wall *et al*, 2014; Lefkou *et al*, 2016; Jurisic *et al*, 2018). Antihipertensi direkomendasikan pada preeklampsia dengan hipertensi berat dengan pilihan pertama nifedipin *oral short acting*, hidralazine, labetalol parenteral. Alternatif pemberian antihipertensi yang lain adalah nitogliserin, metildopa (POGI, 2016). Pravastatin dianggap mampu sebagai salah satu terapi obat untuk preeklampsia dan masih diteliti sampai saat ini karena memiliki efek inhibisi terhadap sFlt-1 (Brownfoot *et al*, 2016; Constantine *et al*, 2016; Jurisic *et al*, 2021).

2.2 HIF-1 α (Hypoxia Inducible Factor-1 α)

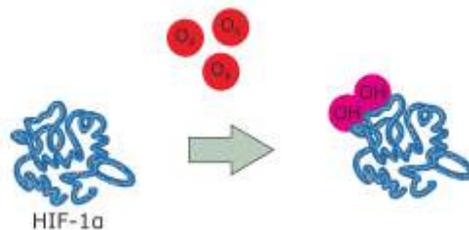
2.2.1 Struktur HIF-1 α



Gambar 2.8 Gambar molekul HIF-1 α (Hardin *et al.*, 2016).

HIF-1 α adalah bagian dari faktor transkripsi *Hypoxia-Inducible Factor 1* (HIF-1) pada segmen HRE (*Hypoxic Response Element*). HRE aktif di semua jaringan dan bisa menjadi kunci utama di setiap jaringan dalam menghadapi kondisi hipoksia. Gen HIF diidentifikasi menjadi dua tipe, yaitu HIF-1 α dan HIF-1 β (Hardin *et al.*, 2016). Molekul HIF-1 terdiri dari subunit α dan subunit β , tetapi hanya subunit α yang stabilitas dan aktivitasnya ditingkatkan pada kondisi hipoksia sehingga subunit HIF-1 α dipercaya sebagai penanda hipoksia jaringan (Anggraini, 2020).

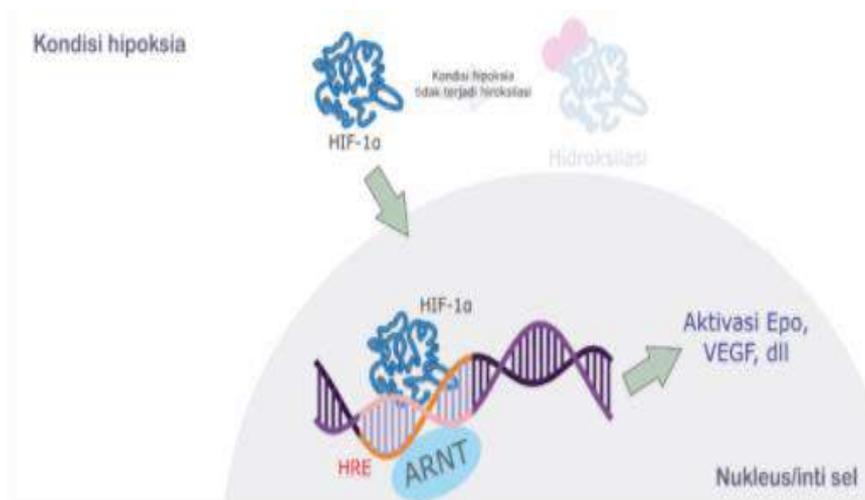
HIF-1 α akan diproduksi sesuai konsentrasi oksigen dalam sel. Pada kondisi normoksia, HIF-1 α akan bereaksi dengan oksigen dan menambahkan gugus OH pada protein HIF (proses hidroksilasi). Protein HIF akan mengalami perubahan bentuk karena proses hidroksilasi tersebut.



Gambar 2.9 Hidroksilasi HIF-1 α oleh oksigen (Hardin *et al.*, 2016).

Proses hidroksilasi HIF-1 α tidak akan terjadi dalam kondisi hipoksia sehingga molekul HIF-1 α tidak dikenali yang menyebabkan konsentrasi HIF-1 α

meningkat karena tidak didegradasi. Kemudian HIF-1 α akan masuk ke dalam inti sel dan berikatan dengan ARNT (HIF-1 β) di HRE. Ikatan ini selanjutnya akan mengaktivasi VEGF dan Epo dan gen lainnya yang berespon terhadap kondisi hipoksia. Epo adalah sebuah hormon yang diproduksi ginjal untuk merespon kondisi hipoksia. Jika kadar Epo meningkat maka akan mempromotori produksi sel darah merah yang lebih banyak sehingga tubuh berupaya menambah pasokan oksigen (Servitje, 2012).



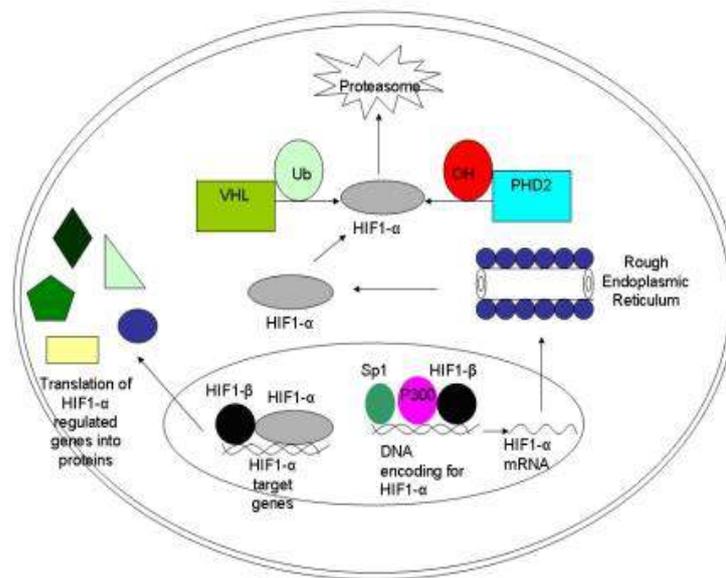
Gambar 2.10 Gambar aktivasi gen yang berespon terhadap hipoksia yang diinduksi oleh HIF-1 α (Hardin *et al*, 2016).

Keterangan: Peningkatan konsentrasi HIF-1 α menyebabkan HIF-1 α masuk ke inti sel dan berikatan dengan ARNT(HIF-1 β) sehingga mengaktivasi VEGF, EPO, atau gen lainnya yang berespon terhadap hipoksia.

2.2.2 Jalur Aktivasi dan Supresi

Dalam kondisi normoksik, HIF-1 α didegradasi oleh proteasom. Subunit HIF-1 α ditandai untuk degradasi tersebut oleh *Domain Prolin-Hidroksilase-2* (PHD-2) dan oleh kompleks *Von Hippel Lindau* (VHL) - ubiquitin ligase. Oleh karena itu, HIF-1 tidak berfungsi dengan adanya oksigen yang cukup sehingga terjadi inaktivasi HIF-1. Dalam kondisi normoksik, protein *Factor Inhibiting HIF-1* (FIH) menghidroksilasi HIF-1 dan mencegah interaksi subunit ini dengan ko-

aktivator p300 dan CBP dan PHD-2 (Domain Prolin-Hidroksilase-2) diaktifkan oleh HIF-1. Namun, dalam kondisi hipoksia, protein HIF-1 stabil dan aktif karena hidroksilase, protein VHL, dan FIH semuanya dihambat oleh kekurangan oksigen. Kemudian HIF-1 dapat berinteraksi dengan ko-aktivatornya dan dapat dimerisasi dengan subunit β yang diekspresikan secara konstitutif. Setelah distabilkan, protein HIF-1 dapat mengikat ke daerah regulasi gen targetnya, mendorong ekspresi gennya.



Gambar 2.11 Jalur *signalling* HIF-1 α (Servitje, 2012).

Pada Gambar 2.13, HIF-1 α ditranskripsi di dalam nukleus dengan bantuan protein spesifisitas (Sp) 1, P300, dan HIF-1 β . Setelah diterjemahkan ke dalam sitoplasma, protein HIF-1 α dapat terhidroksilasi dan ubikuinasi, yang dalam hal ini akan didegradasi oleh proteasom (dalam kondisi oksigen normal).

Dalam keadaan hipoksia, ia dapat masuk kembali ke nukleus dan membentuk kompleks transkripsi dengan subunit HIF-1 β . Jika berhasil distabilkan dengan subunit terakhir, kompleks akhir pada akhirnya akan berfungsi untuk mengatur gen target seperti faktor pertumbuhan endotel vaskular dan cathepsin (Servitje, 2012).

2.2.3 Peran HIF-1 α Pada Preeklampsia

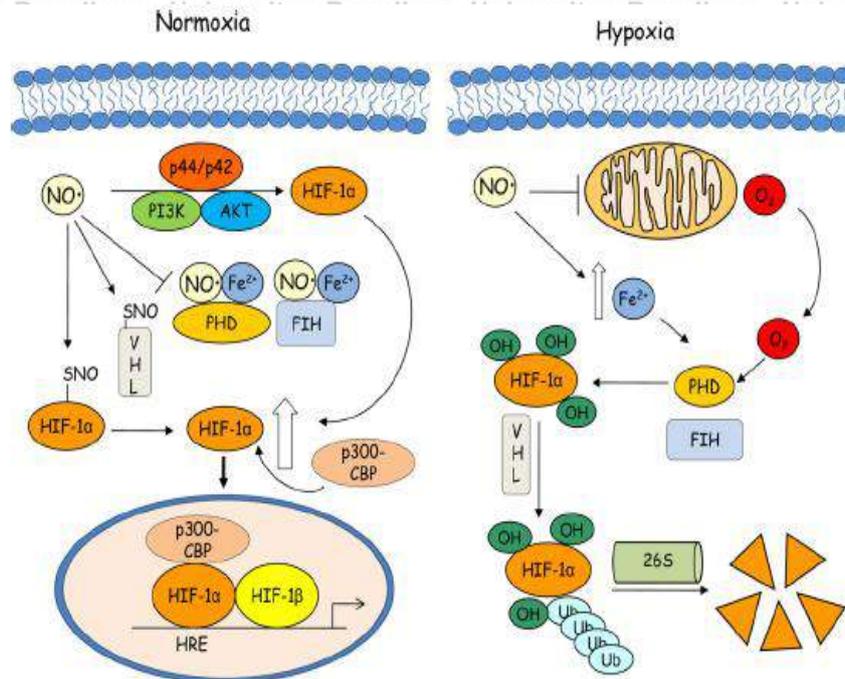
Oksigen dibutuhkan oleh sebagian besar sel untuk menghasilkan ATP dalam jumlah yang diperlukan untuk aktivitas metabolisme. Hipoksia terjadi di dalam jaringan dan sel manusia karena berbagai kondisi, termasuk gangguan jantung dan paru-paru, anemia, dan masalah peredaran darah (De Francesco *et al.*, 2014).

Hipoksia fisiologis terjadi pada saat perkembangan embrio, hal ini diperlukan saat penutupan tabung saraf, mediasi apoptosis, dan perkembangan morfologi dalam perkembangan embrio yang tepat selama kehamilan. Kondisi yang cenderung hipoksia dalam lingkungan mikro uterus memungkinkan aktivasi HIF-1 α untuk proses angiogenesis yang diperlukan sehingga meningkatkan suplai oksigen ke area tersebut. Jadi, HIF-1 α adalah faktor transkripsi penting untuk mengontrol sintesis beberapa protein kunci untuk kelangsungan hidup sel (Priyanti *et al.*, 2019).

Adanya kondisi hipoksia atau Iskemia plasenta menginduksi protein faktor transkripsi yang disebut HIF-1 α yang mengatur sintesis dari beberapa protein yang ditargetkan untuk beradaptasi dalam kondisi hipoksia. Peningkatan regulasi HIF-1 α sebagai faktor transkripsi kunci dan pengatur sel sebagai respons terhadap kadar oksigen rendah telah dilaporkan dalam patogenesis PE. Hipoksia kronis atau hipoksia/ reoksigenasi periodik di dalam ruang intervillous menghasilkan stres oksidatif di jaringan menyebabkan apoptosis atau nekrosis plasenta dan disfungsi sel endotel dan respons inflamasi yang berlebihan. Selain peran lainnya dalam adaptasi terhadap hipoksia, HIF-1 α telah terbukti berperan dalam inflamasi. Ekspresi berlebihan HIF-1 α *in vivo* mengakibatkan peningkatan inflamasi lokal, sementara hilangnya gen HIF-1 α menurunkan kemampuan sel myeloid untuk mengumpulkan, bermigrasi, dan meningkatkan respons bakterisidal. Ekspresi HIF-1 α berperan dalam diferensiasi sel myeloid menjadi monosit dan makrofag (Juarsa *et al.*, 2016; Harati, 2018).

Banyak penelitian yang mengamati level HIF-1 α meningkat pada kondisi preeklampsia, sehingga HIF-1 α dianggap memiliki potensi signifikan sebagai penanda preeklampsia. (Burke, 2013; Akhiles *et al*, 2014; Rath *et al.*, 2014; Galbiati *et al*, 2015). Rath *et al* (2016) mengatakan bahwa ada hubungan terbalik langsung antara HIF-1 α dan PIGF dalam serum dan jaringan plasenta yang mungkin menyebabkan stres oksidatif dan disfungsi endotel, yang mengarah ke patogenesis preeklampsia. Studi terbaru juga menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi HIF-1 α meningkatkan apoptosis trofoblas yang dimediasi oleh FOXO3a (*Forkhead box O transcription factor 3a*), sehingga mungkin terlibat dalam patogenesis preeklampsia (Zhang *et al*, 2020).

Kehamilan dikaitkan dengan perubahan signifikan pada sistem kardiovaskular ibu yang mengatur suplai oksigen dan nutrisi untuk pertumbuhan janin. *Nitric Oxide* (NO) merupakan relaksan otot polos pembuluh darah yang mengatur aliran darah dan berperan dalam perubahan kardiovaskular kehamilan (Fraisl, 2013; Owusu, 2018). Ada derajat tinggi *crossstalk* (hubungan timbal balik) antara pensinyalan HIF-1 dan NO. Banyak respons seluler terhadap NO dimediasi oleh HIF-1 α dan juga sebaliknya, NO juga diketahui dapat mempengaruhi kadar HIF-1 α melalui jalur pensinyalan *Phosphatidylinositol 3-Kinase* (PI3K) dan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) (Hendrickson&Poyton, 2015).



Gambar 2.12 Representasi skematis dari mekanisme yang NO berdampak pada aktivasi HIF-1 α selama kondisi normoksik atau hipoksia (Olson&Vliet, 2011)

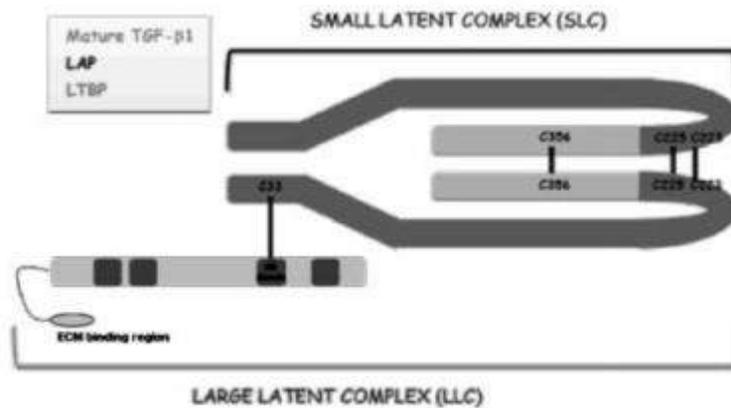
Keterangan: Pada kondisi normoksia (gambar kiri) tidak bisa menghambat *Prolyl Hydroxylase* (PHD) dan factor inhibiting HIF (FIH) dengan berinteraksi dengan enzim terikat Fe²⁺, mencegah hidroksilasi HIF-1 α prolin dan asparagin residu yang menargetkan HIF-1 α untuk degradasi dan memblokir interaksi dengan co-aktivator transkripsi p300-CBP. NO juga dapat meningkatkan ekspresi HIF-1 α melalui aktivasi jalur PI3K/AKT dan MAPK dan menstabilkan HIF-1 α oleh S-nitrosilasi. S-nitrosilasi von Hippel Lindau (VHL) juga dapat mencegah ubiquitinasi HIF-1 α dan degradasi. Selama kondisi hipoksia (gambar kanan), pengikatan NO secara kompetitif ke sitokrom c oksidase mitokondria menghasilkan redistribusi O₂ untuk memulihkan aktivitas PHD. NO juga dapat meningkatkan zat besi bebas intraseluler yang meningkatkan aktivitas PHD

NO berasal dari L-arginin dan nitrit (NO₂⁻) bisa berasal dari nitrosylate atau nitrat HIF-1 α dan beberapa protein yang terlibat dalam regulasi HIF-1 α dan memungkinkan HIF-1 α bisa menghindari degradasi normoksik (Olson&Vliet, 2011). L-arginine adalah sebuah asam amino yang merupakan sintesis nitrat oksida dan terbukti efektif memperbaiki kerusakan endotel. Pemberian L-Arginine sebagai prekursor NO dapat memperbaiki hipoksia dan iskemia plasenta sehingga menurunkan ekspresi HIF-1 α pada mencit model preeklampsia. Terapi L-Arginine yang dikombinasi dengan pravastatin bermanfaat pada pasien dengan

risiko tinggi preeklampsia karena mencegah peningkatan tekanan darah menunjukkan hasil yang baik apabila diberikan pada usia kehamilan 19–20 minggu (Wall *et al*, 2014; Anggraini, 2020).

2.3 TGF- β (Transforming Growth Factor - β)

2.3.1 Struktur TGF- β



Gambar 2.13
Keterangan:

Struktur TGF- β

TGF- β terdiri dari 390 asam amino (pre-pro-TGF- β atau *Small Latent Complex* (SLC) memiliki terminal N-peptida yang terdiri dari 20-30 asam amino). SLC terdiri dari tiga bagian yaitu: *Signal Peptide* (SP: asam amino 1-29) *Latency Associated Peptide* (LAP: asam amino 30-278) dan *Mature Peptide* (TGF- β matur: asam amino 279-390) (Hermendy, 2017).

TGF- β manusia tersusun atas tiga protein isoform, yaitu TGF- β 1, TGF- β 2, dan TGF- β 3. TGF- β adalah protein dengan berat molekul 25 kDa, yang terlibat aktif dalam proses perkembangan dan diferensiasi sel dalam setiap jaringan.

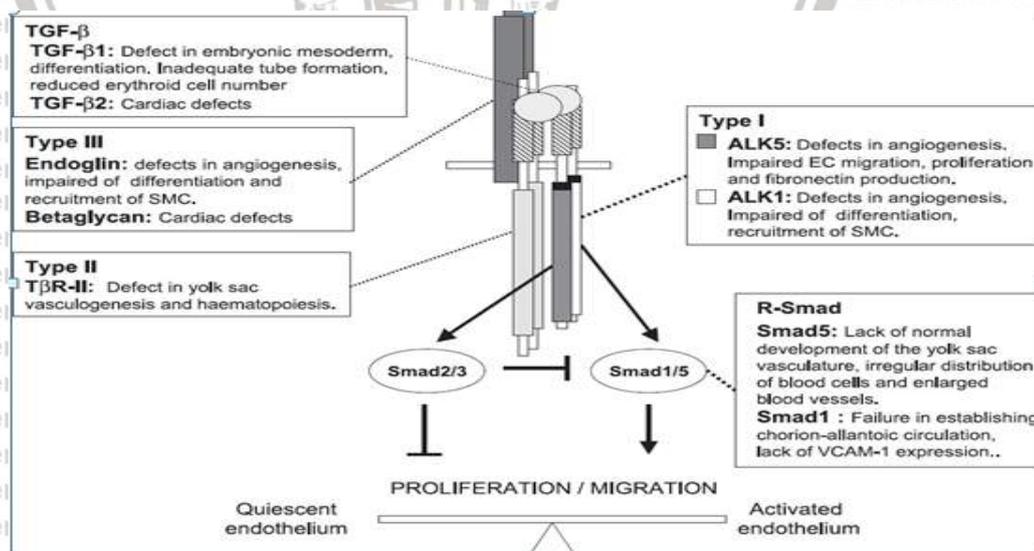
TGF- β merupakan superfamili ligand, reseptor, binding protein yang secara bersamaan memainkan peranan dalam menjaga stabilitas struktur pembuluh darah (Hermendy, 2017).

TGF- β merupakan suatu polipeptida yang berperan penting dalam, diferensiasi, proliferasi, migrasi, apoptosis, adhesi, angiogenesis, survival dan *self renewal*. TGF- β berperan penting dalam proses penyembuhan pada respon inflamasi (Aisyah, 2019).

2.3.2 Jalur Aktivasi dan Supresi

TGF- β bekerja secara sinergis dengan TGF- α . Disregulasi aktivasi dan pensinyalan TGF- β dapat menyebabkan apoptosis. Banyak sel yang mensintesis TGF- β dan hampir semuanya memiliki reseptor spesifik untuk peptida ini. Peran TGF- β hampir selalu ditemukan dalam proses inflamasi di semua organ. Inflamasi merupakan proses fisiologik yang bersifat konstruktif, namun bila proses berlangsung secara berlebihan dan berkepanjangan serta tidak terkendali akan berubah menjadi patologik (Blank & Karlsson, 2015).

TGF- β merupakan polipeptida multifungsional yang terlibat dalam proliferasi, diferensiasi, angiogenesis, matriks ekstraseluler dan aktivasi target gen dan fungsi sel. TGF- β disekresikan dalam keadaan tidak aktif, tetapi dapat diaktifasi oleh enzim protease sebagai molekul sinyal. Molekul ini bekerja melalui sinyal Smads dan *Phosphorylated-Smads* (P-Smads) dan berlokasi di nukleus untuk mengaktifasi caspase. TGF- β menginduksi defosforilasi asam amino treonin dengan mengaktifasi endothelial Nitrit Oxyde (eNOS) sehingga sel endotel mampu vasodilatasi.



Gambar 2.14 Jalur aktivasi dan supresi TGF- β (Aisyah, 2019).

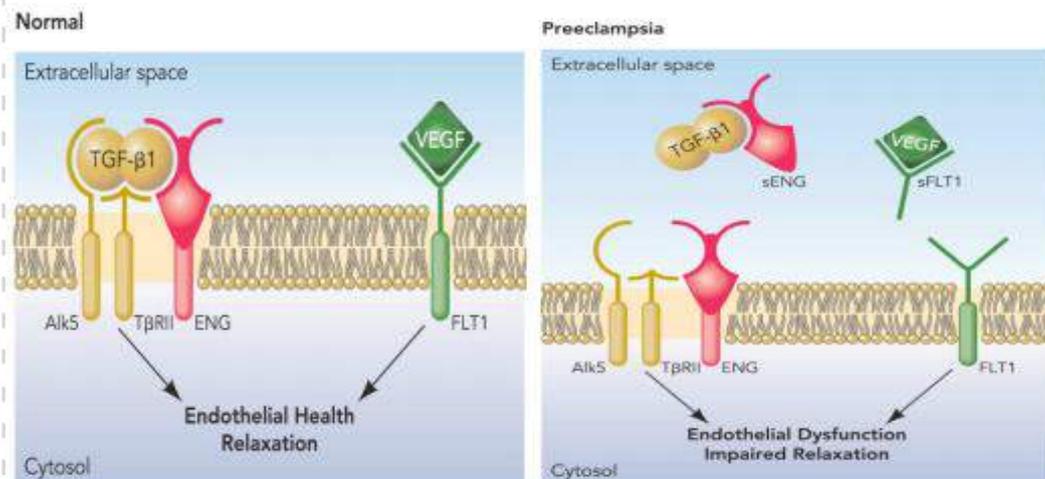
Keterangan: Sinyal TGF- β berkaitan dengan nitrit oksida pada sindroma preeklampsia melalui jalur SMAD.

Pada Gambar 2.14, sinyal TGF- β diaktivasi melalui dua reseptor permukaan sel dengan bantuan serin-treonin kinase dan memfosforilasi jenis TGF- β reseptor. Reseptor TGF- β 1 tipe I diaktifkan Smad-2 dan Smad-3 membentuk kompleks dengan heteromerik SMAD-5. TGF- β 1 dan TGF- β 3 diikat Endoglin (Eng) untuk membentuk heteromer dengan reseptor TGF- β tipe 1 dan 2. Proliferasi sel endotel dapat diinduksi dan juga dapat dihambat oleh TGF- β karena mempunyai efek bifungsional. TGF- β menstimulasi proliferasi pada kadar rendah dan bersifat sebagai inhibitor proliferasi pada kadar tinggi. TGF- β mampu memicu proses angiogenesis dengan mengatur ekspresi enzim metalloproteinase yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler. TGF- β 1 berikatan dengan ALK1 dan ALK5 yang sangat penting terhadap proses angiogenesis, yaitu melalui jalur ALK1-Smad1/5 untuk mengaktifasi dan menginduksi ekspresi gen proangiogenik pada sel endotel.

2.3.3 Peran TGF- β Pada Preeklampsia

TGF- β merupakan salah satu faktor pro angiogenik yang memicu pembuluh darah baru dan juga meningkatkan permeabilitas vascular dan bersifat *chemoattractant* pada beberapa faktor angiogenik seperti VEGF, PDGF, dan TNF- α (Gaarenstroom, 2014; Lu&Hu, 2019).

TGF- β dapat ditemukan sejak trimester pertama sampai akhir kehamilan. TGF- β memodulasi adhesi sel-sel, migrasi sel, dan mengatur pertumbuhan janin dan menekan respon imun maternal dalam kehamilan (Lee *et al.*, 2017).



Gambar 2.15 Penghambatan TGF-β1 oleh sEng (Powe et al., 2011).

Keterangan: Selama kehamilan normal, hemostasis vaskular dipelihara oleh kadar fisiologis sinyal VEGF dan TGF-β1 pada pembuluh darah. Pada preeklampsia, plasenta mensekresi dua protein anti-angiogenik endogen yaitu sFlt1 dan sEng secara berlebihan ke dalam sirkulasi, yang selanjutnya menghambat sinyal dari VEGF dan TGF-β tersebut di pembuluh darah. Hal ini menyebabkan disfungsi sel endotel, penurunan produksi prostasiklin, NO, pelepasan protein prokoagulan.

VEGF dan TGF-β1 diperlukan untuk mempertahankan kesehatan endotel plasenta dan beberapa jaringan lainnya. Pada kehamilan normal, homeostasis vaskular dipertahankan oleh kadar fisiologis TGF-β dan VEGF pada pembuluh darah. Sedangkan pada kehamilan dengan preeklampsia, plasenta mengalami hipoksia atau iskemik sehingga terjadi pelepasan faktor anti-angiogenik sFlt1 secara berlebihan dalam sirkulasi maternal. Adanya sekresi sFlt-1 dan sEng yang berlebih akan menghambat sinyal VEGF dan TGF-β1 di pembuluh darah.

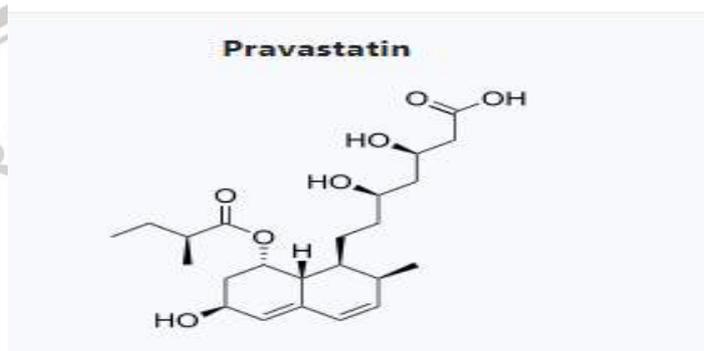
Kadar sFlt-1 meningkat kira-kira 5 minggu sebelum onset dari preeklampsia, yang diikuti dengan menurunnya kadar VEGF dan PIGF bebas dalam sirkulasi darah. Hal ini menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan angiogenik yang pada akhirnya terjadi disfungsi sel endotel sistemik (Powe et al., 2011; Gaarenstroom, 2014).

Endoglin (Eng) memodulasi signal TGF-β di sel endotel dan sEng menghambat signal TGF-β sehingga aktivitas Nitrit Oxide Syntase (NOS) juga terhambat. Produksi sEng yang meningkat pada preeklampsia akan

mengganggu aktivitas TGF- β sehingga dapat menghambat vasodilatasi yang akan menyebabkan fungsi vaskular sel endotel maternal terganggu. Sama halnya sFlt-1 sebagai antiangiogenik, sEng juga akan meningkat pada ibu preeklampsia yang memicu disfungsi endotel. Jadi, sinyal TGF- β berkaitan erat dengan nitrit oksida melalui jalur SMAD pada preeklampsia (Tyasasmaya&Adji, 2012; Adebambo, 2018; Aisyah, 2019).

2.4 Pravastatin

2.4.1 Struktur Kimia Dan Mekanisme Aksi Pravastatin



Gambar 2.16 Struktur Kimia Pravastatin (Creasy, 2014).

Struktur kimia pravastatin adalah $C_{23}H_{35}NaO_7$ dan dengan berat 446.52kd. Pravastatin adalah salah satu jenis dari golongan obat statin, yaitu obat yang menurunkan kadar kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL) dalam serum yang diproduksi dari hidroksilasi mikroba oleh *Streptomyces carbophilus*.

Efek pleiotopik pada pravastatin ini mempromosikan angiogenesis, respon anti inflamasi, respon imun dan efek antioksidan dan memiliki potensi terapeutik (Majewska *et al*, 2018).

Kolesterol adalah jenis lemak yang dibutuhkan tubuh untuk menjalankan fungsi metabolisme dengan baik. Kadar kolesterol yang normal pada orang dewasa adalah 120-190 mg/dL. Tidak ada referensi rentang normal parameter lipid (kolesterol total, LDL, HDL dan trigliserida) yang ditentukan secara pasti pada kehamilan normal, namun kadar kolesterol umumnya meningkat sekitar 20-

50% hingga lebih dari 200 gr/l selama kehamilan, khususnya pada trimester kedua dan ketiga. Tidak ada gejala khusus yang menandakan tingginya kadar kolesterol dalam tubuh. Beberapa penelitian meyakini bahwa peningkatan kolesterol pada kehamilan adalah fisiologis karena dibutuhkan dalam pembentukan hormon estrogen dan progesteron yang penting untuk menjaga kehamilan. Namun, wanita yang memiliki kolesterol tinggi sejak sebelum hamil, kadar kolesterolnya akan menjadi lebih tinggi lagi ketika hamil dan kadar kolesterol ibu yang tinggi selama kehamilan dikaitkan dengan peningkatan risiko preeklampsia, diabetes gestasional dan kelahiran prematur (Bartels, 2011).

Saat ini, ada enam golongan statin digunakan yaitu pravastatin, lovastatin, simvastatin, atorvastatin, fluvastatin, dan rosuvastatin. Dari enam jenis statin, pravastatin merupakan kandidat utama sebagai obat terapeutik untuk preeklampsia, karena pravastatin yang memiliki substituen hidroksil pada inti hexahydronaphthalene (hidrofilik) yang menyebabkan hidrofilitas lebih tinggi dan secara teoritis lebih aman digunakan dalam kehamilan daripada golongan statin lainnya (Constantine, 2013). Pravastatin tidak menyebabkan kerusakan jangka panjang yang mempengaruhi sistem kardiovaskular ibu dan janin. Pravastatin menurunkan pelepasan faktor yang terkait dengan disfungsi endotel dan faktor anti-angiogenik in vitro tanpa kehilangan viabilitas sel (Tsur, *et al.*, 2019; Alwis *et al.*, 2020).

2.4.2 Farmakokinetik Pravastatin

- 1) Absorpsi: Bioavailabilitas pravastatin rendah (tingkat penyerapan 18%), karena penyerapannya mengalami *first pass metabolism*. Setelah dikonsumsi secara oral, pravastatin akan diserap oleh usus. Obat akan melalui *proton-coupled carrier-mediated transport* yang cepat diserap dari usus kecil, dan diambil oleh *transporter natrium-independen* asam

empedu di hati. Kadar pravastatin meningkat antara 1-4 jam dalam plasma setelah dikonsumsi oral.

- 2) Distribusi : Volume distribusi 0,35 L/kg di luar kompartemen vaskular.
- 3) Metabolisme: Waktu paruh dari pravastatin 1.3 - 2.7 jam melalui vena portal menuju ke hati.
- 4) Ekskresi: ekskresi empedu yang melalui mekanisme transpor aktif utama akan diubah oleh enzim hati akan diekskresikan 20% melalui ginjal dan dieliminasi 70% melalui feses (Jurisic *et al.*, 2018).

2.4.3 Interaksi Obat, Kontraindikasi dan Efek Samping

Interaksi obat:

- 1) Dapat meningkatkan risiko miopati dengan colchicine, fenofibrate, asam nikotinat.
- 2) Siklosporin, klaritromisin, dan eritromisin dapat meningkatkan tingkat pravastatin serum.
- 3) Dapat meningkatkan risiko perdarahan dengan warfarin.
- 4) Penurunan kadar serum dengan kolestiramin bersamaan.
- 5) Tidak boleh digunakan bersamaan fusidic acid dan gemfibrozil karena akan bersifat toksik.

Menurut FDA (*Food and Drug Association*), statin masuk ke dalam kategori X, hal ini bukan karena ditemukannya risiko bahaya pada kehamilan tetapi masih kurangnya data klinis efek terhadap wanita hamil dan janin. Oleh karena itu, sangat penting untuk menguji keamanan dosis pravastatin dalam sel secara fisiologis sehingga sampai saat ini penelitian terhadap hewan masih perlu dilakukan (Brown & garovic, 2014; Girardi, 2017).

Menurut karalis *et al* (2016), efek samping yang mungkin ditimbulkan pravastatin yaitu: pusing, influenza, penglihatan kabur, mialgia (nyeri otot), alopecia (rambut rontok), parestesia (rasa kesemutan), impotensi (gangguan

pada organ seksual pria), ginekomastia (membesarnya ukuran dada pria), mual dan muntah, mulas dan diare, sakit kepala, batuk, insomnia atau kesulitan tidur, nyeri dada, ruam, kelelahan, pusing.

2.4.4 Dosis dan Sediaan Pravastatin

Dosis pravastatin pada hewan coba sebesar 1000 mg/ kgBB pada tikus dan 50 mg/kgBB pada kelinci yang diamati tidak menghasilkan efek teratogenik.

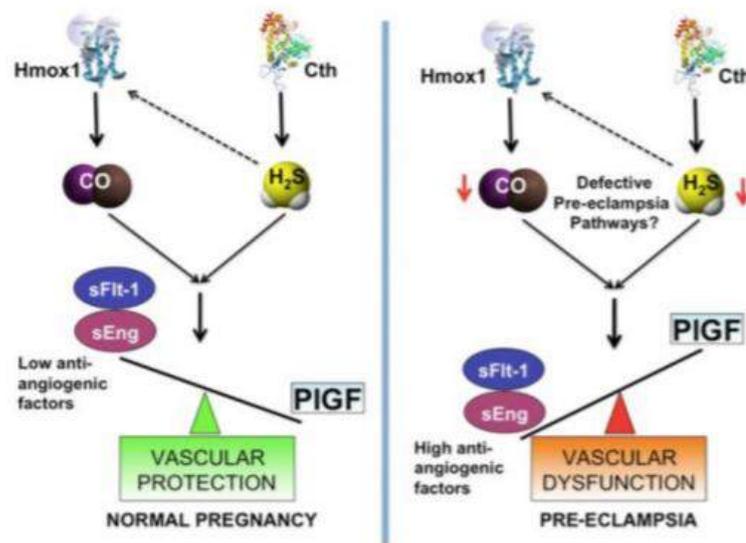
Namun, keamanan selama kehamilan pada manusia belum ditentukan (Zareck, 2013). Untuk pencegahan primer dan pencegahan sekunder gangguan kardiovaskular serta pengobatan pada hiperlipidemia pada manusia adalah pemberian oral dengan dosis 10 mg, 20 mg, 40 mg dan dosis maksimum: 80 mg sekali sehari, diminum sebelum tidur (Lowe et al., 2014).

Tabel 2.1. Nama dagang, nama generik, sediaan pravastatin (ISO, 2012).

Nama Dagang	Nama Generik	Sediaan
Cholespar	Pravastatin	10 mg, 20 mg
Koleskol	Pravastatin	10 mg
Mevachol	Pravastatin	10 mg, 20 mg
Pravachol	Pravastatin	10 mg, 20 mg
Pravinat	Pravastatin	10 mg, 20 mg

2.4.5 Peranan HMOX-1 sebagai Jalur Proteksi Pencegahan Preeklampsia

Kehamilan normal membutuhkan keseimbangan antara proses inflamasi, stres oksidatif, faktor angiogenik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ketidakseimbangan antara faktor proangiogenik dan anti angiogenik berkaitan dengan gejala klinis dan tingkat keparahan preeklampsia. Salah satu jalur pertahanan endogen adalah jalur heme oksigenase (Hmox-1) dan juga jalur sistation-Y-liase (Cth) (Ahmed&Ramma, 2015).



Gambar 2.17 Jalur Pertahanan Endogen dalam Kehamilan (Ahmed&Ramma, 2015).

Keterangan: Pada kondisi preeklampsia menunjukkan adanya gangguan pada Hmox-1 dan Cth yang menyebabkan penghantaran sinyal ke molekul, CO dan H₂S juga terhambat, sehingga terjadi peningkatan sFlt-1 dan sEng serta penurunan produksi PIGF. Kondisi ini menyebabkan disfungsi vaskuler pada preeklampsia.

Heme Oksigenase-1 (Hmox-1) merupakan enzim yang berperan dalam degradasi heme untuk menghasilkan biliverdin, besi bebas, dan CO dalam retikulum endoplasma. Hmox memiliki dua bentuk yaitu Hmox-1 dan Hmox-2, keduanya diekspresikan pada beberapa jaringan dalam tubuh. Hmox-1 memiliki efek proteksi seperti menghambat stres oksidatif, inflamasi, dan apoptosis. Hmox-1 juga memiliki efek sebagai regulator sel imun, efek sitoprotektif, serta anti inflamasi. Jadi, selain mencegah kerusakan sel, Hmox-1 juga memodulasi sistem kekebalan tubuh dan menekan mediator inflamasi (Ahmed&Ramma, 2015; Zenclussen, 2015)

Banyak penelitian yang membuktikan bahwa tingkat serum sFlt-1 dan sEng mengalami peningkatan pada preeklampsia, terutama *early onset* preeklampsia yaitu, 8-12 minggu sebelum preeklampsia terdeteksi secara klinis.

Hmox-1 diproduksi pada kehamilan awal karena sangat penting dalam

keberhasilan implantasi dengan membantu perlekatan blastokista ke sel epitel rahim. Hmox-1 dalam jumlah kecil dapat menyebabkan kegagalan implantasi.

Heme Oksigenase-1 juga diekspresikan pada sel trofoblas manusia dan tikus, menunjukkan peran Hmox-1 dalam perkembangan janin dan plasenta

Menurunnya kadar Hmox-1 telah dikaitkan dengan keguguran pada manusia dan tikus, serta perkembangan preeklampsia. (Zenclussen ML, 2015) Kekurangan

Hmox-1 pada manusia mengakibatkan disfungsi endotel berat dan persisten, dan merupakan patogenesis awal terjadinya preeklamsia. (Ahmed&Ramma, 2015)

2.4.6 Pengaruh Pravastatin terhadap Kehamilan dengan Preeklampsia

Ciri utama dari disfungsi endotel adalah vasospasme, peningkatan agregasi trombosit, dan aktivasi leukosit, sedangkan NO diketahui dapat menghambat agregasi platelet, memodifikasi ekspresi sitokin inflamasi dan menghambat interaksi antara sel imun dan endotel, serta dapat mengurangi pelepasan radikal bebas, sehingga penurunan produksi NO dianggap terkait dengan patogenesis preeklampsia (Bonsaffoh *et al*, 2015; Khalil, 2015).

Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa Hmox-1 dapat menurunkan kadar sFlt-1 dan sEng, dan juga merangsang aktivitas VEGF dan TGF- β . Paparan Hmox-1 dapat menurunkan tekanan darah pada tikus, mengembalikan keseimbangan angiogenik, dan mengurangi stres oksidatif pada plasenta (Putra *et al*, 2018; Majewska *et al.*, 2018).

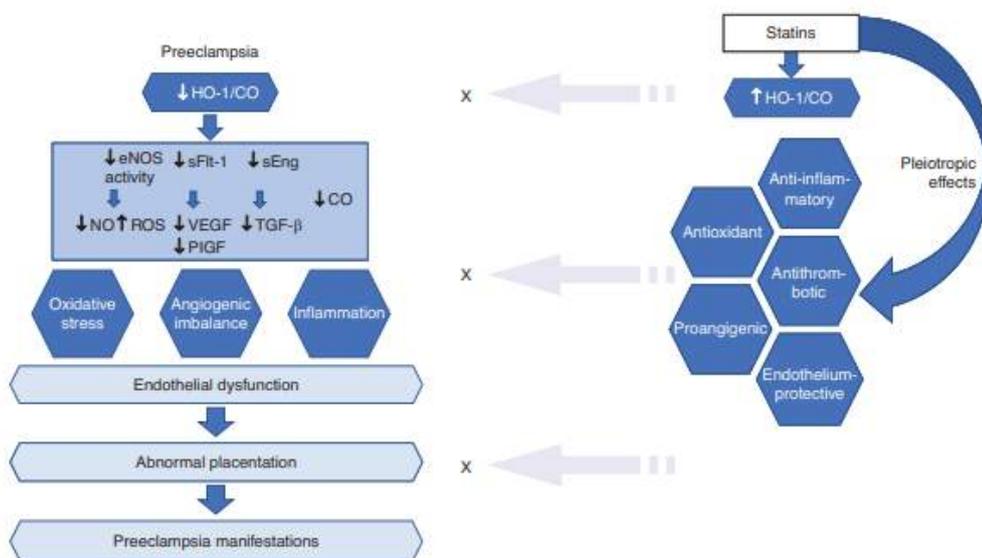
Hmox-1 bertanggung jawab atas mekanisme anti-inflamasi dan anti-oksidatif dan juga mengatur faktor anti-angiogenik. Kerusakan sistem pertahanan endogen ini

mengakibatkan kerusakan endotel dan dapat berkontribusi pada disfungsi endotel ibu hamil. Plasenta abnormal akibat disfungsi endotel akan

menyebabkan munculnya manifestasi klinis, termasuk kegagalan organ. Ketidakseimbangan angiogenik sangat penting untuk patofisiologi PE dan sangat

berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit dan manifestasi klinis PE. Hal ini

ditandai dengan penurunan produksi faktor angiogenik (VEGF, PlGF dan TGF- β) serta ekspresi berlebih faktor anti-angiogenik (sFlt-1, sEng) (Majewska *et al.*, 2018). Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.18 :



Gambar 2.18 Patomekanisme preeklampsia dan efek pleiotropik statin pada preeklampsia (Majewska *et al.*, 2018).

Keterangan: PE terkait dengan penurunan ekspresi atau hilangnya aktivitas Hmox-1 plasenta. Statin memperbaiki disfungsi endotel dengan melindungi endotel vaskular dan merangsang regenerasinya. Efek antioksidan statin meningkatkan kepadatan reseptor endotel *Nitric-Oxide Synthase* (eNOS), aktivasi eNOS dan modulasi stabilitas eNOS. Sintesis NO yang memiliki aktivitas antitrombotik dan vasodilatasi berperan penting dalam melindungi endotel vaskular. Efek anti-oksidatif juga dikaitkan dengan penurunan produksi ROS, yaitu mencegah pembentukan radikal bebas dan oksidasi lipid.

Obat golongan statin juga mengoreksi ketidakseimbangan dalam respon sitokin Th1 / Th2 yang diamati pada preeklampsia (statin menurunkan sitokin proinflamasi Th1, seperti TNF- α , IL-1, IL-2, IFN- γ , dan meningkatkan sitokin antiinflamasi Th2 seperti IL-4, IL 10) sehingga statin merupakan kandidat golongan obat yang sangat menjanjikan untuk pencegahan dan atau pengobatan preeklampsia (Girardi, 2017; Mollazadeha, 2018).

Mekanisme aksi pravastatin adalah menghambat aktivitas *Reduktase Hidroksimetilglutaril-Koa* (HMG-CoA) secara kompetitif, yaitu dengan menempati situs aktif enzim yang bertanggung jawab untuk mengkonversi HMG-CoA

sehingga Hmox-1 dapat melakukan katabolisme karbon monoksida (CO) dan mengaktivasi eNOS untuk memproduksi NO. NO merupakan vasodilator kuat sehingga dapat membantu menjaga keseimbangan angiogenik (Fraisl, 2013). Konsentrasi NO yang tinggi mampu menekan ekspresi sFLT-1 dan sENG serta meningkatkan kadar TGF- β , VEGF, PIGF. Selain itu, inhibisi enzim HMG CoA juga akan membuat aktivitas mevalonat (bagian dari kaskade enzim yang berperan dalam sintesis kolesterol) dibatasi. Saat pravastatin menurunkan produksi kolesterol hati, maka kadar kolesterol darah juga ikut turun (Girardi, 2017).

Pravastatin bekerja dengan mengembalikan ketidakseimbangan angiogenik, peningkatan fungsi endotel dan pencegahan cedera akibat oksidasi dan peradangan (Brownfoot *et al.*, 2016; Girardi, 2017; Putra *et al.*, 2018; Alwis *et al.*, 2020; Smith, 2020). Pravastatin telah terbukti memiliki pengaruh dalam mencegah terjadinya disfungsi endotel maupun memperbaikinya dalam berbagai penelitian eksperimen pada manusia maupun hewan coba. Pravastatin secara signifikan menurunkan kadar ekspresi VCAM1 dan ekspresi endotelin-1 (ET-1) serta adhesi leukosit pada sel endotel, meningkatkan proses migrasi dan invasi sel endotel jika ekspresi sFlt-1 meningkat (Brownfoot *et al.*, 2015).

2.5 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

2.5.1 Klasifikasi *Rattus norvegicus*

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Subfilum : Vertebrata

Kelas : Mamalia

Subkelas : Theria

Ordo : Rodentia

Subordo : Sciurognathi

Famili : Muridae

Subfamili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.19 *Rattus norvegicus* (source : Google).

2.5.2 Ciri Morfologi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) termasuk ke dalam hewan mamalia dengan ciri morfologi memiliki berat 150-600 gram, panjang badan 18-25 cm, hidung tumpul, ekor panjang, telinga $\pm 20-23$ mm (relatif kecil). Jenis yang banyak digunakan adalah wistar, *Sprague Dawley*, dan *Long Evans*. Tikus dalam penelitian ini akan menggunakan galur wistar. Penggunaan tikus galur wistar dilakukan karena fisiologi tikus dianggap lebih relevan dengan manusia, lebih mudah didapat, diamati, mudah diberi perlakuan (Rauf *et al.*, 2018; Nugroho, 2018).

2.5.3 Biologi dan Perilaku Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus pada umumnya akan melakukan kegiatannya pada malam hari dan akan istirahat pada saat siang. tekanan darah sistolik normal tikus wistar betina adalah 84-134 mmHg. Temperatur yang cocok untuk tikus putih berada dikisaran $19^{\circ}\text{C} - 23^{\circ}\text{C}$, dan untuk kelembaban berada dikisaran 40-70% (Nugroho, 2018).

Penggunaan tikus untuk penelitian kehamilan dan reproduksi dengan pertimbangan panjang waktu siklus birahi yang pendek (4-5 hari) dan usia gestasi yang relatif singkat (21-23 hari) dibandingkan dengan manusia.

Pada tikus bunting, trimester 1 sampai usia 11 hari kebuntingan, trimester 2 pada

hari ke 12 - 15 kebuntingan, trimester 3 di hari 16-19 kebuntingan. Jadi dapat dianalogikan bahwa *early onset* preeklampsia pada tikus terjadi pada hari 12-15 kebuntingan dan *late onset* terjadi pada hari 16-19 kebuntingan (Sones&Davisson, 2016).

Waktu pengawinan tikus biasanya dilakukan saat tikus berusia 14 minggu. Siklus estrus (birahi) merupakan nama untuk beberapa mamalia pada siklus reproduksi. Estrus merupakan kondisi dimana tikus betina secara fisiologis dan psikologis menginginkan jantan untuk perkawinan. Pada kondisi estrus terjadi perubahan tingkah laku dan organ reproduksi seksual yang dipengaruhi oleh hipofisis, hipotalamus dan juga ovarium. Kondisi tersebut mampu berubah karena pengaruh faktor dari luar yaitu suhu, status nutrisi, dan cahaya. Untuk memastikan masa estrus dapat dilakukan dengan cara ulas vagina/apus vagina dan melihat kondisi epitel sel vagina dengan berbagai tingkat diferensiasi. Siklus estrus memiliki empat fase yaitu:

1. Proestrus

Kondisi tersebut merupakan kondisi menjelang terjadinya estrus biasanya berlangsung kurang lebih 12 jam. Gejala-gejala yang timbul adalah birahi mulai timbul tetapi masih belum mau menerima jantan.

Folikel di ovarium selama 2-3 hari tumbuh semakin cepat sebelum terjadinya estrus. Hal tersebut terjadi karena melakukan persiapan pelepasan ovum dari ovarium (ovulasi). Pada kondisi ini folikel de graf dipengaruhi oleh FSH dan estrogen. Pengurangan sekresi progesterone dan peningkatan estrogen berakibat terjadinya perubahan fisiologis (perubahan folikel, uteri, servik, meningkatnya keratinisasi epitel vagina)

dan munculnya birahi. Fase ini didapat diketahui dari hasil ulas vagina terdapat kemunculan tunggal atau bertumpuk dari dominasi sel epitel

berinti, terdapat lendir yang banyak dan sel epitel bertanduk, dan sel darah putih berkurang.

2. Estrus

Fase lanjutan dari proestrus adalah estrus. Fase ini terjadi kurang lebih 12 jam. Pada kondisi ini tikus jantan sudah diterima oleh tikus betina dan sudah siap untuk kopulasi. Selain itu kondisi folikel de graf sudah siap untuk menghasilkan estradiol yang dapat mempengaruhi perubahan pada saluran reproduksi betina.

3. Metestrus

Fase ini kelanjutan estrus yang berlangsung selama 21 jam. Stadium pada malestrus terbagi menjadi 15 jam pertama dan selanjutnya 6 jam. Pada kondisi ini perkawinan tidak terjadi, pada uterus sedang fase sekretoris, di ovarium terdapat corpora luteal dan folikel-folikel kecil, mulai muncul *Corpus Luteum* dan sel granulose folikel yang diperankan oleh LH dari adenohipofisa.

4. Diestrus

Kelanjutan dari fase metestrus adalah diestrus. Fase ini merupakan fase terakhir dengan lama 60-70 jam. Pada kondisi ini terjadi penebalan endometrium, berkurangnya kontraksi uterus, hipertropi pada kelenjar, mukosa vagina menipis, perpindahan leukosit bertambah banyak. Kondisi tersebut dipengaruhi oleh hormone progesterone sehingga terjadi pematangan korpus luteum (Nugroho, 2018; Dewanti, 2018).

2.5.4 Tikus Strain Wistar Model Preeklampsia

Ada banyak cara untuk membuat hewan coba model preeklampsia, yaitu:

2.5.4.1 Penghambatan Sintase Nitrit Oksida Selama Kehamilan

Nitric Oxide (NO) penting untuk pembentukan endotel yang sehat, dan dalam kehamilan mempromosikan invasi endovaskular oleh sitotrofoblas. NO dihasilkan untuk bekerja pada dinding arteri yang membuat resistansi rendah pada uteroplasenta. Jika proses ini gagal, maka akan membuat resistansi pada sirkulasi uteroplasenta tinggi. NO dapat menghambat agregasi platelet, memodifikasi ekspresi sitokin inflamasi dan menghambat interaksi antara sel imun dan endotel, serta dapat mengurangi pelepasan radikal bebas yang diturunkan dari oksigen (Khalil, 2015).

Bahan yang biasa digunakan untuk menghambat terbentuknya NO adalah L-NAME. Pemberian L-NAME menyebabkan gangguan pensinyalan di semua arteri, sehingga kekurangan NO pada kehamilan menyebabkan munculnya manifestasi tertentu menyerupai preeklampsia. Model ini telah terbukti berguna dalam menghasilkan tikus dengan gejala preeklampsia dan menunjukkan peran penting NO (Talebianpoor *et al*, 2018). Dalam beberapa penelitian, model tikus yang diberikan L-NAME mensimulasikan kondisi kehamilan dengan preeklampsia. Pemberian L-NAME dapat menghambat sintesis NO selama masa kehamilan. Pada hari ke 13 kehamilan (partus 21-22 hari), kelompok tikus putih bunting dengan perlakuan L-NAME, disuntikkan L-NAME dengan dosis 125 mg/kgBB (Zhu *et al*, 2016).

2.5.4.2 Model Preeklampsia dengan Iskemia Plasenta

Penyebab utama yang diyakini memicu preeklampsia pada wanita adalah iskemia plasenta, sehingga model ini juga banyak digunakan. Selain menunjukkan iskemia plasenta dalam preeklampsia, model ini juga memperlihatkan ketidakseimbangan faktor angiogenik, khususnya peningkatan HIF-1 α , sEng, sFLT-1 dan penurunan VEGF dan PlGF. Bahan yang biasa digunakan adalah anti Qa-2 untuk menghambat ekspresi Qa-2 pada hewan coba

yang homolog dengan HLA manusia. Pemberian anti Qa-2 menghambat invasi trophoblas, dan menjadikan kondisi iskemia plasenta pada hewan coba model preeklampsia. Anti Qa-2 dengan dosis 40 ng pada hari 1-4 kebuntingan mampu menurunkan ekspresi Qa-2 pada sel trofoblas hewan coba (Sulistyawati *et al.*, 2016).

2.5.4.3 Model Preeklampsia dengan Hipertensi.

Salah satu manifestasi klinis yang ditemukan pada preeklampsia adalah hipertensi dalam kehamilan. Salah satu golongan obat kortikosteroid yang dapat meningkatkan tekanan darah melalui efek mineralokortikoid adalah Prednison, karena bisa meningkatkan retensi natrium dan air di ginjal. Pemberian kortikosteroid untuk memberikan efek hipertensi tergantung dosis dan lama pemberian, biasanya dosis >4 mg/hari sudah mampu menyebabkan hipertensi. Selain itu, NaCl 2% dan prednison 1.5 mg/kg yang diberikan pada kelompok hewan coba dengan dosis dan rentang waktu tertentu juga akan menginduksi model hipertensi (Dewanti, 2018). Dosis prednison 2,5 mg/kgBB + NaCl 400-800 mg/kgBB selama 14 hari berturut turut dapat menimbulkan beberapa tanda preeklampsia pada trimester I-II (Rauf *et al.*, 2018).

2.5.4.4 Model Preeklampsia dengan Pemberian Inhibitor Angiogenesis

Cara lain untuk membuat model preeklampsia adalah menghambat angiogenesis pada proses plasentasi. Triponil sulfat dapat menghambat proses angiogenesis karena dapat meningkatkan produksi sFlt-1 plasenta dan berlawanan dengan VEGF sehingga menyebabkan kerusakan endotel yang merupakan gejala seperti kondisi preeklampsia. Peningkatan sFlt1 pada tikus bunting yang diinduksi akan menimbulkan efek berupa hipertensi dan proteinuria. Untuk menciptakan tikus bunting model preeklampsia, triponil sulfat diberikan pada hari ke-9, 10 dan 11 kebuntingan dengan dosis 70 mg/Kg BB secara intraperitoneal (Purwatiningsih, 2019).

2.5.5 Prosedur Pemberian Obat pada Tikus Wistar Sebagai Hewan Coba dalam Penelitian.

Volume obat oral yang diberikan maupun pemberian injeksi tidak boleh melebihi dari batas maksimal yang ditetapkan. Pemberian obat dengan berbagai metode pemberian pada beberapa hewan uji sebagai berikut:

Tabel 2.2 Jumlah Maksimum Volume Pemberian Obat pada Hewan Uji Coba dalam Beberapa Metode Pemberian (dalam ml)

Pemberian	Jenis hewan			
	Tikus	Mencit	Kelinci	Marmot
PO	5	1	20	10
SC	2	0,5	3	3
IV	1	0,5	5-10	2
IM	0,1	0,05	0,5	0,2
IP	3	1	10	3

Perhitungan volume administrasi obat (VAO) dapat ditentukan dari memperhitungkan berat dari hewan uji, konsentrasi obat atau sediaan yang diberikan dan dosis (mg/kgBB) hewan uji dan metode pemberian obat (Nugroho, 2018). Kisaran berat badan hewan uji ada dikisaran 17-25 g pada mencit, 150-200 g pada tikus, dan 15-20 kg pada kelinci. Adapun rumus untuk menghitung volume administrasi obat adalah:

$$VOA = \frac{\text{Dosis (mg/kg bb)} \times \text{bb hewan uji (kg)}}{\text{Konsentrasi obat (mg/mL)}}$$

Berikut ini tabel konversi antara dosis manusia dan jenis hewan :

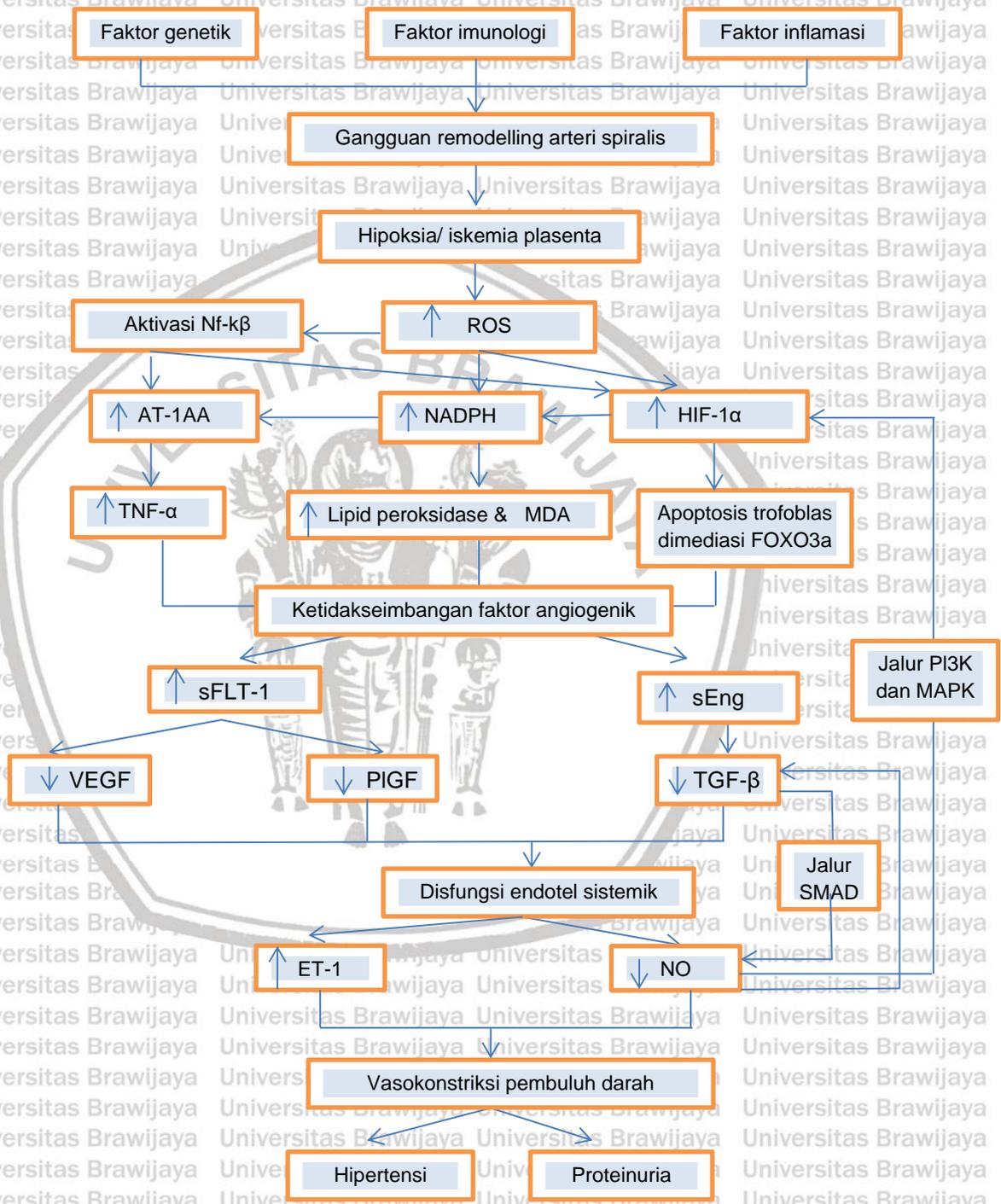
Tabel 2.3 Konversi Dosis Manusia dan Antar Jenis Hewan (Nugroho, 2018)

	Mencit	Tikus	Marmot	Manusia
Manusia (70kg)	0,0026	0,018	0,031	1,0
Marmot (400g)	0,08	0,57	1,0	31,15
Tikus (200g)	1,14	1,0	1,74	56,0
Mencit (200g)	1,0	7,0	12,25	387,9

BAB 3

KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori

Dari kerangka teori tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut: Penyebab terjadinya preeklampsia adalah multifaktorial, diantaranya adalah faktor genetik, faktor imunologik, faktor inflamasi yang menyebabkan peningkatan stres oksidatif, iskemia plasenta dan disfungsi endotel. Faktor tersebut mempengaruhi terjadinya plasentasi yang abnormal pada kehamilan. (Burke, 2013; Arate *et al*, 2014; Ortega *et al*, 2019).

Pada kondisi preeklampsia, sitotrofoblas melakukan invasi ke dinding uterus maternal namun sangat dangkal sehingga invasi endovaskuler tidak berlanjut sampai ujung arteri spiralis. Kegagalan remodeling arteri spiralis berupa sitotrofoblas yang gagal mengubah subtype epitel proliferasif menjadi subtype endotelial invasif yang menyebabkan penurunan aliran darah pada plasenta karena arteri spiralis tidak melebar. Kondisi ini memicu hipoksia dan gangguan perfusi plasenta sehingga terjadi iskemia plasenta. Hipoksia yang berkelanjutan akan mengaktifasi pembentukan Nf- κ B yang sangat berpengaruh pada respon inflamasi (Rahardjo *et al.*, 2014; Burton *et al.*, 2019; Phipps *et al.*, 2019).

Kondisi hipoksia dapat memicu terjadinya stres oksidatif, yaitu peningkatan *Reactive Oxygen Species (ROS)*. Kondisi iskemia plasenta juga menyebabkan plasenta memproduksi AT1-AA (*Angiotensin II Type-1 Receptor Autoantibodies*) dan merangsang pelepasan sejumlah besar *mikropartikel syncytiotrophoblast (STBM)*. STBM dapat mengaktifkan imunosit termasuk neutrofil dan sel dendritik. Imunosit aktif dapat merangsang produksi *Tumor Nekrosis- α (TNF- α)* dan mempromosi stres oksidatif melalui *Neutrofil Nicotinamide Adenin Dinucleotida Fosfat (NADPH)* dan memicu peningkatan Lipid peroksidase. Sel endotel yang terpapar peroksida lemak menghasilkan MDA (*Malondialdehyde*) yang menyebabkan kerusakan membran sel dan selanjutnya seluruh struktur sel endotel. Akumulasi Lipid peroksidase akan mengakibatkan rusaknya endotel akibat dari terbentuknya radikal bebas. Kondisi

tersebut akan merubah produksi nitrit oksida (NO) dan mengganggu keseimbangan prostaglandin. HIF-1 α akan mengalami upregulasi sebagai mekanisme untuk beradaptasi terhadap kondisi hipoksia tersebut (Lucca *et al.*, 2015 ; Burton *et al.*, 2019).

Ekspresi HIF-1 α yang berlebihan pada preeklampsia menyebabkan ketidakseimbangan dalam ekspresi protein angiogenik. Adanya overekspresi HIF-1 α akan menyebabkan peningkatan stimulasi produksi sFlt-1. Peningkatan sFlt-1 yang pada preeklampsia memperburuk stres oksidatif dengan memodulasi *Heme-Oxygenase-1* (Hmox-1). Peningkatan ekspresi HIF-1 α juga meningkatkan apoptosis trofoblas yang dimediasi oleh FOXO3a (*Forkhead box O transcription factor 3a*) (Zhang *et al.*, 2020). Adanya stres oksidatif tersebut menyebabkan apoptosis, disfungsi sel endotel dan respons inflamasi yang berlebihan. Disfungsi endotel sistemik akan menyebabkan gejala klinis seperti hipertensi, proteinuria dan gejala klinik lainnya pada preeklampsia (Ekambaram, 2011; Lambert, 2014; Lumbanraja, 2015; Rana *et al.*, 2019).

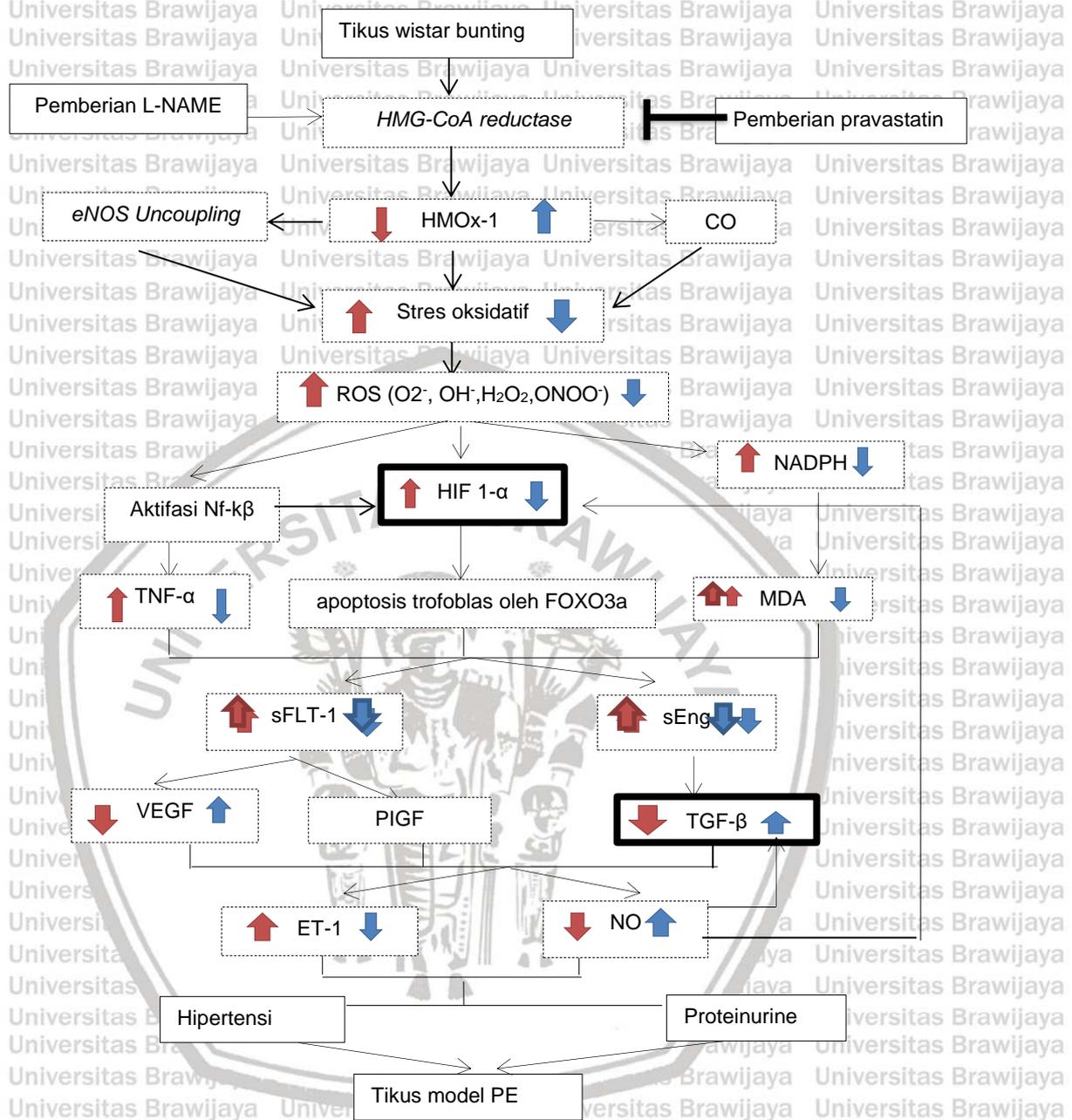
Adanya plasentasi yang abnormal tersebut menyebabkan sindrom pada maternal yang ditandai dengan adanya ketidakseimbangan faktor angiogenik. Faktor-faktor antiangiogenik seperti sFlt-1 dan sEng mengalami peningkatan pada preeklampsia. sFlt-1 mengikat VEGF dan PlGF sehingga terhambat untuk berikatan dengan reseptor yang berada pada endotel, dan terjadi penurunan kadar VEGF dan PlGF (Lumbanraja, 2015). TGF- β merupakan salah satu faktor pro angiogenik yang memicu pembuluh darah baru dan juga meningkatkan permeabilitas vaskular. Sama halnya dengan peranan sFlt-1, sEng berperan sebagai faktor anti angiogenik pada preeklampsia dengan mencegah pengikatan molekul TGF- β ke membran sel Eng, dan menurunkan efek pro angiogenik dan vasodilatasi dari molekul TGF- β pada endotel normal. TGF- β yang menurun juga akan menghambat aktivitas *Nitric Oxide Synthase* (NOS). Sinyal TGF- β berkaitan

dengan nitrit oksida pada sindroma preeklampsia melalui jalur SMAD (Gaarenstroom, 2014; Aisyah, 2019).

Nitric Oxide (NO) penting untuk pembentukan endotel yang sehat, dan dalam kehamilan mempromosikan invasi endovaskular oleh sitotrofoblas. Adanya peningkatan HIF-1 α berpengaruh terhadap kadar NO. Produksi sFlt-1 yang berlebihan menyebabkan reduksi sintesis Nitrogen Oksida (NO) melalui inaktivasi sintase NO endotelial (eNOS). Selain itu, NO juga diketahui dapat mempengaruhi kadar HIF-1 α melalui jalur pensinyalan *Phosphatidylinositol 3-Kinase* (PI3K) dan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK). Penurunan kadar NO dan kadar ET-1 yang meningkat menimbulkan manifestasi klinis preeklampsia pada maternal. (Hendrickson&Poyton, 2015; Khalil, 2015; Brennan *et al.*, 2016; Patil *et al.*, 2016; Owusu, 2018; Phipps *et al.*, 2019).

Adanya inflamasi dan stres oksidatif tersebut menyebabkan aktivasi dan disfungsi endotelium yang ditandai dengan vasokonstriksi yang meningkat, penurunan vasodilatasi dan perubahan proses angiogenesis. Kondisi ketidakseimbangan tersebut yang terus menerus menimbulkan respon maternal sistemik berupa vasospasme dan peningkatan permeabilitas vaskuler, dengan manifestasi klinis berupa hipertensi, oedem dan adanya proteinuria (Arate *et al.*, 2014; Cunningham, 2014; Ortega *et al.*, 2019).

3.2 Kerangka Konsep



Keterangan :

- ↑ atau ↓ : Sebelum diberikan perlakuan (naik/turun panah merah)
- ↑ atau ↓ : Setelah diberikan perlakuan (naik/ turun panah biru)
- : Variabel yang diteliti.
- : Variabel yang tidak diteliti
- : Menghambat

Gambar 3.2. Kerangka konsep.

Pemberian L-NAME dapat menimbulkan gangguan pensinyalan pada NO pada semua arteri melalui jalur sintesis kolesterol *HMG-CoA reductase* sehingga enzim HMOx-1 terganggu, akibatnya memblokir aktifitas eNOS (*eNOS encoupling*) dan berkontribusi menyebabkan stres oksidatif pada jaringan vaskular. Stres oksidatif ditemukan pada iskemia plasenta dan terjadi penurunan perfusi plasenta. Penurunan perfusi plasenta ditandai dengan peningkatan ROS.

Hipoksia kronis atau reoksigenasi periodik secara terus menerus di dalam ruang intervillous menghasilkan stres oksidatif di jaringan menyebabkan peningkatan ROS. Peningkatan ROS akan diikuti dengan upregulasi HIF-1 α yang bisa menyebabkan apoptosis trofoblas dimediasi oleh FOXO3a, respon inflamasi dengan menginduksi Nf-k β , dan peningkatan NADPH yang menyebabkan peningkatan MDA. Pada kondisi preeklampsia, peningkatan HIF-1 α memicu pelepasan faktor anti-angiogenik sFlt1 dan sEng secara berlebihan dalam sirkulasi maternal. sFlt-1 yang tinggi menghambat pensinyalan VEGF dan PlGF serta sEng juga menghambat pensinyalan TGF- β dan memblokir aktivasi sintase oksida nitrat yang dimediasi TGF- β dalam sel endotel. Adanya stres oksidatif, respons inflamasi yang berlebihan dan ketidakseimbangan faktor angiogenik tersebut akan menyebabkan disfungsi sel endotel.

Pravastatin menghambat jalur sintesis kolesterol *HMG-CoA reductase* sehingga mampu mengaktifasi enzim HMOx-1 yang berperan dalam katabolisme karbon monoksida (CO) dan mengaktifasi eNOS. CO sebagai vasodilator kuat dapat menurunkan tekanan perfusi pada iskemia plasenta dan membantu menjaga keseimbangan angiogenik dengan menekan ekspresi sFLT-1 dan sENG. Dengan pemberian pravastatin diharapkan menghambat *HMG-CoA reductase* sehingga enzim HMOx-1 dapat bekerja dengan baik. Dalam keadaan normoksia, HIF-1 α akan mengalami proses hidrosilasi sehingga konsentrasi HIF-1 α juga tetap stabil. Pada kondisi yang stabil, HIF-1 α berada pada kadar

yang rendah sehingga sFlt-1 dan sEng juga diharapkan tidak mengalami peningkatan. Jika sFlt-1 dan sEng tidak mengalami peningkatan, maka aktivitas TGF- β , VEGF, PIGF juga tidak akan terhambat. Jika faktor proangiogenik tersebut dalam kondisi normal maka diharapkan mampu memperbaiki fungsi endotel dengan mengaktivasi eNOS sehingga terjadi peningkatan NO dan penurunan ET-1, serta terjadi vasorelaksasi dan memperbaiki kondisi preeklampsia.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian pravastatin berpengaruh terhadap kadar HIF-1 α dan TGF- β pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia

Subhipotesis penelitian

3.3.1 Pemberian pravastatin mampu menurunkan kadar HIF-1 α pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia.

3.3.2 Pemberian pravastatin mampu meningkatkan TGF- β pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar model preeklampsia.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini adalah *true eksperimental reasearch*, yaitu mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel lain dengan menggunakan kontrol (Sugiyono, 2017). Desain penelitian menggunakan *Post Test Only Control Group Design*, yaitu pengukuran terhadap pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimental dan membandingkannya dengan kelompok kontrol dengan menghomogenkan sampel penelitian. (Notoatmodjo, 2012).

Penelitian dilakukan secara *in vivo* menggunakan kelompok hewan coba berupa tikus (*Rattus Novergicus*) galur wistar *bunting* model Preeklampsia (dengan paparan L-NAME) yang diberikan pravastatin berbagai dosis. Parameter yang diamati adalah kadar HIF-1 α dan TGF- β .

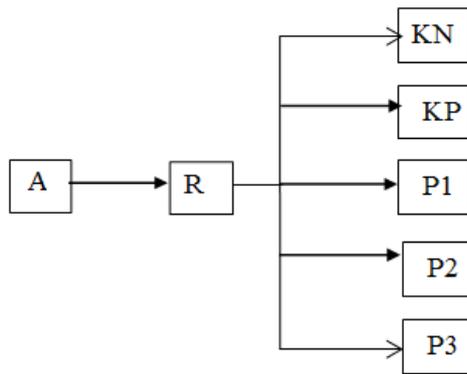
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Populasi merupakan keseluruhan objek yang diteliti (Notoatmodjo, 2012). Penelitian ini akan menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) wistar dengan usia minimal 14 minggu dan BB 150-200 gr.

4.2.2 Sampel dan Besar Sampel

Penentuan sampel penelitian dari populasi tersebut dengan melakukan randomisasi pada kelompok kontrol maupun eksperimental menggunakan *teknik simple random sampling*. Sampel dalam penelitian ini adalah tikus wistar bunting yang memenuhi kriteria inklusi.



Gambar 4.1. Cara sampling

Keterangan:

A : Aklimitasi

R : Randomisasi

KN : Kontrol negatif, tikus wistar bunting yang tidak diberi perlakuan.

KP : Kontrol positif, tikus wistar bunting diberikan L-NAME 125 mg/kgbb/hari.

P1 : Perlakuan 1, tikus wistar bunting yang diberikan L-NAME 125 mg/kgBB/hari dan pravastatin dosis 1.

P2 : Perlakuan 2, yaitu tikus wistar bunting yang diberikan L-NAME 125 mg/kgBB/hari dan pravastatin dosis 2.

P3 : Perlakuan 3, yaitu tikus wistar bunting yang diberikan L-NAME 125 mg/kgBB/hari dan pravastatin dosis 3.

Jadi, ada 5 kelompok dalam penelitian ini, yaitu satu kelompok kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), dan tiga kelompok perlakuan (P1, P2, P3).

Estimasi besar sampel pada tiap kelompok ditentukan berdasarkan jumlah replikasi (n) pada setiap kelompok perlakuan (p) dengan menggunakan rumus

Solimun (2002) yang dikutip oleh Sugiyono (2017), yaitu:

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

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Hasil dari penghitungan didapatkan banyak sampel minimal 4 ekor tikus putih bunting tiap kali pengulangan. Dengan demikian 4 ekor tikus bunting masing-masing kelompok untuk 5 kelompok. Jadi total sampel adalah 20 ekor.

Tiap kelompok sampel ditambah masing masing 1 ekor untuk menjaga kemungkinan sampel yang *drop out*, jadi total 25 ekor sampel.

4.2.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi :

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dengan usia minimal 14 minggu.
2. Tikus yang tidak cacat, nafsu makan baik, berbulu lebat dan gerak aktif.
3. Berat badan 150-200 gram.
4. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang sudah dikawinkan dan bunting dengan usia kebuntingan pertama.
5. Tikus bunting dengan tekanan darah normal (sistolik 84-134 mmHg) sebelum diberikan perlakuan.
6. Tikus bunting dengan TD sistolik ≥ 140 mmHg setelah diberikan perlakuan.

Kriteria eksklusi:

1. Tikus yang cacat dan nampak tidak sehat
2. Tikus yang pernah digunakan untuk penelitian lain.

3. Berat badan kurang dari 150 gram atau lebih dari 200 gram sebelum dikawinkan.
4. Tikus bunting dengan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg (hipertensi) dan protein urin positif ≥ 1 sebelum diberikan perlakuan.
5. Tikus melahirkan sebelum penelitian dimulai (saat aklimatisasi).

Drop out :

1. Tikus yang melahirkan sebelum penelitian selesai.
2. Tikus yang mati saat penelitian.
3. Adanya *dead conceptus*/janin IUDF saat dilakukan pembedahan.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Waktu penelitian adalah bulan Februari sampai Juni 2021.

4.4 Bahan dan Alat

4.4.1 Bahan dan Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba

Bahan : Pakan standart dengan kandungan air 12%, lemak kasar 3-7%, serat kasar 8%, abu 10%, kalsium 0.9 – 12%, fosfor 0.7 – 1.0%, air minum menggunakan botol kecil secara *ad libitum*.

Alat : Kandang dengan ukuran 45 cm x 35 cm x 12 cm yang dialasi sekam 1-5 – 2 cm, ditutup kawat kasa dan diberi botol tempat minum.

4.4.2 Bahan dan Alat untuk Perlakuan Hewan Coba

a. L-NAME

Bahan: L-NAME merek ChemCruz A142 , kapas alkohol, PBS

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

b. Pravastatin

Bahan : pravastatin sediaan 20 mg.

Alat : Spuit 1 cc, aquadest, sonde.

4.4.3 Bahan dan Alat untuk Pembedahan Hewan Coba

Bahan : kapas, alkohol spray, spuit 5 cc

Alat: Sarung tangan, *minor surgery set* (mess, gunting bedah, pinset), timbangan mikro digital, botol plastik untuk tempat jaringan, *plain vacutainer*.

4.4.4 Bahan dan Alat untuk Pengukuran Kadar HIF-1 α

Serum tikus, *Pre-coated ELISA Plate*, *Standard Solution*, *Standard Diluent*, *Streptavidin-HRP*, *Stop Solution*, *Substrate Solution A & B*, *Wash Buffer Concentrate*, *Plate Sealer*, *Deionized or distilled water*, Rat HIF-1 α ELISA Kit merk Elabscient dengan nomor seri E-EL-R0513.

4.4.5 Bahan dan Alat untuk Pengukuran Kadar TGF- β

Serum tikus, *Pre-coated ELISA Plate*, *Standard Solution*, *Standard Diluent*, *Streptavidin-HRP*, *Stop Solution*, *Substrate Solution A & B*, *Wash Buffer Concentrate*, *Plate Sealer*, *Deionized or distilled water*, Rat TGF- β ELISA Kit merk Elabscience dengan nomor seri E-EL-R0084.

4.5 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas : Pravastatin
- b. Variabel terikat : Kadar HIF-1 α , kadar TGF- β pada tikus bunting model preeklampsia

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Satuan	Jenis Data	Metode
<i>Hypoxia-Inducible Factor-1α</i>	Faktor transkripsi pada segmen HRE (<i>Hypoxic Response Element</i>) dan diketahui sebagai penanda hipoksia jaringan, diukur dari serum darah.	Elisa Reader	pg/ml	Rasio	ELISA
<i>Transforming Growth Factor-β</i>	Salah satu faktor pro angiogenik yang memicu pembuluh darah baru, diukur dari serum darah.	Elisa Reader	pg/ml	Rasio	ELISA

Tikus bunting	Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) betina galur wistar usia 14 minggu saat dikawinkan, ditemukan vaginal plug atau pada swab vagina ditemukan sperma yang diikuti dengan penambahan BB dan pembesaran abdomen tikus serta ditemukan plasenta dan janin ketika pembedahan.	<ul style="list-style-type: none"> • Vaginal plug atau swab vagina • Ekor • Gram • Timbangan
Tikus model Preeklampsia	Tikus bunting yang telah di injeksi L-NAME intraperitoneal dosis 125 mg/kgBB/hari selama 7 hari (usia gestasi hari ke 13-19) dan menunjukkan kondisi preeklampsia, yaitu tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan/atau protein urin $\geq + 1$.	<ul style="list-style-type: none"> • Dipstick test (Protein urin) • CODA (TD) • g/dl • mmHg
L-NAME	NOS inhibitor melalui jalur 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A reduktase untuk menginduksi hipertensi pada tikus. L-NAME diberikan secara injeksi intraperitoneal dosis 125 mg/kgBB/hari selama 7 hari, pada usia gestasi hari ke 13-19.	<ul style="list-style-type: none"> • Timbangan obat mg/kgBB /hari
Pravastatin	Obat golongan statin yang merupakan Inhibitor 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) reduktase, kandidat terkuat terapi untuk pencegahan dan pengobatan preeklampsia, bersifat hidrofilik. Dosis yang diberikan setiap kelompok perlakuan adalah 2 mg/hari, 4 mg/hari, 8 mg/hari pada tikus model preeklampsia selama 7 hari (usia gestasi hari ke 13-19) secara oral (sonde).	<ul style="list-style-type: none"> • Timbangan obat mg/kgBB /hari Ordinal

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba Tikus Wistar.

Aklimatisasi dilakukan selama tujuh hari agar hewan beradaptasi dahulu dengan lingkungan baru di laboratorium. Tikus dimasukkan ke dalam kandang dengan ukuran 45 cm x 35 cm x 12 cm yang ditutup kawat berjaring tanpa diberikan perlakuan serta tetap diberikan makan dan minum secara *ad libitum*.

Sekam pada alas akan diganti 2x seminggu pada pagi hari. Setiap kandang

ditempati 3-4 ekor tikus strain wistar.

Ketersediaan pakan berbentuk pallet sudah disiapkan dan pakan diberikan setiap pagi hari dengan takaran 40 gr/ hari dan minum yang diberikan menggunakan botol kecil sebanyak 150 ml per ekor/hari *ad libitum*. Sisa pakan dari pemberian hari sebelumnya tidak digunakan kembali. Menciptakan suasana lingkungan yang stabil ventilasi yang cukup dan suhu ruangan yang baik dengan kebutuhan fisiologis tikus antara 27°C – 28 °C.

4.7.2. Pengawinan Tikus Betina Strain Wistar

Tikus wistar betina dengan berat badan 150-200 gr diletakkan ke dalam kandang bekas tikus jantan atau menyampurkan sekam dari kandang tikus jantan ke tikus betina selama 72 jam untuk menimbulkan efek feromon. Tikus betina akan dikawinkan dengan tikus jantan secara *monomating* (perbandingan 1:1) dalam satu malam (mulai jam 16.00 WIB) dan keesokan harinya pada jam 06.00 WIB dilakukan pengecekan *vaginal plug* untuk mengetahui tanda kopulasi. Penimbangan BB tikus dimulai dari hari pertama kebuntingan, hari ke 10, dan hari ke 19. Konfirmasi kebuntingan dari hasil swab vagina untuk mengetahui adanya sperma sebagai tanda adanya kopulasi atau dilihat dari adanya *vaginal plug*, kemudian adanya peningkatan berat badan, dan juga melalui inspeksi dan palpasi abdomen tikus.

4.7.3 Randomisasi

- 1) Nomer urut 1 – 20 diberikan pada tikus.
- 2) Bilangan acak diberikan pada setiap tikus.
- 3) Ranking pada setiap tikus diberikan sesuai dengan angka acak yang telah dibuat. Angka ranking dijadikan sebagai dasar penentuan kelompok.

Ranking 1 – 4 masuk dalam kelompok kontrol negatif (K-), ranking 5 – 8 masuk dalam kelompok kontrol positif (K+), ranking 9 – 12 masuk dalam

kelompok perlakuan P1, ranking 13 – 16 masuk dalam P2, dan ranking 16-20 masuk dalam P3.

4.7.4 Pembuatan Model Preeklampsia pada Hewan Coba

Keberhasilan pembuatan tikus bunting model preeklampsia dapat dilihat dari pemeriksaan tekanan darah dengan menggunakan alat pengukur tekanan darah CODA dan protein urin dengan menggunakan dipstik test pada urin metabolit, yaitu tekanan darah sistolik >140mmHg serta pemeriksaan proteinurine kualitatif $\geq +1$ (Prawirohardjo, 2013; Brennan *et al*, 2014).

Pembuatan model preeklampsia dilakukan dengan melarutkan L-NAME dengan PBS dan diberikan pada usia gestasi hari ke 13-18 secara intraperitoneal. Dosis L-NAME yang digunakan 125 mg/kgBB/hari (Tian *et al.*, 2016; Zhu, 2016).

Berikut perhitungan dosis pemberian:

1. Perhitungan dosis L-NAME setiap tikus dengan estimasi berat badan 200 gr.

$$\text{L-NAME } 125 \text{ mg/kgBB/hari} = \frac{125}{1000} \times 200 = 25 \text{ mg/tikus.}$$

Sehingga dosis L-NAME yang diberikan pada 1 ekor tikus dengan berat badan 200 gram dalam 1 hari adalah 25 mg.

2. Cara Pelarutan L-NAME

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

3. Pemberian intraperitoneal maksimal 0,2 cc pada setiap tikus perhari, sehingga dibutuhkan 3,2 cc larutan PBS per hari dan L-NAME 25 mg/tikus x 16 = 400mg untuk 16 ekor tikus (4 kelompok uji).

4. Tikus diinjeksikan 0,2 cc intraperitoneal setiap hari kehamilan pada kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. L-NAME diberikan sebanyak satu dosis setiap hari selama 7 hari perlakuan

5. Pada kontrol negatif, diberikan injeksi PBS sebanyak 0,2 cc secara intraperitoneal 1 kali/hari dari hari ke 13-19 kebuntingan.

Langkah-langkah pemberian injeksi sebagai berikut :

- 1) Setelah selesai dilakukan pengoplosan, sediaan L-Name disiapkan dalam spuit 1cc dengan dosis 0,2 cc pada setiap tikus.
- 2) Kaki sampai pangkal ekor tikus dipegang menggunakan satu tangan, sedangkan telapak tangan lainnya memegang bagian tubuh tikus dan juga leher tikus dengan menggunakan telunjuk dan jempol secara perlahan.
- 3) Ditentukan lokasi penyuntikan yaitu di daerah peritoneal.
- 4) Dilakukan penyuntikan dengan cara memasukkan jarum injeksi pada bagian bawah permukaan kulit abdomen dengan menarik kulit tikus agar tidak terkena kandung kemih, hati, dan rahim.
- 5) Tikus dikembalikan ke kandang.

4.7.5 Pemberian Pravastatin

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10mg, 20mg dan 40 mg (Girardi, 2017) yang selanjutnya akan dikonversikan sesuai berat badan tikus (perkiraan berat badan tikus = 200 g = 0,2 kg) dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Perlakuan 1 : } 10 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} = 2 \text{ mg/hari}$$

$$\text{Perlakuan 2 : } 20 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} = 4 \text{ mg/hari}$$

$$\text{Perlakuan 3 : } 40 \text{ mg} \times 0,2 \text{ kg} = 8 \text{ mg/hari}$$

Penelitian ini menggunakan pravastatin tablet yang di haluskan berupa serbuk dan dilarutkan, selanjutnya diberikan secara peroral melalui sonde.

Pemberian sonde menyesuaikan kapasitas maksimal lambung tikus (5ml), maka untuk menghindari retensi lambung pemberian pravastatin maksimal 2 cc. Dosis

1 mg akan diencerkan dalam aquades 0,25 cc sehingga dosis tersebut perlu dilakukan pengenceran dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Perlakuan 1: } 2 \times 0,25 \text{ cc} = 0,5 \text{ cc}$$

$$\text{Perlakuan 2: } 4 \times 0,25 \text{ cc} = 1 \text{ cc}$$

Perlakuan 3 : $8 \times 0,25 \text{ cc} = 2 \text{ cc}$

Langkah pemberian pravastatin pada tikus adalah sebagai berikut:

1. Pravastatin dimasukkan ke dalam spuit 5 cc yang telah disambung sonde dibagian ujungnya. Bagian tengkuk tikus dipegang dengan pelan dan hati-hati.
2. Sonde dimasukkan ke dalam mulut tikus melalui langit-langit secara perlahan sampai ke faring hingga esophagus.
3. Larutan pravastatin di spuit dimasukkan kedalam esophagus hingga mencapai lambung.
4. Tikus dikembalikan ke kandang.

4.7.6 Pengukuran Tekanan Darah

Pemeriksaan tekanan darah dilakukan sebanyak 3 kali pada hari ke 12 (sebelum diberikan L-NAME), pada hari ke 15 dan 19 usia kebuntingan (setelah diberikan L-NAME). Metode pengukuran tekanan darah menggunakan alat Kent Scientific CODA dengan teknik *Volume Pressure Recording (VPR) tail cuff aouto-pickup*. Perekam mengukur enam parameter yaitu tekanan darah sistolik, tekanan darah diastolik, tekanan arteri rata-rata, denyut jantung, volume darah, dan aliran darah pada ekor. Prosedur pemeriksaan tekanan darah menggunakan alat Kent Scientific CODA adalah sebagai berikut:

1. Platform tempat meletakkan hewan coba dipanaskan pada suhu 32° - 35°C .
2. Tikus diletakkan pada tabung hewan coba, pastikan ekor tikus berada diluar tabung.
3. Penutup tabung dikunci.
4. Tikus diletakkan pada platform yang telah hangat.
5. Manset oklusi dipasang pada ekor tikus, dimulai dari bagian paling besar hingga mendekati pangkal ekor.

6. Manset oklusi kedua dipasang dengan diameter lebih kecil.

7. Tikus dipastikan dalam kondisi tenang, dan tekanan darah tikus mulai direkam.

4.7.7 Pengukuran Protein Urin

Pengukuran protein urin dilakukan hari ke 12, hari ke 15 dan hari ke 19 kebuntingan dengan menggunakan *urynalisis reagen test strips*. Pemeriksaan proteinurine dengan cara menampung urine selama 24 jam dan diperiksa menggunakan urin dipstik yang memiliki sensitivitas sebesar 70% dan spesifisitas sebesar 68% (Akbarian&Shafiee, 2011; Bartal *et al*, 2020).

Urin tikus ditampung dengan cara menempatkan tikus wistar bunting pada kandang metabolik selama 24 jam. Protein urin (+) setara dengan 0.3 gr/l. Protein urin (++) setara 1.0 gr/l, protein urin (+++) setara dengan 3.0 gr/l dan protein urin (++++) setara dengan >10 gr/l (Cunningham *et al*, 2013).

4.7.8 Pengambilan Serum Darah Tikus Strain Wistar Model Preeklampsia

Prosedur serum darah tikus setelah diberikan perlakuan adalah:

- 1) Peralatan bedah minor, pinset, gunting, mikropipet dan tabung ependorf, formalin 10% dan botol untuk tempat organ tikus disiapkan.
- 2) Menggunakan *Cervical dislocation*. Tikus diletakkan di atas alas papan, perut menghadap keatas dengan paku payung yang ditancapkan pada keempat telapak kaki.
- 3) Dinding perut dibuka dengan gunting secara hati-hati, dengan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kanan dan kesamping kiri.
- 4) Darah tikus diambil dari jantung kanan menggunakan spuit 5 cc
- 5) Sampel didiamkan selama 12 jam dalam suhu 4°C, dan disentrifugasi hingga serum terpisah. Serum diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung ependorf.

6) Selanjutnya tabung dikirim ke Laboratorium Faal untuk dilakukan pemeriksaan kadar HIF-1 α dan kadar TGF- β .

7) Bangkai tikus dikubur.

4.7.9 Pengukuran Kadar HIF-1 α dan TGF- β

4.7.9.1 Pengukuran Kadar HIF-1 α

ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi adanya antigen yang dikenali oleh antibodi atau dapat digunakan untuk menguji antibodi yang mengenali antigen. Pengukuran kadar HIF-1 α menggunakan Rat HIF-1 α ELISA Kit merek Elabscience (E-EL-R0513, *detection range* 7.81-500 pg/ml, *sensitivity* 4,69 pg/ml), dengan teknik *Sandwich Indirect* ELISA. Adapun prosedur kerja sebagai berikut:

1. Semua reagen, larutan standart disiapkan.
2. Disiapkan pengenceran standart dan wash buffer
 - Pengenceran standart (diencerkan 120 μ l *Standard Solution* ke dalam 120 μ l *Standard Diluent*).
 - Wash Buffer (diencerkan *Wash Buffer Concentrate* 15 ml ke dalam *deionized or distilled water* dan di tambahkan 300 ml. Gradien pengenceran yang direkomendasikan adalah sebagai berikut: 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,63, 7,81, 0 pg/ml).
3. Ditambahkan 50 μ l standart ke masing-masing well plate.
4. Ditambahkan 40 μ l sampel berupa serum darah ke well plate dan 10 μ l *antibody anti-HIF-1 α* , kemudian tambahkan 50 μ l *streptavidin-HRP* ke well plate sampel dan well standart.
5. Diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37 $^{\circ}$ C (well ditutup dengan sealer).
6. Sealer dibuka, dan well dicuci sebanyak 3 kali dengan wash buffer.

7. Ditambahkan 50 μ l *Substrate Solution A* ke masing-masing well, kemudian ditambah 50 μ l *Substrate Solution B*
8. Dinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C.
9. Ditambahkan 50 μ l *stop solution* ke masing-masing well (warna biru akan berubah menjadi kuning).
10. Ditentukan *Optical Density* (OD), dan dibaca dengan Elisa Reader pada panjang gelombang 450 nm, dalam 30 menit setelah penambahan *Stop Solution*.
11. Dibuat kurva standart (software *MS Excel curve fitting*).

4.7.9.2 Pengukuran Kadar TGF- β

Pemeriksaan kadar TGF- β dengan menggunakan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) karena memberikan pengukuran antigen atau antibodi yang baik secara kuantitatif. Pengukuran kadar TGF- β pada hewan coba menggunakan Rat TGF- β 1 ELISA Kit merek Elabscience (E-EL-R0084, *detection range*: 31.25 pg/ml - 2000 pg/ml, *sensitivity*: 18,75 pg/ml), dengan teknik *Sandwich Indirect* ELISA. Adapun prosedur kerja sebagai berikut:

1. Semua reagen, larutan standart disiapkan.
2. Disiapkan pengenceran standart dan wash buffer
 - Pengenceran standart (diencerkan 120 μ l *Standard Solution* ke dalam 120 μ l *Standard Diluent*).
 - Wash Buffer (diencerkan *Wash Buffer Concentrate* 15 ml ke dalam *deionized or distilled water* dan di tambahkan 300 ml. Gradien pengenceran yang direkomendasikan adalah sebagai berikut: 2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 0 pg/ml).
3. Ditambahkan 50 μ l standart ke masing-masing well plate.

4. Ditambahkan 40 μl sampel jaringan darah ke well plate dan 10 μl *antibody anti TGF- β 1*, kemudian tambahkan 50 μl *streptavidin-HRP* ke well plate sampel dan well standart.
5. Diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C (well ditutup dengan sealer).
6. Sealer dibuka, dan well dicuci sebanyak 3 kali dengan wash buffer.
7. Ditambahkan 50 μl *Substrate Solution A* ke masing-masing well, kemudian ditambah 50 μl *Substrate Solution B*.
8. Dinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C.
9. Ditambahkan 50 μl *stop solution* ke masing-masing well (warna biru akan berubah menjadi kuning).
10. Ditentukan *Optical Density* (OD), dan dibaca dengan Elisa Reader pada panjang gelombang 450 nm, dalam 30 menit setelah penambahan *Stop Solution*.
11. Dibuat kurva standart (software *MS Excel curve fitting*).

4.8. Analisis Data

Analisis data dimulai dengan melakukan *Shapiro-Wilk* untuk uji normalitas data. Pengujian ini digunakan untuk membuktikan normalitas data sebagai syarat uji parametrik atau non parametrik yang akan digunakan. Kriteria keputusan dilihat dari *p value*, yaitu nilai probabilitas kesalahan empiric pada nilai Sig. Data terdistribusi normal jika memenuhi kriteria *p value* > 0,05 sehingga dapat menggunakan uji parametrik. Jika nilai *p value* menunjukkan nilai yang lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ maka disimpulkan data tidak terdistribusi normal, sehingga tidak bisa menggunakan uji parametrik

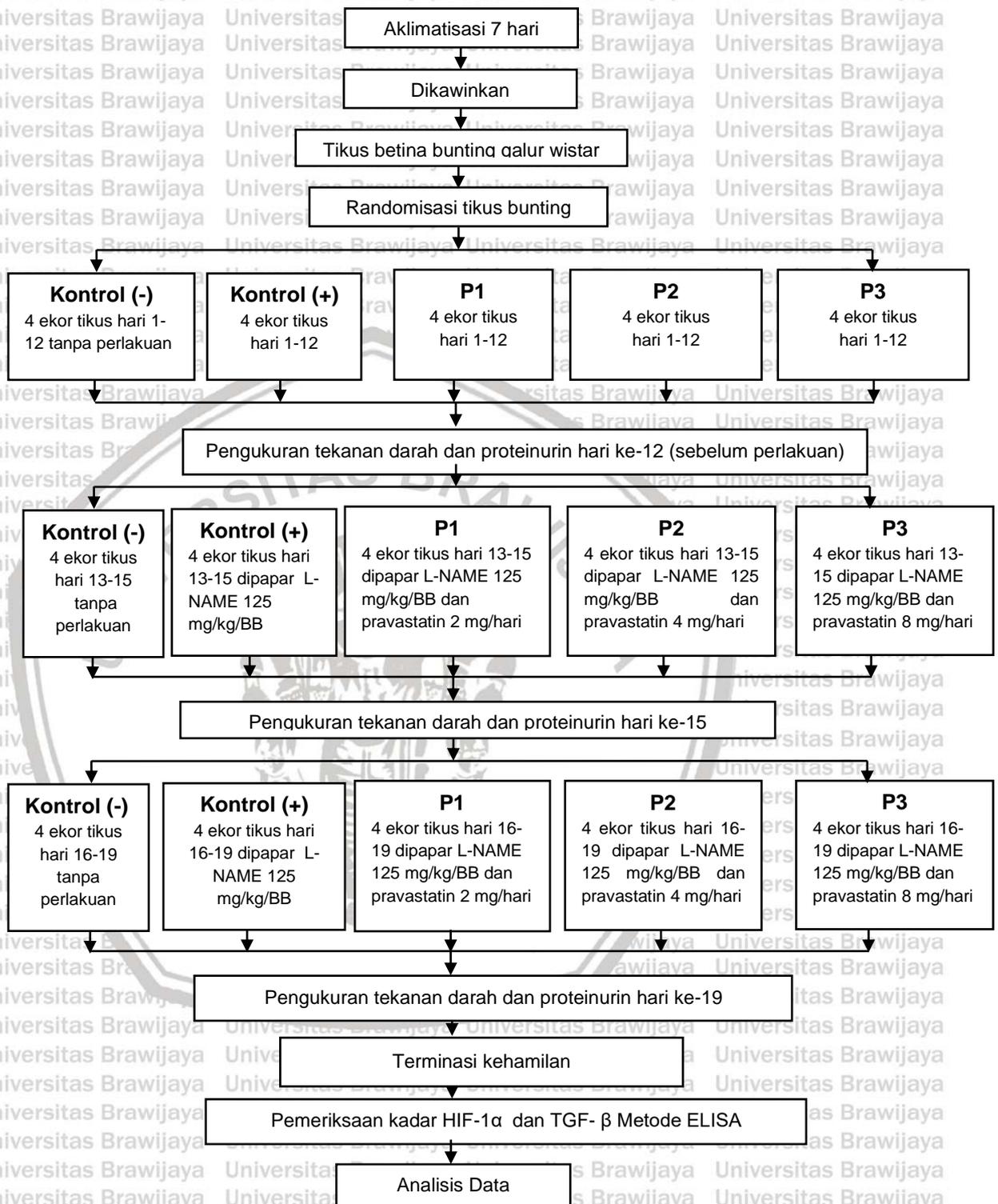
Jika berdistribusi normal, uji hipotesa menggunakan *One Way Anova* digunakan untuk mengetahui pengaruh variabel dan membandingkan rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dengan perlakuan. Jika tidak berdistribusi normal maka menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Jika hasil uji *Anova*

One Way didapatkan sig < 0,05 maka kesimpulan H_0 ditolak dan ada perbedaan yang bermakna (signifikan); kemudian analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (*Least Significant Difference/ LSD*). Uji *LSD* merupakan uji statistik yang digunakan untuk menemukan dosis berapa pada pravastatin yang mempunyai pengaruh paling bermakna terhadap kadar HIF-1 α dan TGF- β pada tikus *Rattus norvegicus* strain wistar model preeklampsia. Untuk melihat nilai pengaruh dari kedua variabel, menggunakan analisis korelasi. Variabel kadar HIF-1 α dan TGF- β berskala rasio dan variabel dosis pravastatin berskala ordinal sehingga menggunakan uji korelasi spearman.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



4.9. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Tikus Bunting Model Preeklampsia

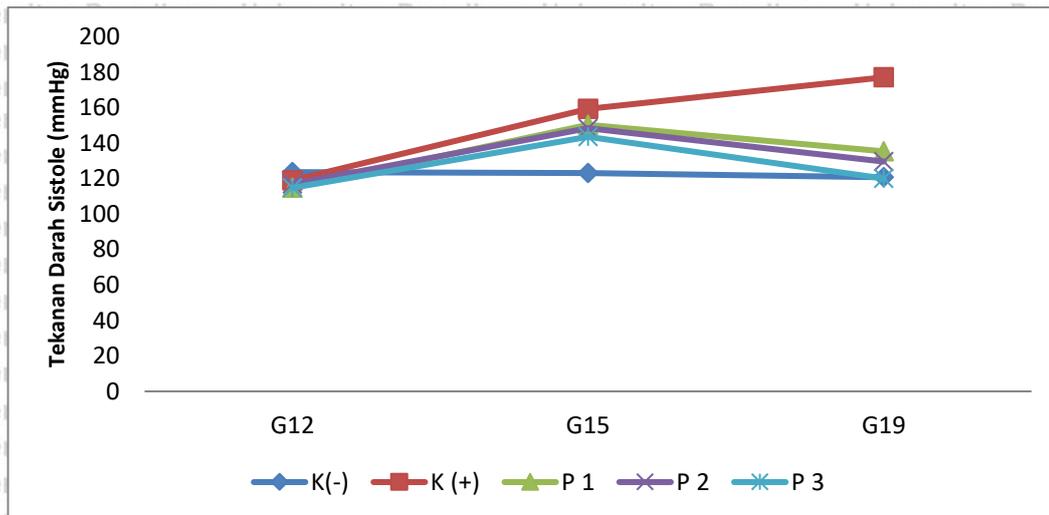
Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh pemberian pravastatin terhadap kadar HIF-1 α dan TGF- β pada tikus model preeklampsia, dengan jumlah sampel 27 ekor tikus bunting. Dari 27 ekor tikus bunting, ada 2 ekor masuk kriteria eksklusi, 5 ekor drop out sehingga ada 20 ekor tikus memenuhi kriteria inklusi yang dibagi menjadi 5 kelompok. L-NAME diberikan pada kelompok K(+), P1, P2, P3. Pravastatin diberikan pada kelompok P1, P2, P3. Berikut ini karakteristik sampel berdasarkan kriteria eksklusi dan *drop out*.

Tabel 5.1 Karakteristik Tikus Bunting Berdasarkan Kriteria Eksklusi dan Drop Out.

Kelompok	Kategori	Jumlah
Eksklusi	• Hipertensi	1
	• Melahirkan saat aklimatisasi	1
Drop Out	• Mati saat perlakuan	2
	• Melahirkan saat perlakuan	1
	• IUFD	2

Keterangan: Pemilihan sampel penelitian dengan mengeluarkan kategori di atas sehingga dari total 27 tikus bunting yang akan digunakan pada penelitian dipilih 20 sampel.

Untuk mengkonfirmasi tikus dalam kondisi preeklampsia dilakukan pengukuran tekanan darah dan pengecekan protein urin. Adapun gambaran tekanan darah sistolik dapat dilihat dalam grafik berikut:



Gambar 5.1 Karakteristik Tekanan Darah Sistolik Tikus Wistar Bunting Sebelum dan Sesudah diberikan L-NAME dan Pravastatin.

Keterangan: G12 merupakan usia kebuntingan tikus wistar sebelum diberikan L-NAME dan pravastatin, G15 dan G19 merupakan usia kebuntingan tikus wistar setelah diberikan L-NAME dan pravastatin.

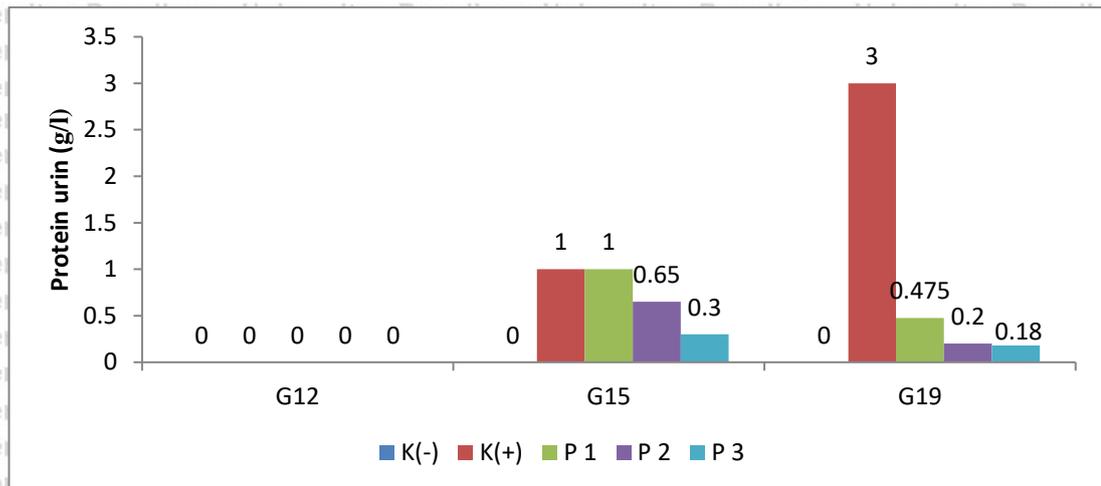
K(-) merupakan tikus bunting normal dan K(+) merupakan tikus bunting model preeklampsia (diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari). P1 merupakan tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 2 mg/hari, P2 adalah tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 4 mg/hari dan P3 tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 8 mg/hari. Hasil pengukuran rata-rata TD sistolik kelompok sampel menunjukkan nilai rerata TD sistolik kelompok kontrol negatif pada hari ke 13, 15, dan 19 kebuntingan secara berturut-turut adalah $123,67 \pm 2,91$ mmHg, $123,22 \pm 3,73$ mmHg, $120,78 \pm 7,46$ mmHg. Nilai rerata TD sistolik kelompok kontrol positif pada hari 12 kebuntingan adalah $119,08 \pm 10,70$ mmHg. Setelah diberikan injeksi L-NAME yang dimulai pada hari 13 kebuntingan, nilai rerata TD sistolik pada hari ke 15 meningkat ($159,32 \pm 18,87$ mmHg) dan semakin meningkat menjadi $177,14 \pm 23,91$ pada hari 19 kebuntingan.

Pada kelompok P1, nilai rerata tekanan darah sistolik pada hari 12 kebuntingan adalah $114,86 \pm 14,66$ mmHg. Setelah diberikan injeksi L-NAME dan

pravastatin dosis 2 mg/hari yang dimulai dari hari ke 13 kebuntingan, nilai rerata tekanan darah sistolik yang diukur pada hari ke 15 mengalami kenaikan ($150,36 \pm 6,53$ mmHg) dan cenderung menurun hari ke 19 kebuntingan ($135,36 \pm 3,74$ mmHg). Nilai rerata tekanan darah sistolik P2 pada hari 12 kebuntingan adalah $117 \pm 9,65$ mmHg. Setelah diberikan injeksi L-NAME dan pravastatin dosis 4 mg/hari dimulai dari hari ke 13 kebuntingan, nilai rerata tekanan darah sistolik yang diukur pada hari ke 15 mengalami kenaikan ($148,45 \pm 8,50$ mmHg) dan cenderung menurun ($129,68 \pm 6,785$ mmHg) saat hari ke 19 kebuntingan. Selanjutnya, nilai rerata tekanan darah sistolik P3 adalah $114,82 \pm 10,201$ mmHg pada hari 12 kebuntingan. Setelah diberikan injeksi L-NAME dan pravastatin dosis 8 mg/hari, nilai rerata tekanan darah sistolik mengalami kenaikan ($143,59 \pm 8,472$ mmHg) saat usia gestasi hari ke 15 dan cenderung menurun ($120,05 \pm 7,254$ mmHg) saat hari ke 19 kebuntingan.

Jadi, kelompok dengan tekanan darah sistolik tertinggi adalah kelompok kontrol positif pada hari ke 19 kebuntingan ($177,14 \pm 23,919$ mmHg). Sedangkan tekanan darah sistolik terendah ada pada kelompok kontrol negatif ($120,78 \pm 7,463$) dan juga kelompok P3 ($120,05 \pm 7,254$ mmHg) pada hari 19 kebuntingan. Nilai rerata tekanan darah sistolik K(+) yang diperiksa pada hari ke 15 terus mengalami peningkatan pada hari ke 19 kebuntingan, sedangkan kelompok P1, P2, dan P3 mengalami trend peningkatan TD sistolik pada hari ke 15 kebuntingan dan cenderung menurun pada hari 19 kebuntingan sesuai dosis pravastatin yang diberikan (Gambar 5.1).

Adapun gambaran hasil pengukuran protein urin dapat dilihat dalam grafik berikut:



Gambar 5.2 Karakteristik Kadar Protein Urin Tikus Wistar Bunting Sebelum dan Sesudah diberikan L-NAME dan Pravastatin.

Keterangan: G12 merupakan usia kehamilan tikus bunting sebelum diberikan perlakuan, G15 dan G19 merupakan usia kehamilan tikus bunting setelah diberikan perlakuan. Protein urin 0.3 gr/l setara dengan (+). Protein urin 1.0 gr/l setara (++), protein urin 3.0 gr/l setara (+++) dan protein urin >10 gr/l setara dengan (++++). (Cunningham *et al*, 2013).

Pada G12, kadar protein sebelum diberikan injeksi L-NAME pada semua kelompok sampel adalah 0 (tidak ada protein urine yang terdeteksi). Hari ke 13 kebuntingan mulai dilakukan injeksi L-NAME pada kelompok kontrol positif, dan juga P1, P2, dan P3 diberikan L-NAME+ parvastatin sampai hari ke 19. Saat dilakukan pengukuran protein urine pada hari ke 15 dan 19 kebuntingan, kelompok kontrol positif mengalami kenaikan kadar protein yaitu menjadi 1 gr/l pada G15 dan 3 gr/l pada G19.

Pada kelompok P1, kadar protein pada hari 15 kebuntingan meningkat menjadi 1 gr/l dan kemudian menurun menjadi 0,475 gr/l pada hari ke 19.

Kelompok P2 juga mengalami peningkatan kadar protein pada hari 15 kebuntingan menjadi 0,65 gr/l dan kemudian turun menjadi 0,2 gr/l pada hari ke 19. Sedangkan pada kelompok P3, kadar protein pada hari 15 kebuntingan hanya naik sebesar 0,3 gr/l dan turun menjadi 0,18 gr/l pada hari ke 19.

Jadi, rerata proteinurine meningkat pada kelompok yang diberi injeksi L-NAME 125mg/kgBB/hari. Kelompok P1, P2, dan P3 mengalami peningkatan

proteinurin pada hari ke 15 kebuntingan dan proteinurin cenderung menurun pada hari 19 kebuntingan sesuai dosis pravastatin yang diberikan, sedangkan proteinurin pada kontrol positif terus meningkat sampai hari ke 19 kebuntingan.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Hasil Uji Prasyarat Parametrik

Pada penelitian ini, variabel HIF-1 α dan TGF- β yang digunakan berskala data rasio, sehingga untuk membuktikan hipotesis penelitian harus dilakukan pendekatan analisis statistik. Analisis yang harus dilakukan sebagai uji syarat parametrik adalah data harus terdistribusi normal. Jika data ternyata tidak terdistribusi normal, maka bisa menggunakan analisis statistik non parametrik.

Untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak, dilakukan uji *Saphiro-Wilk*.

Data dikatakan terdistribusi normal hasil dari uji *Saphiro-Wilk* jika Sig > 0,05 dan data tidak terdistribusi normal jika *p-value* < 0,05. Berikut ini adalah hasil uji *Saphiro-Wilk* pada variabel HIF-1 α dan TGF- β :

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas Data

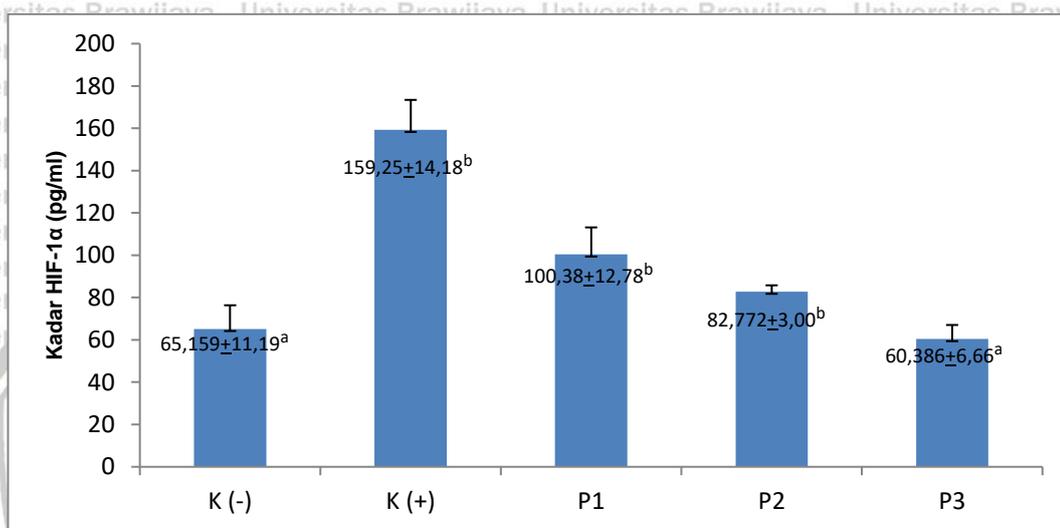
Kelompok Pengamatan	Sig		Distribusi
	HIF-1 α	TGF- β	
K (-)	0,097	0,373	Normal
K (+)	0,329	0,899	Normal
P 1	0,419	0,845	Normal
P 2	0,900	0,602	Normal
P 3	0,339	0,614	Normal

Keterangan: Data terdistribusi normal jika *p value* > 0,05, sedangkan data tidak terdistribusi normal jika *p value* < 0,05. Kontrol negatif merupakan tikus bunting normal dan kontrol positif merupakan tikus bunting model preeklampsia (diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari). P1 merupakan tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 2 mg/hari, P2 adalah tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 4 mg/hari dan P3 tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 8 mg/hari.

Data HIF-1 α dan TGF- β di semua kelompok sampel terdistribusi normal (*p value*>0,05). Karena semua data terdistribusi normal, maka dilanjutkan analisis data dengan menggunakan uji parametrik.

5.2.2 Hasil Uji Kadar HIF-1 α

Hasil uji homogenitas yang dilakukan pada kadar HIF-1 α adalah p -value>0,05 (data homogen). Berdasarkan hasil uji *one way Anova* pada kadar HIF-1 α , ada perbedaan nilai rerata HIF-1 α pada semua kelompok sampel penelitian secara signifikan (p value=0,000< α). Nilai rerata kadar HIF-1 α pada sampel penelitian dapat ditunjukkan pada histogram di bawah ini:



Gambar 5.3 Histogram rerata kadar HIF-1 α pada semua kelompok sampel setelah diberikan L-NAME dan pravastatin

Keterangan: Kontrol negatif merupakan tikus bunting normal dan kontrol positif merupakan tikus bunting model preeklampsia (diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari). P1 merupakan tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 2 mg/hari, P2 adalah tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 4 mg/hari dan P3 tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 8 mg/hari.

Nilai rerata kadar HIF-1 α pada kelompok kontrol positif (159,25±14,18 pg/ml) lebih besar dibandingkan dengan nilai rerata kadar HIF-1 α pada kelompok kontrol negatif (65,15±11,19 pg/ml). Pada uji *Multiple Comparison* dengan LSD (*Least Significant Difference*), diperoleh data bahwa ada perbedaan yang bermakna antara nilai rerata kadar HIF-1 α K (+) dan K (-) dengan p value=0,000< α .

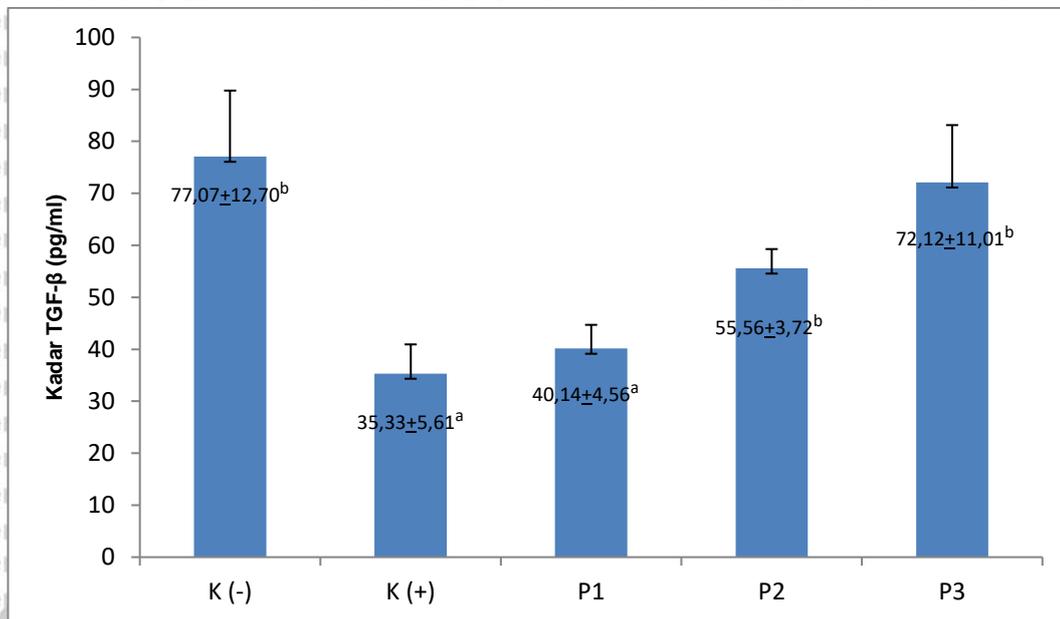
Nilai rerata kadar HIF-1 α pada kelompok P1 ($100,38 \pm 12,78$ pg/ml) terlihat menurun dibandingkan rerata kadar HIF-1 α kelompok kontrol positif ($159,25 \pm 14,18$ pg/ml) dan pada hasil uji LSD menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ($p=0,021 < \alpha$). Sedangkan untuk nilai rerata kelompok P2 adalah $82,77 \pm 3,004$ pg/ml, nilai ini lebih kecil dibandingkan dengan rerata kadar HIF-1 α pada kelompok P1. Pada kelompok P3 didapatkan nilai rerata $60,39 \pm 6,664$ pg/ml, cenderung semakin menurun daripada nilai rerata P1 dan P2, semakin mendekati nilai rerata kadar HIF-1 α pada K(-). Berdasarkan uji LSD juga menunjukkan bahwa rerata kadar HIF-1 α antara kelompok kontrol positif dengan kelompok P3 memiliki perbedaan signifikan dengan $p\text{ value}=0,000 < \alpha$.

Jadi, pemberian pravastatin pada tikus wistar bunting model preeklampsia memiliki pengaruh yang bermakna terhadap penurunan kadar HIF-1 α ($p\text{ value}=0,000 < \alpha$). Pada histogram tersebut dapat dilihat bahwa batang rerata kadar HIF-1 α tertinggi pada kelompok K(+) dan yang terendah pada batang rerata kadar HIF-1 α kelompok P3 dan K(-). Rerata kadar HIF-1 α tampak menurun pada kelompok P1, P2, P3 jika dibandingkan dengan kontrol positif. Kadar HIF-1 α tampak cenderung menurun seiring dengan peningkatan dosis pravastatin, dan secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna pada 3 macam dosis tersebut. Jadi, ada kecenderungan dosis pravastatin dalam menurunkan kadar HIF-1 α pada tikus model preeklampsia dengan dosis optimum 8mg/hari dengan $p\text{-value}=0,000$.

5.2.3 Hasil Uji Kadar TGF- β

Hasil uji homogenitas yang dilakukan pada kadar TGF- β adalah $p\text{-value} > 0,05$ (data homogen). Berdasarkan hasil uji *one way Anova* pada semua kelompok sampel untuk variabel TGF- β , diperoleh adanya perbedaan yang bermakna nilai rerata TGF- β pada semua kelompok sampel penelitian (p

$value=0,003<\alpha$). Nilai rerata kadar TGF- β pada sampel penelitian dapat ditunjukkan pada histogram di bawah ini:



Gambar 5.4 Histogram rerata kadar TGF- β pada semua kelompok sampel setelah diberikan L-NAME dan pravastatin

Keterangan: Kontrol negatif merupakan tikus bunting normal dan kontrol positif merupakan tikus bunting model preeklampsia (diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari). P1 merupakan tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 2 mg/hari, P2 adalah tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 4 mg/hari dan P3 tikus bunting yang diberikan L-NAME 125mg/kgBB/hari + pravastatin dosis 8 mg/hari.

Nilai rerata kadar TGF- β pada kelompok kontrol positif ($35,33\pm 5,61$) lebih rendah daripada nilai rerata kadar TGF- β pada kelompok kontrol negatif ($77,07\pm 12,70$). Pada uji *Multiple Comparison* dengan LSD (*Least Significant Difference*), diperoleh data bahwa ada perbedaan signifikan antara nilai rerata kadar TGF- β kelompok kontrol positif dengan kontrol negatif yaitu $p=0,000<\alpha$.

Nilai rerata kadar TGF- β pada kontrol positif ($35,33\pm 5,61$ pg/ml) lebih rendah daripada rerata kadar TGF- β pada kelompok P1 ($40,14\pm 4,56$ pg/ml), namun tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\ value=0,428>\alpha$). Nilai rerata kelompok P2 ($55,56\pm 3,72$ pg/ml) lebih besar daripada nilai rerata kadar TGF- β pada kelompok

K(+) dan P1. Hasil LSD menunjukkan bahwa nilai rerata P2 memiliki perbedaan yang bermakna dengan kontrol positif ($p \text{ value}=0,024$). Nilai rerata kadar TGF- β kelompok P3 ($72,12 \pm 11,01 \text{ pg/ml}$) jika dibandingkan dengan kelompok K(+) memiliki perbedaan yang bermakna ($p \text{ value}=0,000$). P3 dan P2 menunjukkan ada perbedaan signifikan terhadap rerata kadar TGF- β pada kontrol positif ($p \text{ value}<\alpha$), sedangkan kelompok P3 tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan rerata kelompok kontrol negatif ($p=0,415>\alpha$).

Jadi, pemberian pravastatin pada tikus wistar bunting model preeklampsia ada pengaruh yang signifikan dalam meningkatkan kadar TGF- β ($p \text{ value}<\alpha$). Rerata kadar TGF- β pada kelompok P1, P2, P3 lebih besar daripada kelompok kontrol positif. Kadar TGF- β tampak cenderung meningkat seiring dengan peningkatan dosis pravastatin, namun secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna pada pada kelompok P3 dan P2 dibandingkan dengan (K+) dan P1. Jadi, ada kecenderungan (tren positif) pada dosis pravastatin dalam menaikkan kadar TGF- β pada tikus model preeklampsia dengan dosis optimum 8mg/hari.

5.2.4 Hasil Uji Korelasi

Berdasarkan hasil analisa data variabel HIF-1 α dan variabel TGF- β dengan dosis pravastatin dari 2 mg/hari, 4 mg/hari dan 8 mg/hari menggunakan uji korelasi spearman, didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil uji korelasi

Variabel yang dihubungkan	Koefisien korelasi	Arti	Sig
Dosis terhadap kadar HIF-1 α	-0,917*	Kuat berlawanan	0,000
Dosis terhadap kadar TGF- β	0,798*	Kuat searah	0,003

Keterangan: Tanda (*) merupakan koefisien korelasi bernilai signifikan sebesar 0,01.

Tabel 5.3 menunjukkan adanya korelasi bermakna antara dosis pravastatin terhadap kadar HIF-1 α dengan keeratan hubungan -0,917 dan p

$value=0,000$. Hal ini menandakan semakin besar dosis pravastatin maka kadar HIF-1 α cenderung semakin menurun. Pemberian dosis pravastatin terhadap kadar TGF- β menunjukkan adanya hubungan yang bermakna dengan koefisien korelasi 0,798 dan $p\ value=0,003$. Hal ini menunjukkan adanya hubungan kuat yang searah yaitu semakin besar dosis pravastatin maka kadar TGF- β juga semakin meningkat.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Tekanan Darah dan Protein Urin Tikus Wistar Model Preeklampsia

Penelitian ini membuat tikus bunting model preeklampsia dengan menggunakan tikus bunting yang telah dikawinkan sebelumnya, lalu diinjeksi L-NAME dengan dosis 125mg/kgBB pada hari ke 13 sampai hari ke 19 kebuntingan (Rahardjo *et al*, 2020). Kontrol negatif diberikan injeksi PBS 0,2 cc/hari dimulai dari hari ke 13 sampai 19 kebuntingan, sedangkan kontrol positif, P1, P2, dan P3 diberikan injeksi L-NAME 125mg/kgBB/hari pada hari 13 sampai 19 kebuntingan. Hasilnya kelompok kontrol negatif tidak mengalami peningkatan tekanan darah, kontrol positif dan semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan tekanan darah sistolik yaitu tekanan darah >140/90 mmHg pada hari ke 15, dan pada kelompok kontrol positif mengalami peningkatan tekanan darah sampai hari ke 19 kebuntingan. Tekanan darah sistolik pada P1, P2 dan P3 cenderung menurun pada pemeriksaan hari ke 19 kebuntingan.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuat tikus bunting model preeklampsia dengan menggunakan L-NAME. Keberhasilan pemberian L-NAME dalam membuat model preeklampsia diduga berdasar waktu, dosis dan cara pemberian. Dosis 125 mg/kgBB/hari yang diberikan pada tikus bunting saat usia gestasi >12 hari diharapkan menurunkan angka reabsorpsi janin karena usia gestasi >12 hari sudah melewati masa plasentasi. Penelitian ini menggunakan L-NAME dosis 125mg/kgBB/hari yang diadopsi dari penelitian Shu *et al* (2018) yang membuktikan bahwa dosis 125mg/kgBB/hari meningkatkan tekanan darah secara optimum. Adanya peningkatan tekanan darah kontrol positif pada hari ke

15 dan 19 kebuntingan dalam penelitian ini menunjukkan keberhasilan L-NAME 125mg/kgBB/hari dalam pembuatan tikus bunting model preeklampsia.

Kondisi preeklampsia erat kaitannya dengan stres oksidatif, respon inflamasi yang meningkat sehingga memicu disfungsi endotel dan mempengaruhi regulasi aliran darah pada kehamilan. Terjadinya vasokonstriksi sebagai kompensasi dari adanya disfungsi endotel pada kehamilan dengan preeklampsia menyebabkan peningkatan tekanan darah (Arate *et al*, 2014; Ortega *et al*, 2019).

Disfungsi endotel adalah salah satu manifestasi awal terjadinya hipertensi dalam kehamilan. *Nitric oxide* (NO), mediator gas terlarut, memiliki berbagai fungsi fisiologis termasuk pemeliharaan homeostasis vaskular dan modulasi tonus vaskular. Selama kehamilan, NO yang diproduksi oleh eNOS (*endothelial NO synthase*) dan iNOS (*inducible NO synthase*) mengatur perkembangan embrio, implantasi, invasi trofoblas, perkembangan dan fungsi vaskular plasenta. Pada kondisi preeklampsia, terjadi peningkatan ROS yang dapat menyebabkan eNOS terhambat untuk memproduksi NO, sehingga terjadi disfungsi endotel (McElwain *et al*, 2020). Penyebab utama peningkatan tekanan darah pada kehamilan dengan hipertensi adalah kurangnya NO yang berfungsi sebagai vasodilator. Konsentrasi NO pada plasenta preeklampsia lebih rendah hampir setengah daripada wanita hamil normal (Aranguren, 2014). Sebagaimana diketahui bahwa pravastatin memperbaiki fungsi endotel dengan mengatur ulang *Nitric Oxide sintase* dengan menghambat HMG-CoA (*3-Hydroxy-3-Methylglutaryl coenzyme A*) *reductase* secara kompetitif dan reversibel sehingga menghambat ekspresi endothelin-1 (ET-1), mengurangi ekspresi reseptor angiotensin II tipe 1 (AT-1) dan efek vasokonstriktor angiotensin II (AT-II) sehingga meningkatkan vasorelaksasi (Wells *et al*, 2017; Putra *et al*, 2018; Pánczél *et al*, 2019).

Proteinurin merupakan salah satu gejala klinis kondisi preeklampsia selain adanya hipertensi dan gejala klinis lainnya (Cunningham, 2013). Pada

kehamilan normal, ekskresi protein urin meningkat dibandingkan dari sebelum hamil dan mencapai 200 hingga 260 mg per hari pada trimester ketiga namun semua molekul protein yang difiltrasi glomerulus hampir 96 % kembali diserap pada proksimal tubulus melalui endositosis (Toblii *et al*, 2012). Lapisan endotel glomerulus memiliki lapisan permukaan yang dinamakan glikokaliks yang berfungsi mencegah kebocoran protein. Lapisan ini juga banyak mengandung VEGF dan TGF- β yang dihasilkan oleh sel podosit pada lapisan visceral. Pada preeklampsia, peningkatan serum konsentrasi sFlt-1 dan sEng yang menyebabkan penurunan konsentrasi VEGF, TGF- β menyebabkan ketidakseimbangan angiogenik sehingga kesehatan sel endotel terganggu dan menyebabkan kerusakan sel podosit glomerulus (Bartal *et al*, 2020).

Adanya disfungsi sel endotel pada preeklampsia menyebabkan permeabilitas vaskular meningkat. Organ ginjal mengalami perubahan penurunan pada aliran darah akibat dari hipovolemik, sehingga timbul kerusakan sel glomerulus yang menjadikan permeabilitas membran basalis meningkat dan terjadi kebocoran yang menimbulkan proteinuria. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini sesuai dengan teori yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa pemberian L-NAME terbukti dapat menginduksi preeklampsia karena menyebabkan hipertensi jangka panjang, proteinuria, dan gejala lainnya yang mirip preeklampsia (Zhu *et al.*, 2016; Amaral *et al.*, 2017).

Pemberian pravastatin dapat menghambat produksi berlebih sFlt-1 dan sEng, sehingga menurunkan kemungkinan terjadinya disfungsi endotel pada jaringan primer manusia (Brownfoot *et al*, 2015). Pravastatin juga dapat menstabilkan tekanan darah, proteinuria, dan kadar asam urat serum (Lefkou *et al*, 2016). Penelitian Mesens *et al* (2014) menemukan bahwa proteinuria ditemukan lebih tinggi pada *early onset* daripada *late onset* preeklampsia, sedangkan penelitian ini menemukan bahwa proteinuria pada kelompok

perlakuan P1, P2, P3 ditemukan lebih tinggi pada saat hari ke 15 kebuntingan dan cenderung menurun pada hari ke 19 kebuntingan.

6.2 Pengaruh Pemberian Pravastatin terhadap Kadar HIF-1 α pada Tikus Wistar Model Preeklampsia

Dalam beberapa penelitian, model tikus yang diberikan L-NAME mensimulasikan kondisi kehamilan dengan preeklampsia. Pemberian L-NAME menyebabkan gangguan pensinyalan di semua arteri, sehingga penurunan konsentrasi NO di plasma darah pada kehamilan dapat menyebabkan menyebabkan munculnya manifestasi tertentu menyerupai preeklampsia. (Zhu *et al*, 2016; Shu *et al*, 2018).

Penghambatan sintesis NO berkontribusi menyebabkan stres oksidatif pada jaringan vaskular yang ditandai dengan peningkatan ROS. Penurunan kadar NO akan menyebabkan akumulasi dari ekspresi HIF-1 α (Cattaneo *et al*, 2011). Peningkatan HIF-1 α meningkatkan produksi sFlt-1 dan sEng. Produksi berlebihan dari sEng menghambat TGF- β di pembuluh darah, penghambatan TGF- β akan menghambat proses proliferasi dari sel endotel, angiogenesis, dan struktur dari pembuluh darah. Kondisi tersebut menyebabkan disfungsi endotel, sebagaimana diketahui disfungsi endotel merupakan salah satu penyebab awal terjadinya preeklampsia. Peningkatan HIF-1 α sistemik juga akan menyebabkan reaksi inflamasi yang berlebihan (Zarate *et al*, 2014; Owusu, 2018; Adebambo, 2018; McElwain *et al*, 2020).

Kontrol positif yang mengalami peningkatan tekanan darah sistolik juga diikuti dengan peningkatan kadar HIF-1 α . Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Kaya *et al* (2011) dan Albers *et al* (2019) bahwa tikus bunting pada kondisi preeklampsia memiliki tekanan darah sistolik dan diastolik yang meningkat (hipertensi), diikuti oleh perubahan kadar HIF-1 α yang juga meningkat secara signifikan. Beberapa penelitian sebelumnya juga membuktikan

bahwa kadar HIF-1 α pada kehamilan preeklampsia lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal, dan HIF-1 α memainkan peran dalam patogenesis preeklampsia (Tal, 2012; Akhilesh *et al.*, 2013; Bobek *et al.*, 2015; Juarsa *et al.*, 2016; Robb *et al.* 2017). Pada penelitian yang dilakukan pada manusia, kadar serum HIF-1 α ibu hamil preeklampsia lebih tinggi daripada kelompok hamil kontrol. Kadar HIF-1 α pada kelompok *late onset* preeklampsia lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok *early onset* dengan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) (Sriyanti *et al.*, 2019; Perdana *et al.*, 2021).

Penelitian ini menggunakan L-NAME yang diberikan selama 7 hari pada kelompok kontrol positif, P1, P2, P3 dan pemeriksaan menggunakan serum darah yang diambil dari jantung. Penelitian yang dilakukan oleh Wanandi *et al.* (2010) pada 25 ekor tikus menunjukkan bahwa ekspresi HIF-1 α selama hipoksia meningkat secara nyata dibandingkan normoksia. Peningkatan ekspresi relatif HIF-1 α mencapai maksimum pada induksi hipoksia sistemik hari ke 7 pada jantung, hari ke 14 pada otak, dan ekspresi HIF-1 α pada sel leukosit tetap intensif dipertahankan sampai hari ke 21 walaupun ekspresinya telah mencapai tingkat yang sangat tinggi. Hal ini disebabkan hambatan degradasi proteasom pada sel darah untuk stabilisasi protein lebih lambat dibandingkan dengan jantung dan otak untuk beradaptasi pada induksi hipoksia sistemik, sehingga pemeriksaan pada darah untuk mempresentasikan kadar HIF-1 α juga bisa dilakukan. Jadi, HIF-1 α sebagai penanda hipoksia memiliki sensitivitas dan kapasitas yang berbeda pada jaringan jantung, otak dan darah, berkaitan dengan kepentingan homeostasis oksigen pada jaringan tersebut.

Semakin besar dosis pravastatin yang diberikan, level serum HIF-1 α yang ditemukan semakin rendah. Pravastatin dosis 8 mg/hari mampu memperbaiki secara optimal kondisi hipoksia pada tikus model preeklampsia yang diberikan L-NAME dosis 125mg/kgBB/hari. Pravastatin bekerja

menghambat jalur sintesis kolesterol *3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) reductase* sehingga enzim *Heme Oxygenase-1 (HMOx-1)* tidak terhambat.

HMOx-1 diketahui berperan dalam katabolisme karbon monoksida (CO) dan mengaktivasi eNOS untuk memproduksi NO. CO sebagai vasodilator kuat dapat membantu menjaga keseimbangan angiogenik dengan menekan ekspresi faktor antiangiogenik (Girardi, 2017).

Penelitian Hendrickson&Poyton (2015) yang menyatakan bahwa ada derajat tinggi *crosstalk* (hubungan timbal balik) antara pensinyalan HIF-1 α dan NO. Banyak respons seluler terhadap NO dimediasi oleh HIF-1 α dan juga sebaliknya, NO juga diketahui dapat mempengaruhi kadar HIF-1 α melalui jalur pensinyalan *Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K)* dan *Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK)*. Selain itu, Dunn *et al* (2021) juga menunjukkan bahwa *Heme Oxygenase-1 (Hmox-1)* berkerja dengan baik di hilir dan hulu HIF-1 α , dan stabilisasi HIF-1 berkontribusi pada perlindungan Hmox-1 terhadap cedera iskemik. Studi mekanistik yang dilakukan menunjukkan bahwa karbon monoksida (CO) dalam fibroblas Hmox-1 menstabilkan HIF-1 α sebagai respons terhadap hipoksia, sedangkan Hmox1 juga merupakan target hilir dari faktor transkripsi HIF-1 α .

6.3 Pengaruh Pemberian Pravastatin Berbagai Dosis terhadap Kadar TGF- β pada Tikus Wistar Model Preeklampsia

Pada penelitian ini, kadar TGF- β tikus bunting model preeklampsia ditemukan lebih rendah daripada tikus bunting normal, hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menjelaskan bahwa kadar TGF- β ditemukan menurun pada preeklampsia (Yusrawati *et al*, 2017). Hasil penelitian yang juga dilakukan oleh Dyka (2016) terhadap 25 ibu preeklampsia dan 25 ibu hamil normal dengan menggunakan metode ELISA didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar serum TGF- β pada kehamilan dengan preeklampsia

dengan kehamilan normal, yaitu rerata kadar serum TGF- β pada kelompok kehamilan preeklampsia lebih rendah daripada kadar serum pada kelompok kehamilan normal.

Pada kelompok yang diberikan pravastatin mengalami peningkatan kadar TGF- β . Pada kondisi preeklampsia, terjadi gangguan pada Hmox-1 dan Cth yang menyebabkan penghantaran sinyal ke molekul (CO dan H₂S juga terhambat) sehingga terjadi peningkatan faktor antiangiogenik sFlt-1 dan sEng yang mengakibatkan penurunan produksi PlGF, VEGF dan TGF- β dan terjadi ketidakseimbangan angiogenik. Pravastatin memungkinkan untuk mengembalikan keseimbangan angiogenik dengan adanya aktivitas Hmox-1 sehingga menekan faktor antiangiogenik tersebut (Ahmed&Ramma, 2015).

Pravastatin bekerja dengan meningkatkan Hmox-1 yaitu enzim yang berperan dalam katabolisme karbon monoksida (CO), dan merupakan vasodilator kuat untuk membantu menjaga keseimbangan angiogenik dengan menekan ekspresi sFLT-1 dan sENG serta meningkatkan kadar *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) dan *Endothelial NOS* (eNOS) (Putra *et al.*, 2018; Majewska *et al.*, 2018).

Pensinyalan molekul TGF- β berkaitan dengan nitrit oksida pada sindroma preeklampsia melalui jalur SMAD (Brownfoot *et al.*, 2016; Aisyah, 2019). Hal ini sesuai teori bahwa pravastatin mengembalikan ketidakseimbangan angiogenik, peningkatan fungsi endotel dan pencegahan cedera akibat oksidasi dan peradangan (Brownfoot *et al.*, 2015; Tsur *et al.*, 2019; Smith, 2020).

Pada kelompok kontrol positif (yang diberikan L-NAME) ditemukan angka fetal absorpsi yang meningkat pada kelompok kontrol positif. L-NAME melintasi barrier plasenta, mempengaruhi sintesis NO, dapat menginduksi stres oksidatif dan peningkatan ROS sehingga L-NAME menyebabkan kematian sel pada tubuh janin, *dead conceptus*, perdarahan pada tikus bunting dan cacat pada janin tikus dan kematian janin tikus (Talebianpoor *et al.*, 2018). Adanya peran inhibitor

sintesis oksida nitrat pada L-NAME dapat menyebabkan pertumbuhan janin tikus bunting terhambat, yaitu adanya apoptosis sehingga mengurangi proliferasi sel, berat badan janin yang kurang, dan juga menyebabkan nekrosis hemoragik pada tungkai belakang janin (Kaya *et al*, 2011).

Kejadian fetal reabsorpsi pada kelompok yang diberikan L-NAME dan pravastatin dosis 8 mg/hari lebih rendah daripada kelompok kontrol positif (yang diberikan L+NAME saja). Hal ini sesuai dengan penelitian yang menunjukkan bahwa pravastatin dapat meningkatkan kelangsungan hidup janin pada tikus

yang mengalami defisiensi parsial heme oxygenase-1 dengan diinduksi L-NAME (Tsur *et al*, 2019). Selaras dengan penelitian ini, Jurisic *et al* (2021) menjelaskan tentang keberhasilan manajemen perawatan pada 10 pasien hamil dengan disfungsi vaskular uteroplasenta yang merupakan ibu hamil berisiko tinggi.

Pemberian pravastatin 40 mg yang dikombinasikan dengan L-arginine 1,5 g terbukti mencegah komplikasi neonatus yang berhubungan dengan prematuritas.

6.4 Kendala dan keterbatasan penelitian

Kendala selama penelitian adalah proses pembuntingan tikus membutuhkan waktu yang cukup lama dan belum ada parameter identifikasi kebuntingan secara pasti. Ada beberapa tikus yang drop out selama penelitian.

Keterbatasan penelitian adalah tidak meneliti pemberian pravastatin terhadap kontrol negatif, dan pemeriksaan kadar HIF-1 α dan TGF- β dilakukan dengan menggunakan serum darah diambil pada jantung saja.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian pravastatin dapat menurunkan kadar HIF-1 α secara signifikan pada tikus wistar bunting model preeklampsia.
2. Pemberian pravastatin dapat meningkatkan kadar TGF- β secara signifikan pada tikus wistar bunting model preeklampsia.

7.2 Saran

1. Penelitian dapat dilanjutkan dengan meneliti pengaruh pemberian dosis L-NAME dan dosis pravastatin terhadap jumlah janin, berat badan janin dan tingkat kecacatan janin.
2. Penelitian dapat dilanjutkan dengan membandingkan kadar HIF-1 α dan TGF- β dari jaringan plasenta dengan kadar HIF-1 α dan TGF- β sistemik.
3. Perlu adanya pemeriksaan kadar kolesterol LDL pada ibu hamil sebelum dan sesudah diberikan pravastatin dosis 2 mg, 4 mg dan 8 mg.

DAFTAR PUSTAKA

Abalos, E., Cuesta, C., Grosso, A L., et al., 2013. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*.
<https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.05.005>.

Abdellaoui, T., Bouaya, G., Elkhoyaali, A., et al., 2018. Bilateral Serous Retinal Detachment complicating Preeclampsia. *Indian Journal of Medical Specialities*, 2018; 36-39.

ACOG (American College Obstetricians and Gynecologists), 2019. Bulletin ACOG Practice: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2019 Jan;133(1):e1-e25. doi: 10.1097/AOG.0000000000003018.

Adebambo, O.A., Rebecca D.S., Fry.C., 2018. Cadmium disrupts signaling of the hypoxia-inducible (HIF) and transforming growth factor (TGF- β) pathways in placental JEG-3 trophoblast cells via reactive oxygen species. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Vol. 342, 1 March 2018, Pages 108-115. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.01.010>

Adhi, P., Johanes M.C., Anita A.D., 2015. Patogenesis Preeklampsia & Manifestasi Gejala Klinis dalam Kehamilan Risiko Tinggi Perkembangan, Implikasi & Kontroversi. Sagung Seto.143-164.

Ahmed, A., Ramma, W., 2011. Is inflammation the cause of pre-eclampsia?, 1619-1627.

Ahmed, A., Ramma, W., 2015. Unravelling the theories of pre-eclampsia: are the protective pathways the new paradigm?. *British Journal of Pharmacology*. DOI:10.1111/bph.12977 www.brjpharmacol.org

Aisyah, R., Wahyu, S. J., 2019. Jalur Sinyal TGF- β Berperan Dalam Self Renewal, Diferensiasi, Dan Proliferasi stem Cell. *Jurnal Saintika Medika* Vol. 15 No. 1 Juni 2019. p-ISSN : 0216-759X e-ISSN:2614-X476X.

Akbarian, F., Shafiee, M., 2011. Approach to Proteinuria in Adults and Elderly. *Journal of Current Clinical Care* May/June 2011. Page 46-56

Akhilesh, M., Mahalingam, V., Nalliah, S., et al., 2013. Hypoxia-inducible factor-1 α as a predictive marker in pre-eclampsia. *Biomedical reports*. Pages 257-258. <https://doi.org/10.3892/br.2012.44>

Akhilesh, M., Mahalingam, V., Nalliah, S., *et al.*, 2014. Participation of hypoxia-inducible factor-1 α in the pathogenesis of preeclampsia-related placental ischemia and its potential as a marker for preeclampsia. *Sciencedirect. Biomarkers and genomic Medicine*. (2014) **6**; 121-126.

Albers, R.E., Kaufman, M.R., Natale, B.V. *et al.*, 2019. Trophoblast-Specific Expression of Hif-1 α Results in Preeclampsia-Like Symptoms and Fetal Growth Restriction. *Scientific Reports* volume **9**, Article number: 2742.

Ali SMJ, Khalil RA., 2015. Genetic, immune and vasoactive factors in the vascular dysfunction associated with hypertension in pregnancy. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. Agustus. 19 (9) : 1-17

Alwis, N., Bearda, S., Mangwiroa, Y.T., *et al.*, 2020. Pravastatin As The Statin Of Choice For Reducing Pre-Eclampsia-Associated Endothelial Dysfunction. *Pregnancy Hypertension* **20** (2020) 83–91.

Amaral LM, Wallace K, Owens M, *et al.*, 2017., Pathophysiology and current clinical management of preeclampsia. *Curr Hypertens Rep*. 2017; 19 (**8**) : 61

Amaral, T A S., Ognibene, D T., Carvalho, L C., *et al.* 2017. Differential responses of mesenteric arterial bed to vasoactive substances in L-NAME-induced preeclampsia: Role of oxidative stress and endothelial dysfunction. ISSN: 1064-1963 (Print) 1525-6006. <https://doi.org/10.1080/10641963.2017.1339073>.

Anggraini, N.W.P., Sulistyowati, S., Pramono, B.A., *et al.*, 2020. Effect of L-Arginin on Placental Hipoxia Inducible Factor-1-Alpha (HIF-1-A) Expression at Preeclampsia Mice Models. *Indonesian Journal of Medicine* (2020), 05(**03**) : 191-199 Masters Program in Public Health, Universitas Sebelas Maret.

Anne, C.S., Samantha, B., Peter, D., *et al.*, 2013. Redefining Preeclampsia Using Placenta - Derived Biomarkers. *Hypertension*. **61**: 932-942.

Aranguren, L.S., Prada, C.E., Medina, C.R.,*et al.*, 2014. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative. *Front Physiology*. 2014 Oct 10;**5**:372. doi: 10.3389/fphys.2014.00372. eCollection 2014.stres.

Arate, A.Z., Saucedo, R., Valencia, J., *et al.*, 2014. Early Disturbed Placental Ischemia and Hypoxia Creates Immune Alteration and Vascular Disorder Causing Preeclampsia. *Sciencedirect. Archives of Medical Research*. Volume **45**, Issue 7, October 2014, Pages 519-524. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.10.003>.

Araujo AJS., Santos ACV., Souza KS., *et al.* 2013., Resistance training controls arterial blood pressure in rats with L-NAME-induced hypertension. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2013;100(4):339-346. DOI: 10.5935/abc.20130051

Aryandhito, W. N., 2017. *Obstetri Patologi : Ilmu kesehatan Reproduksi*, ed 3. Fakultas kedokteran Universitas Padjajaran.

Bartal, M.F., Lindheimer, M.D., Sibai, B.M., 2020. Proteinuria during pregnancy: definition, pathophysiology, methodology, and clinical significance. *MONTH 2020 American Journal of Obstetrics & Gynecology*. Published by Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.08.108>

Bartels, Anne., O'Donoghue, Keelin., 2011. Cholesterol in pregnancy: a review of knowns and unknowns. *Obstet Med*. 2011 Dec; 4(4): 147–151. doi: 10.1258/om.2011.110003. PMID: 27579113. PMCID: PMC4989641.

Blank , U., Karlsson, S., 2015. TGF- β signaling in the control of hematopoietic stem cells. *Blood* , 3542-3552.

Bobek, G., Surmon, L., Mirabito, K. M., Makris, A., and Hennessy, A. 2015. Placental regulation of inflammation and hypoxia after TNF- α infusion in mice. *Am. J. Reprod. Immunol*. 74, 407–418. doi: 10.1111/aji.12417

Bonsaffoh, A.K., Antwi, D., Obed, S., *et al.*, 2015. Nitric oxide dysregulation in the pathogenesis of preeclampsia among Ghanaian women. *Integrated Blood Pressure Control*, 8: 1–6.

Brennan, L.J., Morton, J.S., Davidge, S.T., 2014. Vascular dysfunction in preeclampsia. *Microcirculation*. 2014 Jan;21(1):4-14. doi: 10.1111/micc.12079. PMID: 23890192. DOI: 10.1111/micc.12079.

Brennan, L.J., Morton, J.S., Quon, A., *et al.*, 2016. Postpartum Vascular Dysfunction in the Reduced Uteroplacental Perfusion Model of Preeclampsia. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162487>.

Brownfoot, F.C., Tong, S., Hannan, N., *et al.*, 2015. Effects of Pravastatin on Human Placenta, Endothelium, and Women With Severe Preeclampsia. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05445> Hypertension. 2015;66:687–697.

Brownfoot, F.C., Tong, S., Hannan, N., *et al.*, 2016. Effects of simvastatin, rosuvastatin and pravastatin on soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) and soluble endoglin (sENG) secretion from human umbilical vein

- endothelial cells, primary trophoblast cells and placenta. *BMC Pregnancy and Childbirth* **16**, Article number: 117.
- Brown, C.M., Garovic, V.D., 2014. Drug Treatment of Hypertension in Pregnancy. *Drugs*, **74** (3), 283–296.
- Brown, M.A., Magee, L.A., Kenny, L.C., et al., 2018. Hypertensive Disorders of Pregnancy ISSHP Classification, Diagnosis, and Management Recommendations for International Practice. *Hypertension*. 2018;72:24-43. DOI: 10.1161.
- Burke, S.A., 2013. Spiral Artery Remodelling in Preeclampsia Revisited ; 62p 1013-1014.
- Burton, G.J., Redman, C.W., Roberts, J.M., et al., 2019. Pre-eclampsia: Pathophysiology and Clinical Implications. *BMJ* 366: 12381. doi: 10.1136/bmj.12381.
- Cattaneo, M.G., Cappellini, E., Benfante, R., 2011. Chronic Deficiency of Nitric Oxide Affects Hypoxia Inducible Factor-1 α (HIF-1 α) Stability and Migration in Human Endothelial Cells. *PLOS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029680>
- Chaiworapongsa, T., Chaemsaihong, P., Yeo, L., et al., 2014. Pre-eclampsia Part 1: Current Understanding of Its Pathophysiology, *Nat Rev Nephrol*, **10** (8): 466–480. doi:10.1038/nrneph.2014.102.
- Constantine, M.M., Cleary, K., 2013. Pravastatin for the Prevention of Preeclampsia in High-Risk Pregnant Women. *Obstet Gynecol*. 2013 Feb; 121 (2 0 1): <http://10.1097/AOG.0b013e31827d8ad5>. PMID: PMC3880675. NIHMSID: NIHMS539499. PMID: 23344286.
- Constantine, M.M., Cleary, K., Hebert, M.F., et al. 2016. Safety and pharmacokinetics of pravastatin used for the prevention of preeclampsia in high-risk pregnant women: A pilot randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2016; 214: 720 e721–720 e717.
- Cornelius, D.C., 2018. Preeclampsia: From Inflammation to Immunoregulation. PMID: PMC5772493. PMID: 29371787. Published online 2018 Jan 10. doi:10.1177/1179545X17752325.
- Creasy., 2014. *Maternal Fetal medicine*. Principle and practice. Volume 7.756S.
- Cubro, H., Kashyap, S., Nath, M.C. et al., 2018. The Role of Interleukin-10 in the Pathophysiology of Preeclampsia. *Current Hypertension Reports*, 20(4).

Cunningham, F.G., Leveno, K.J., Bloom, S.L., et al., 2013. *Obstetri William* (Volume 2 Edisi 23). Jakarta: EGC.

Cunningham, Kenneth, L.J., Steven, B.L., 2014. *Hypertensive Disorders in William Obstetrics 24 th Edition. McGraw Hill Education. 762-768.*

De Francesco E.M., Pellegrino, M., Santolla, M.F., et al., 2014. GPER Mediates Activation of HIF1 α / VEGF Signaling by Estrogens. *Cancer Res.* 74: 4053–64. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3590 PMID: 24894716.

Dewanti, W.T., Wijayanti, N., Syafrilia, R.M., 2018. Anti Hipertensi Minuman Serbuk Instan Campuran Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn.) dan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada Tikus Hipertensi. *FOODSCITECH*, Vol.1, No.2. Desember 2018, hal. 11-25.

Dewi, I.P., Merry, M.S., 2017. Peranan Obat Golongan Statin. *Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana*, 2(3), hal.1.

Draganovic, D., Lucic, N., Jovic, D., 2016. Oxidative Stress Marker and Pregnancy Induced Hypertension. *Med Arch.* 2016 Dec; 70(6): 437–440. PMID: PMC5292228 PMID: 28210016. doi:10.5455/medarh.2016.70.437-440.

Dubey, S., Rani, J., 2020. Hepatic rupture in preeclampsia and HELLP syndrome: A catastrophic presentation. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* Volume 59, Issue 5, September 2020, Pages 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2020.07.003>.

Dunn, L.L., Y Kong, S.M., Tumanov, S. 2021. Hmox1 (Heme Oxygenase-1) Protects Against Ischemia-Mediated Injury via Stabilization of HIF-1 α (Hypoxia-Inducible Factor-1 α). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021 Jan; 41(1):317-330. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315393. PMID: 33207934

Dyka, Aidina, 2016. Perbedaan Rerata Kadar Transforming Growth Factor Beta 1 antara Preeklamsi dengan Hamil Normal. Masters thesis, UNIVERSITAS ANDALAS.

Ekambaram, P., 2011. HSP70 Expression and its Role in Preeclamptic Stres. *Indian J. Biochem. Biophys.* 48 : 243- 255.

English, F.A., Kenny, L.C., McCarthy, F.P., 2015. Risk factors and effective management of preeclampsia. *Integr Blood Press Control.* PMID:25767405. PMID:PMC4354613. DOI:10.2147/IBPC.S50641.

Everett, T.R., Wilkinson, I.B., 2014. The Nitric Oxide Pathway And Possible Therapeutic Options in Preeklampsia. *British Journal of Clinical*



Pharmacology. View Issue TOC. Vol. 78.issue 2. Page 244-257. DOI : 10.1111/bcp.12301.

Fraisl, Peter. 2013. Crosstalk between oxygen-and nitric oxide-dependent signaling pathways in angiogenesis. *Sciencedirect. EXPERIMENTAL CELL RESEARCH* 319 (2013) 1331–1339

Furuya, M., Kurasawa, K., Nagahama, K., *et al.*, 2011. Disrupted Balance of Angiogenic and Antiangiogenic Signalings in Preeclampsia. *Journal of Pregnancy*. Article ID123717|<https://doi.org/10.1155/2011/123717>.

Gaarenstroom, T., Hill, C. 2014. TGF- β signaling to chromatin: How Smads regulate transcription during self-renewal and differentiation. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 107-118.

Galbiati, S., Inversetti, A., Causarano, V., 2015. HIF1 α and MIF as potential predictive mRNA biomarkers of pre-eclampsia: a longitudinal prospective study in high risk population. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015 Aug;53(9):1339-47. PMID: 25460285. DOI: 10.1515/cclm-2014-0745.

Gatford, KL., Andraweera, PH., Roberts, CT., *et al.*, 2020. Animal Models of Preeclampsia Causes, Consequences, and Interventions. *Hypertension*. 2020;75:1363-1381. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.14598.

Gathiram, Moodley. 2016. Pre-Eclampsia: Its Pathogenesis and Pathophysiolgy. *Cardiovascular Africa Journal of Africa*, 27(2): 71-78. DOI: 10.5830/CVJA-2016-009.

Gede, P. 2013. Peranan Peroksidasi Lipid Pada Patogenesis Preeklampsia. Bagian/SMF 62 Obstetri dan Ginekologi FK UNUD/RSUP Sanglah Denpasar.

Girardi, Guillermina. 2017. Pravastatin to treat and prevent preeclampsia. Preclinical and clinical studies. *Journal of Reproductive Immunology* 124 (2017) 15–20.

Ghulmiyyah, L., Sibai, B., 2012. *Maternal Mortality From Preeclampsia/Eclampsia*. *Semin Perinatol.* 36:56-59.

Gray, K.J., Kovacheva, V.P., Mirzakhani, H., *et al.*, 2020. Risk of pre-eclampsia in patients with a maternal genetic predisposition to common medical conditions: a case-control study. *BJOG*. 2021 Jan;128(1):55-65. doi: 10.1111/1471-0528.16441. Epub 2020 Sep 14.

Hagman, R.T, Thomas, B., Karumanchi, S.A., *et al.*, 2012. The promise of angiogenic markers for the early diagnosis and prediction of preeclampsia. *Clinical Chemistry*.58: 5 837-845.

Hale SA, Weger L, Mandala M, *et al.* 2011., Reduced NO signaling during pregnancy attenuates outward uterine artery remodeling by altering MMP expression and collagen and elastin deposition. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*. 2011;301(4):H1266-H1275. DOI: 10.1152/ajpheart.00519.2011.

Hammer, E.S., Cipolla, M.J., 2015. Cerebrovascular Dysfunction in Preeclamptic Pregnancies. *Curr Hypertens Rep*. 2015 Aug; 17(8): 64. doi:10.1007/s11906-015-0575-8. PMID:26126779. PMCID:PMC4752117 NIHMSID:NIHMS758344

Han, L., Yang, Z., Li, K., *et al.*, 2014. Antepartum or Immediate Postpartum Renal Biopsi Preeclampsia of Pregnancy: new Morphologic and Clinical Findings. *Int J Clin Exp Pathol*. 7(8): 5129-5143.

Harati, M.S., Batool, K., Mehrnaz, T., *et al.*, 2018. The association of the placental Hypoxia-inducible factor 1- α polymorphisms and HIF1- α mRNA expression with preeclampsia. *Placenta* 67 (2018) 31–3732. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2018.05.005>.

Harmon, A.C., Cornelius, D.C., Amaral, L.M., *et al.*, 2016. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. PMID:PMC5484393. NIHMSID: NIHMS795436 PMID:26846579. doi:10.1042/CS20150702.

Hardin, J., Bertoni, G.P., Kleinsmith, L.J., 2016. *Becker's World of the Cell*, 9th Edition. Department of Biology. University of Newfoundland.

Hariharan, N, Shoemaker, A, Wagner, S., 2017. Pathophysiology of Hypertension in Preeclampsia. *Microvasc Res*, vol 109, pp 34, 37.

Hendrickson, M.D., Poyton, R.O., 2015. Crosstalk between nitric oxide and hypoxia-inducible factor signaling pathways: an update. *Research and Reports in Biochemistry* 2015;5 147–161

Isha, A., Karumanchi, S.A., 2011. Preeclampsia and the Anti-Angiogenic State. *Pregnancy Hypertension*.1(1).17-21.

Ives, C.W., Sinkey, R., Rajapreyar, I. *et al.*, 2020. Preeclampsia—Pathophysiology and Clinical Presentations: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(14), hal.1690–1702.

Juarsa, H., Tendean, HMM., Wantania, J.E., 2016., Hypoxia Inducible Factor1 in Correlation with Preeclampsia. Indonesian Journal Obstetry and Gynecology. Vol 4 no 1.

Jurisc, A., Jurisc, Z., Lefkou, E., et al., 2018. Pravastatin and-L-arginine combination improves umbilical artery blood flow and neonatal outcomes in dichorionic twin pregnancies through an nitric oxide-dependent vasorelaxant effect. *Vascular Pharmacology* 110 (2018) 64–70.

Jurisc, A., Jurisc, Z., Lefkou, W., et al., 2021., Pravastatin plus L-arginine prevents adverse pregnancy outcomes in women with uteroplacental vascular dysfunction. *Vascul Pharmacol.* 2021 Apr;137:106824. doi: 10.1016/j.vph.2020.106824. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33249273

Karalis, D.G., Hill, A.N., Clifton, S., 2016. The risks of statin use in pregnancy: A systematic review. *Journal of Clinical Lipidology*, Vol 10, No 5, October 2016.

Kaya, Ali., Boztosun, Abdullah., Seekin, Hulya., et al., 2011. The evaluation of hypoxia-inducible factor 1 in N-nitro-L-arginine methyl ester preeclampsia model of pregnant rats. *Journal of Investigative Medicine.* 2011 Dec; volume 59, number 8. PMID: 21941213

Kemkes RI. 2020. Data Dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019. https://www.kemkes.go.id/resources/download/pusdatin/profil-kesehatan-indonesia/Data-dan-Informasi_Profil-Kesehatan-Indonesia-2019.pdf.

Kemse, N.G., Kale, A.A., Joshi, S.R., 2014. A Combined Supplementation of Omega-3 Fatty Acids and Micronutrients (Folic Acid, Vitamin B12) Reduces Oxidative Stress Markers in a Rat Model of Pregnancy Induced Hypertension. *PloS ONE* 9 (11): November 18, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111902>

Khalil, A., Hardman, L., O'Brien, P., 2015. The role of arginine, homoarginine and nitric oxide in pregnancy. *Amino Acids*, 47(9): 1715–1727.

Lambert, G., Brichant, JF., Hartstein, G., et al., 2014. Preeclampsia: An Update. *Acta Anaesth Belg* 2014;65:137-149.

Langelo, Wahyuni., 2013. Faktor risiko Kejadian Preeklampsia di RSKD Ibu dan Anak Siti Fatimah Makasar Tahun 2011-2012. *Jurnal. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hassanudin.*

Lee, M., Yun, S., Lee, H., et al., 2017. Quercetin Mitigates Inflammatory Responses Induced by Vascular Endothelial Growth Factor in Mouse



- Retinal Photoreceptor Cell through Suppressor of Nuclear Factor Kappa B. *IJMS*, 18 : 2497.
- Lefkou, E., Mamopoulos, A., Dagklis, T., 2016. Pravastatin improves pregnancy outcomes in obstetric antiphospholipid syndrome refractory to antithrombotic therapy. *J Clin Invest* 2016; 126: 2933–2940.
- Leon, L.J., McCarthy F.P., Direk, K., *et al.*, 2019. Preeclampsia and Cardiovascular Disease in a Large UK Pregnancy Cohort of Linked Electronic Health Records: A Caliber Study. 23 Sep 2019. *Circulation*. 2019. Sep Brawijaya 24;140(13):1050-1060. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.038080.
- Lo, J.O., Mission, J.F., Caughey, A.B., 2013. Hypertensive Disease Of Pregnancy And Maternal Mortality. *Maternal-fetal medicine*: edited by james f. Smith jr. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology: April 2013 - Volume 25 - Issue 2 - p 124-132. doi: 10.1097.
- Lowe, S.A., Brown, M.A., Dekker, G.A., *et al.*, 2014. Guideline for the Management of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Society Of Obstetric Medicine of Australia and New Zealand*.
- Lucca, L., Gallarretta, F.M.P., *Goncalves, T.L.*, 2015 . Oxidative Stress Markers in Pregnant Woman with Preeclampsia. Vol. 3, No. 3, p68-73.
- Lu, H.Q., Hu, R., 2019. The role of immunity in the pathogenesis and development of pre-eclampsia. *Scandinavian Journal of Immunology*, 90(5), hal.1–13.
- Lumbanraja SN., 2015., The Role of Soluble Fms-like Tyrosine Kinase 1 and Maternal Characteristics in Preeclampsia Scoring Card as a Predictor of Severe Preeclampsia. *IISTE*. 2015; Vol 5(6).
- Masuyama, H., Nobumoto, E., Segawa, T., *et al.*, 2012. Severe Superimposed preeclampsia with obesity, diabetes, and mild imbalance of angiogenic factors. *Acta Med Okayama*. Vol 66. No 2. Pp 171-175.
- Majewska, W.G., Bomba, D.A., Wielgos, M., 2018. Is pravastatin a milestone in the prevention and treatment of preeclampsia? *Journal of Perinatal Medicine*. <https://doi.org/10.1515/jpm-2017-0109>
- Maynard, S.E., Karumanchi S.A., 2011. *Angiogenic Factors and Preeclampsia*. *Semin Nephrol*. 2011 Jan; 31(1): 33–46. PMID: PMC3063446.
- Mayrink J, Costa M.L, Cecatti J.G., 2018. Preeclampsia in 2018: Revisiting Concepts, Physiopathology, and Prediction. *Scientific World Journal*.

2018 Dec 6;2018:6268276. doi: 10.1155/2018/6268276. eCollection
2018.PMID: 30622442.

McElwain, C.J., Tuboly, E., McCarthy, F P., *et al.*, 2020. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Pre-eclampsia and Gestational Diabetes Mellitus: Windows Into Future Cardiometabolic Health?. *Front. Endocrinol.*, 11 September 2020. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00655>.

Mesens, T., Tomsin, K., Staelen, A.S., *et al.*, 2014. Is there a correlation between maternal venous hemodynamic dysfunction and proteinuria of preeclampsia? *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* Volume 181, October 2014, Pages 246-250. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.08.008>

Miller, C.E., 2019. Preeclampsia and Cerebrovascular Disease The Maternal Brain at Risk. Published 6 May 2019 <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.11513> *Hypertension*. 2019;74:5–13.

Mirkovic L, Nejkovic L, Micic J. A., 2018., New Pathophysiological Concept and New Classification of Pre-Eclampsia. *Vojnosanit Pregl* 2018;75 (1) :83-94

Mollazadeha, H.A., Atkinc, S.L., Butlerd, A.E., *et al.*, 2018. The effect of statin therapy on endoplasmic reticulum stres. *Pharmacological Research* **137** (2018) 150–158.

Muhani N, Besral. Pre-eklampsia berat dan kematian ibu. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 2015; 10(2): 1-7.

Nascimento, R.A., Possomato, J.S., Bonacio, G.F., *et al.*, 2019. Reductions of Circulating Nitric Oxide are Followed by Hypertension during Pregnancy and Increased Activity of Matrix Metalloproteinases-2 and -9 in Rats. *Cells* 2019, **8**, 1402; doi:10.3390/cells8111402.

Notoatmodjo, Soekidjo., 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

Nugroho, R.A., 2018. *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Edisi : Agustus 2018. ISBN : 978-602-6834-XX-X. 2018. Mulawarman University Press.

Nugroho, S.W., Fauziyah, K.R., Sajuthi, D., dkk., 2018. Profil Tekanan Darah Normal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar dan Sprague-Dawley. *Acta Veterinaria Indonesiana*. Vol. 6, No. 2: 32-37, Juli 2018. P-ISSN 2337-3202, E-ISSN 2337-4373.

Olson, N., Vliet, A., 2011. Interactions between Nitric Oxide and Hypoxia-Inducible Factor Signaling Pathways in Inflammatory Disease. *Nitric Oxide*. 2011 Aug 1; 25(2): 125–137. Published online 2011 Jan 1. doi: 10.1016/j.niox.2010.12.010.

Ortega, V., Arate, A.Z., Saucedo, R., et al., 2019. Placental Proinflammatory State and Maternal Endothelial Dysfunction in Preeclampsia. *Gynecology Obstetri Investigation*. 2019;84:12–1 <https://doi.org/10.1159/000491087>

Owusu, E.D., Djagbletey, R., Essuman, R., et al., 2018. *Nitric Oxide and Preeclampsia: A Comparative Study in Ghana*. Open Access Maced J Med Sci. 2018 Jun 20; 6(6): 1023–1027. Published online 2018 Jun 16. doi:10.3889/oamjms.2018.252. PMID: PMC6026404. PMID: 29983795.

Owusu, E.D., Djagbletey, R., Sottie, D., et al., 2018. Serum nitric oxide levels in healthy pregnant women: a case- control study in a tertiary.

Pánczél, Z., Kukor, Z., Supák, D., 2019. Pravastatin induces NO synthesis by enhancing microsomal arginine uptake in healthy and preeclamptic placentas. Pánczél et al. *BMC Pregnancy and Childbirth* (2019) 19:426. (2019) 19:426 <https://doi.org/10.1186/s12884-019-2507-0>

Parchim, N., Xia, Y., 2018. Innate and Adaptive Immune Response in Preeclampsia. Elsevier Ltekanan darah.

Patil, B.V., Khedkhar, 2016. Placental Pathology in Pregnancy Induced Hypertension. Vol. 7, Issue, pp. 10527-10529.

Pennington, K.A., Schlitt, J.M., Jackson, D.L., et al., 2012. Preeclampsia: Multiple Approachs for A Multifactorial Disease. *Dis model Mech*. 5:9-18.

Perdana, D., Defrin, Firdawati. 2021. The Difference in Average of Maternal Serum Hypoxia-Inducible Factors-1 α Levels between Early Onset and Late-Onset Severe Preeclampsia. *Andalas Obstetric and Gynecology Journal*. Vol 5.no 1. eISSN 2579-8324.

Phipps, E.A., Thadhani, R., Benzing, T., et al., 2019. Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. PMID:30792480. PMID: PMC6472952. DOI:10.1038/s41581-019-0119-6.

Possomato, JS., Vieira, R.A., Khalil, 2016. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia. *Adv Pharmacol*. 2016; 77: 361–431. PMID: PMC4965238. NIHMSID: NIHMS796722. PMID: 27451103.

Powe, C.E., Levine, R.J., Karumanchi, S.A., 2011. Preeclampsia, a Disease of the Maternal Endothelium The Role of Antiangiogenic Factors and Implications for Later Cardiovascular Disease. *Circulation*.123:2856-2869.

Prawirohardjo, Sarwono. 2013. Ilmu Kebidanan. Edisi ke-4. Jakarta: Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.

Prijanti, A.R., Iswanti, Ferdinal, F., dkk., 2019. Hypoxia increased Malondialdehyde from Membrane Damages is Highly Correlated to HIF-1 but not to Renin Expression in Rat Kidney. IOP Conf. Series: *Earth and Environmental Science* 217(2019)012062 IOP Publishing doi:10.1088/1755-1315/217/1/012062.

Pujiyani, H., Widyawati, M.N., Asiswari., 2018. RISK FACTORS OF PREECLAMPSIA. *Jurnal Kesehatan Ibu dan Anak* Vol.12, No.2, November 2018, pp. 107~112 ISSN: 2599-3224 (Online) ISSN: 2302-6014 (Print) DOI : 10.29238/kia.v12i2.146.

Putra, R.A., Effendi, J.S., Permadi, W. et al., 2018. Role of statin as inducer of Hmox-1 system in treatment of preeclampsia. *Cellular and Molecular Biology*, **64** (10), hal.1–4.

Purwatiningsih, W., Aryani, D.E., Vidiastuti, D., dkk., 2019. Pengaruh Triponil Sulfat pada Perkembangan Fetus dan Kelainan Plasenta dalam Menginduksi Preeklamsia Hewan model Tikus. *Vet Bio Clin J.* Vol. 1, No. 1, Januari 2019 Hal:41 – 46. ISSN 2622.1012.

Rahardjo, B., Widjanto, Sujuti, H., et al., 2014. Different Levels of IL-1 α , IL-6, TNF- α , Nf-kB and PPP- γ in Monocyte Exposed by Plasma Preeclampsia and Normotensive Pregnancy. *Pregnancy Hypertension. An International Women's Cardiovascular Health*; **4**:148-193.

Rahardjo, B., Rahmawati, W., Rahasti, A. 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.

Rana, S., Lemoine, E., Granger, J. dan Karumanchi, S.A., 2019. Preeclampsia : Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circulation Research*. 2019;124:1094–1112. 28 Mar 2019. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313276>.

Rath, G., Aggarwal, R., jawanal, P., et al. 2016. HIF-1 Alpha and Placental Growth Factor in Pregnancies Complicated With Preeclampsia: A Qualitative and Quantitative Analysis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **30**(1). DOI: 10.1002/jcla.21819.

Rauf, A., Ningsi, S., Suhaidarwati, F., 2018. Uji Efek Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) Sebagai Antihipertensi Pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*). JF FIK UINAM Vol.6 No.1 2018. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Robb, K. P., Cotechini, T., Allaire, C., *et al.*, 2017. Inflammation-induced fetal growth restriction in rats is associated with increased placental HIF-1 α accumulation. PLoS One 12, e0175805.

Servitje, E.L., Lopez, N.G., 2012. The Pathophysiology of Preeclampsia Involves Altered Levels of Angiogenic Factors Promoted by Hypoxia and Autoantibody-Mediated Mechanisms. *Biology of Reproduction*, **87**(2):(2012). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.099861>.

Shamsi, U., Salem, S., Nishtar, N., 2013. Epidemiology and risk factors of preeclampsia; an overview of observational studies. *Al Ameen J Med Sci*. **6** (4) : 292- 300.

Sones, JI., Davisson, RI., 2016. Preeclampsia, of mice and women. *Physiol Genomics* 48: 565–572, 2016. First published June 3, 2016; doi:10.1152/physiolgenomics.00125.2015.

Shu W, Li H, Gong H, *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*. 2018;16:585-594. DOI: 10.3892/etm.2018.6217

Smith, DD., Constantine, M.M., 2020. The role of statins in the prevention of preeclampsia. *American Journal Obstetri Gynecology*. 2020. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2020.08.040>

Spaan, J. J. And Brown, M.A., 2012. Renin-angiotensin system in pre-eclampsia: everything old is new again. *Obstet Med*. 2012 Dec; **5**(4): 147–153. Published online 2012 Dec 6. doi:10.1258/om.2012.120007. PMID:30705695. PMID:PMC6341511.

Sriyanti, R., Mose, J. C., Masrul, *et al.*, 2019. The Difference in Maternal Serum Hypoxia-Inducible Factors-1 α Levels between Early Onset and Late-Onset Preeclampsia. *Macedonian Journal Medicine Science*. 2019 Jul 15; **7**(13): 2133–2137. Published online 2019 Jul 13. doi: 10.3889/oamjms.2019.601. PMID: 31456839

Sugiyono, 2017. Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D. Bandung : Alfabeta, CV.

Sulistiyowati, S., Tanjung, L.H.A., Respati, S.H., et al., 2016. Rekombinan Vascular Endothelial Growth Factor-121 Menekan Ekspresi Heat Shock Protein-70 pada Plasenta Mencit Model Preeklampsia. *Jurnal Veteriner* Desember 2017 Vol. 18 No. 4 : 589-596 pISSN: 1411-8327; eISSN: 2477-5665 DOI: 10.19087/jveteriner.2017.18.4.589.

Sulistiyowati, S., 2017. Early and Late Onset Preeclampsia: What Did Really Matter?. *Journal of Gynecology and Women's Health*. 2017;5(4)

Sutton, E.F., Harper, L.M., Tita, A.T., 2018. Hypertensive Disorders in Pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2018 Jun;45(2):333-347. doi: 10.1016/j.ogc.2018.01.012. PMID:29747734.

Sutton E.F., Gemmel, M., Powers, R.W., 2019. Nitric Oxide Signaling In Pregnancy and Preeclampsia. *Nitric Oxide*, 95: 55-62.

Tal, reshef. 2012. The role of hypoxia and hypoxia-inducible factor-1alpha in preeclampsia pathogenesis. *Biol Reprod*. 2012 Dec 13;87(6):134. doi: 10.1095/biolreprod.112.102723. PMID: 23034156.

Talebianpoor, MS., Delaviz, H., Rafei, R., et al. 2018., Resveratrol attenuates fetal limb malformation and cardiac hypertrophy after preeclampsia induced by L-NAME in pregnant rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018;10(2):361-364.

Thornton, C.E., Dadelszen, P., Makris, A., et al., 2011. Acute Pulmonary Oedema as a Complication of Hypertension During Pregnancy. *Hypertension Pregnancy*. 2011; 30(2):169-79. doi: 10.3109/10641950902972140. PMID:19900075.

Tian, M., Zhang, Y., Liu, Z., et al., 2016. The PD-1/PD-L1 inhibitory pathway is altered in pre-eclampsia and regulates T cell responses in pre-eclamptic rats. *Sci Rep* 2016;6:27683.

Toblii, J.E., Bevione, P., Gennaro, F.D., et al. 2012. Understanding the Mechanisms of Proteinuria: Therapeutic Implications. *International Journal of Nephrology*; 2012:1-13.

Tolistiawaty, Widjaja, J, Sumolang, P., et al., 2014. Gambaran kesehatan pada mencit (*Mus musculus*) di instalasi hewan coba. *Jurnal Vektor Penyakit*. 2014. 8(1); 27-32.

Tropea, T., De Francesco, E.M., Rigracciolo, D., et al., 2015. Pregnancy Augments G Protein Estrogen Receptor (GPER) Induced Vasodilation in Rat Uterine Arteries via the Nitric Oxide - cGMP Signaling Pathway. *PLoS ONE*, 10 (11): e0141997. doi:10.1371/journal.pone.0141997.

Tsur, A., Kalisha, F., Burgessa, J., *et al.*, 2019. Pravastatin improves fetal survival in mice with a partial deficiency of heme oxygenase-1. *Placenta* 75.2010.1–8.

Tyasmaya, T., Adji, D., 2012. Peranan Transforming Growth Factor β -1 (TGF β -1) dalam Perkembangan Penyakit Jantung Akibat Induksi Diet Lemak Tinggi. *Jurnal Sain Veteriner* ISSN : 0126 – 0421. JS **30** (1), Juli 2012.

Uzan, J., Carbonnel, M., Piconne, O., *et al.*, 2011. Pre-eclampsia: Pathophysiology, Diagnosis, and Management. *Vascular Health and Risk Management*, **7**: 467-474.

Villalaina, C., Herraiza, I., Canteroa, B., *et al.*, 2020. Angiogenesis biomarkers for the prediction of severe adverse outcomes in late-preterm preeclampsia. *Pregnancy Hypertension*.(2018)74–80.

Wanandi, S.I., Dewi, S., Paramita, R., 2010. Ekspresi Relatif mRNA HIF-1 α Pada Jantung, Otak dan Darah Tikus Selama Induksi Hipoksia Sistemik. *MAKARA, SAINS*, VOL. **13**, NO. 2, NOVEMBER 2009: 185-188.

Watanabe, K., Naruse, K., Tanaka, K., *et al.*, 2013. Outline of Definition and Classification of Pregnancy induced Hypertension (PIH). *Hypertension Research in Pregnancy*, **1**(1), 3–4. doi:10.14390/jsshp.1.3.

Wall, T.D., Grivell, R M., Dekker, G A., *et al.*, 2014. The role of L-arginine in the prevention and treatment of pre-eclampsia: a systematic review of randomised trials. *Journal of Human Hypertension* **volume 28**, pages230–235.

Wells, B.G., Dipiro, J., Schwinghammer, T.L., *et al.*, 2017, *Pharmacotherapy Handbook 10th Edition*, McGraw Hill.

Yusrawati, Aidina, D., Yerizel, E., 2017., Comparison of Transforming Growth Factor-Beta 1 Concentration in Preeclampsia and Normal Pregnancy Women. *The Indonesian Biomedical Journal*, Vol.9, No.1, April 2017, p.49-52. Print ISSN: 2085-3297, Online ISSN: 2355-9179.

Zarate, A., Saucedo, R., Valencia, R., *et al.*, 2014. Early Disturbed Placental Ischemia and Hypoxia Creates Immune Alteration and Vascular Disorder Causing Preeclampsia. *Sciencedirect. Archives of Medical Research* **45** (2014) 519e524

Zarek, J., DeGorter, M.K., Lubetsky, A., *et al.*, 2013. The Transfer of Pravastatin In The Dually Perfused Human Placenta. *Placenta* **34**.(2013)719e72.

Zenclussen, ML., Linzke, N., Schumacher, A. 2015. Heme oxygenase-1 is critically involved in placentation, spiral artery remodeling, and blood pressure regulation during murine pregnancy. *Front. Pharmacol.*, 13 January 2015. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00291>

Zhang, Z., Huang, C., Wang, P., et al. 2020. HIF-1 α affects trophoblastic apoptosis involved in the onset of preeclampsia by regulating FOXO3a under hypoxic conditions. *Mol Med Rep.* 2020 Jun;21(6):2484-2492. doi: 10.3892/mmr.2020.11050. Epub 2020 Apr 1.

Zhu, H., Zhu, W., Hu, R., et al., 2016. 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.* <http://dx.doi.org/10.1080/10641955.2016.1228>.



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 446 /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 : Rasyidah
NIM : 196070400111016
Program studi : Magister Kebidanan
Judul : Pengaruh Pravastatin terhadap Kadar Hypoxia Inducible Factor 1- α
dan Transforming Growth Factor- β pada Tikus (*Rattus norvegicus*)
Strain Wistar Model Preeklamsia
Jenis artikel : Tesis
Jumlah halaman : 93

berdasarkan pemindai dengan perangkat lunak Turnitin, Badan Penerbitan Jurnal Fakultas
Kedokteran menyatakan bahwa Artikel ilmiah tersebut diatas memiliki kemiripan 4 %

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 5 Agustus 2021
Ketua Badan Penerbitan Jurnal,

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



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: 10 August 2021

Letter of Acceptance for Abstract

Dear Authors: Entin Srihadi Yanti(a), Rasyidah (a), Bambang Rahardjo(b*), Rahajeng(c), Husnul Khotimah(d), Dwi Yuni Nur Hidayati(e)

We are pleased to inform you that your abstract (ABS-149, Oral Presentation), entitled:

"EFFECT OF PRAVASTATIN ON TRANSFORMING GROWTH FAKTOR-B AND INTERLEUKIN10 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



Konferenz.com - Conference Management System



Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian
Proses pembuntingan tikus



Swab vagina tikus



Hasil swab vagina



Vaginal plug



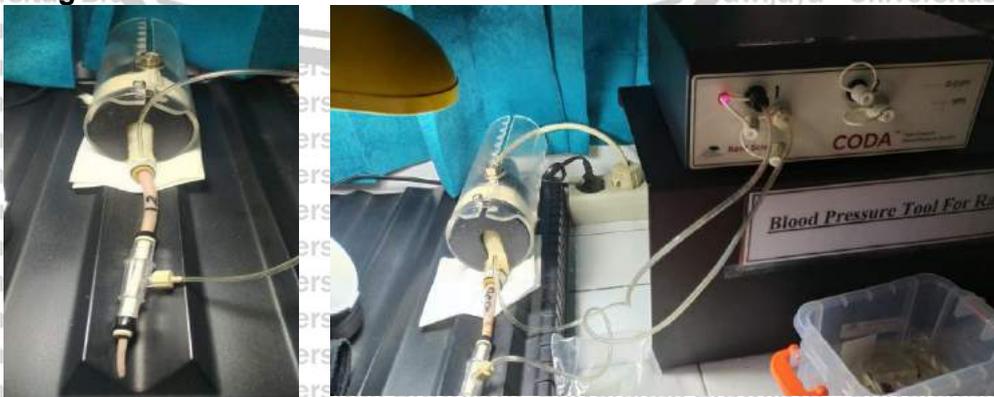
Identifikasi kebuntingan tikus



Penimbangan berat badan tikus



Pengukuran Tekanan Darah



Pengukuran protein urin



Penimbangan L-NAME dan pravastatin



Persiapan injeksi L-NAME dan sonde pravastatin pada tikus



Injeksi L-NAME



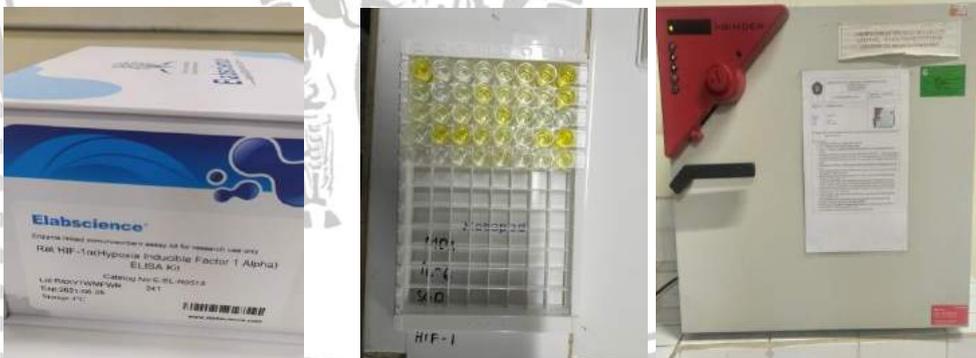
Pemberian sonde pravastatin



Pembedahan dan pengambilan sampel



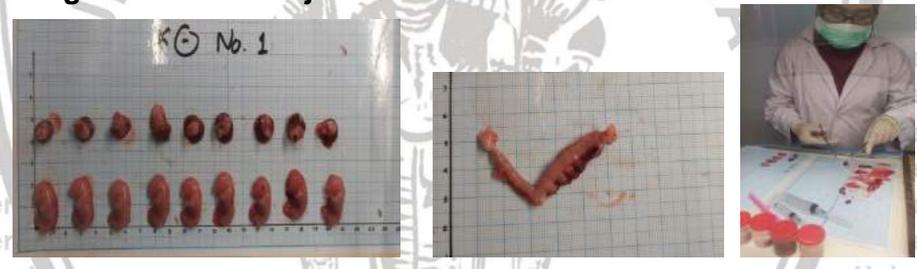
Pengukuran kadar HIF-1 α



Pengukuran kadar TGF- β



Pengamatan kondisi janin dari induk tikus



Tikus yang partus saat aklimatisasi



Tikus yang partus saat penelitian



Lampiran 5 Analisis Data

Analisis Data HIF-1 α

Data Konsentrasi

Standart	K (-)	K (+)	P1	P2	P3
71,181	54,363	164,81	118,45	86,181	51,181
32,091	75,272	138,90	99,818	83,454	65,727
10,272	56,636	171,63	89,363	78,909	59,818
3,909	74,363	161,63	93,909	82,545	64,818

Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
K-	,294	4	.	,797	4	,097
K+	,317	4	.	,878	4	,329
HIF-1 α P1	,268	4	.	,898	4	,419
P2	,220	4	.	,980	4	,900
P3	,247	4	.	,880	4	,339

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

HIF-1 α

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,858	4	15	,170

Hasil Uji komparasi semua kelompok

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Standart. Deviation	Standart. Deviation Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
HIF-1α								
K-	4	65,15909	11,198036	5,599018	47,34052	82,97766	54,364	75,273
K+	4	159,25000	14,187717	7,093859	136,67418	181,82582	138,909	171,636
P1	4	100,38636	12,783291	6,391646	80,04529	120,72743	89,364	118,455
P2	4	82,77273	3,003671	1,501835	77,99322	87,55224	78,909	86,182
P3	4	60,38636	6,663653	3,331826	49,78300	70,98972	51,182	65,727
Total	20	93,59091	37,816405	8,456005	75,89229	111,28953	51,182	171,636

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
HIF-1α					
Between Groups	25540,950	4	6385,238	58,739	,000
Within Groups	1630,579	15	108,705		
Total	27171,529	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: HIF-1α

LSD

(I) Kelompok tikus	(J) Kelompok tikus	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-94,090909*	7,372423	,000	-109,80486	-78,37696
	P1	-35,227273*	7,372423	,000	-50,94122	-19,51333
	P2	-17,613636*	7,372423	,030	-33,32758	-1,89969
	P3	4,772727	7,372423	,277	-10,94122	20,48667
K+	K-	94,090909*	7,372423	,000	78,37696	109,80486
	P1	58,863636*	7,372423	,021	43,14969	74,57758
	P2	76,477273*	7,372423	,011	60,76333	92,19122
	P3	98,863636*	7,372423	,000	83,14969	114,57758
P1	K-	35,227273*	7,372423	,000	19,51333	50,94122
	K+	-58,863636*	7,372423	,021	-74,57758	-43,14969
	P2	17,613636*	7,372423	,030	1,89969	33,32758
	P3	40,000000*	7,372423	,000	24,28605	55,71395
P2	K-	17,613636*	7,372423	,030	1,89969	33,32758
	K+	-76,477273*	7,372423	,011	-92,19122	-60,76333
	P1	-17,613636*	7,372423	,030	-33,32758	-1,89969
	P3	22,386364*	7,372423	,008	6,67242	38,10031
P3	K-	-4,772727	7,372423	,277	-20,48667	10,94122
	K+	-98,863636*	7,372423	,000	-114,57758	-83,14969
	P1	-40,000000*	7,372423	,000	-55,71395	-24,28605
	P2	-22,386364*	7,372423	,008	-38,10031	-6,67242

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



Analisis Data TGF- β

Data Konsentrasi

Standart	K (-)	K (+)	P1	P2	P3
263,679	80,471	31,792	46,509	59,523	64,622
144,6226	61,226	43,679	35,754	53,301	69,150
79,71698	74,811	33,490	38,584	57,830	88,396
27,07547	91,792	32,358	39,716	51,603	66,320

Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kelompok tikus	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
TGF- β	K-	,179	4	.	,994	4	,979
	K+	,378	4	.	,740	4	,031
	P1	,287	4	.	,921	4	,541
	P2	,228	4	.	,923	4	,552
	P3	,356	4	.	,777	4	,067

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

TGF- β

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,596	4	15	,127

Hasil Uji komparasi semua kelompok

Oneway

Descriptives

TGF-β

	N	Mean	Standart. Deviation	Standart. Deviation Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K-	4	77,07547	12,707513	6,353756	56,85498	97,29596	61,226	91,792
K+	4	35,33019	5,610633	2,805317	26,40242	44,25796	31,792	43,679
P1	4	40,14151	4,560613	2,280306	32,88456	47,39846	35,755	46,509
P2	4	55,56604	3,726117	1,863058	49,63695	61,49512	51,604	59,528
P3	4	72,12264	11,008673	5,504337	54,60538	89,63990	64,623	88,396
Total	20	56,04717	18,607585	4,160783	47,33855	64,75579	31,792	91,792

ANOVA

TGF-β

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5532,100	4	1383,025	19,824	,003
Within Groups	1046,502	15	69,767		
Total	6578,602	19			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TGF-β

LSD

(I) Kelompok tikus	(J) Kelompok tikus	Mean Difference (I-J)	Standart. Deviation Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	41,745283*	5,906218	,000	29,15648	54,33409
	P1	36,933963*	5,906218	,000	24,34516	49,52277
	P2	21,509435*	5,906218	,002	8,92063	34,09824
	P3	4,952833	5,906218	,415	-7,63597	17,54164
K+	K-	-41,745283*	5,906218	,000	-54,33409	-29,15648
	P1	-4,811320	5,906218	,428	-17,40013	7,77749
	P2	-20,235848*	5,906218	,024	-32,82465	-7,64704
	P3	-36,792450*	5,906218	,000	-49,38126	-24,20364
P1	K-	-36,933963*	5,906218	,000	-49,52277	-24,34516
	K+	4,811320	5,906218	,428	-7,77749	17,40013
	P2	-15,424528*	5,906218	,020	-28,01333	-2,83572
	P3	-31,981130*	5,906218	,000	-44,56994	-19,39232
P2	K-	-21,509435*	5,906218	,002	-34,09824	-8,92063
	K+	20,235848*	5,906218	,024	7,64704	32,82465
	P1	15,424528*	5,906218	,020	2,83572	28,01333
	P3	-16,556603*	5,906218	,013	-29,14541	-3,96780
P3	K-	-4,952833	5,906218	,415	-17,54164	7,63597
	K+	36,792450*	5,906218	,000	24,20364	49,38126
	P1	31,981130*	5,906218	,000	19,39232	44,56994
	P2	16,556603*	5,906218	,013	3,96780	29,14541

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

Uji Korelasi

1. Hasil Uji korelasi dosis terhadap kadar HIF-1 α

Correlations

		HIF_1	Dosis
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1,000	-,917**
	HIF_1 Sig. (2-tailed)	.	,000
	N	12	12
	Correlation Coefficient	-,917**	1,000
	Dosis Sig. (2-tailed)	,000	.
	N	12	12

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

2. Hasil Uji korelasi dosis terhadap kadar TGF- β

Correlations

		TGF_b	Dosis
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1,000	,798**
	TGF_b Sig. (2-tailed)	.	,003
	N	12	12
	Correlation Coefficient	,798**	1,000
	Dosis Sig. (2-tailed)	,003	.
	N	12	12

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Pencatatan Berat Badan Tikus Saat Penelitian Dan Berat Badan Janin Pada Tikus Bunting Model Preeklampsia Setelah Dibedah.

Berat Badan Tikus Bunting (induk)

Kelompok	Urutan sampel	No. Sampel	Hari ke 1 kebuntingan	Hari ke 10 kebuntingan	Hari ke 19 kebuntingan
K(-)	1	1	173	198	210
	2	10	164	180	198
	3	1,1	164	179	200
	4	115	198	213	235
K(+)	1	2	182	190	219
	2	25	162	175	190
	3	82	175	190	210
	4	113	169	185	208
P1	1	54	183	208	227
	2	100	178	197	212
	3	101	185	205	221
	4	110	194	209	229
P2	1	1	170	188	205
	2	50	193	207	218
	3	51	181	195	219
	4	69	172	202	230
P3	1	12	184	196	202
	2	46	180	207	216
	3	47	175	189	204
	4	99	181	197	217

Berat Badan Janin Tikus Putih

Kelompok	Rerata BB janin (gr)				Rerata BB Janin total+ SD (gr)	Rerata jumlah janin	Rerata Jumlah fetal yang direabsorpsi
	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	Sampel 4			
K (-)	3,41	3,31	3,17	4,53	3,61+ 0,63	7,25	0
K (+)	3,05	3,01	3,12	0,23	2,35+ 1,42	2,94	4
P1	3,60	2,52	2,79	2,98	2,97+ 0,47	3,75	1,25
P2	2,78	3,55	3,28	3,53	3,28+ 0,36	6,25	3
P3	3,63	3,52	4,29	3,22	3,66+ 0,45	5,5	1

RIWAYAT HIDUP

Rasyidah, lahir di Sumenep, 30 April 1989. Anak pertama dari tiga bersaudara, putri Bapak Kadarisman SE., M.Ak dan Ibu Siti Fatimah. Lulus SD Negeri

Parsanga 1 Kabupaten Sumenep tahun 2001. Lulus

SMP Negeri 1 Sumenep tahun 2004 dan lulus SMA

Negeri 3 Pamekasan tahun 2007. Tahun 2010 lulus dari

Akademi Kebidanan Sutomo Politeknik Kesehatan

Kementerian Kesehatan Surabaya. Bekerja sebagai bidan di salah satu RS

swasta di Sumenep, dan akhir tahun 2012 melanjutkan pendidikan di Program

Studi S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya dan

lulus tahun 2014. Melanjutkan Program Profesi Bidan selama setahun dan lulus

tahun 2015. Akhir tahun 2015 bekerja di salah satu Universitas Swasta di

Surabaya. Pada tahun 2019 melanjutkan pendidikan di Program Studi Magister

Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang sampai sekarang.

