



FORUM ILMIAH KESEHATAN

(FORIKES)

Sekretariat: Jl. Cemara 25, RT.01, RW.02 Ds./Kec. Sukorejo, Ponorogo

Telepon: 085235004462, 081335718040

Email: [forikes@gmail.com](mailto:forikes@gmail.com), Website: [www.forikes.webs.com](http://www.forikes.webs.com)

Ponorogo, 7 Juli 2019

Nomor : Forikes/2019/07/07/001  
Lampiran : 1 set  
Hal : Permohonan ISBN

Kepada Yth.  
Pimpinan Tim ISBN/KDT Perpustakaan Nasional RI  
Di Jakarta

Dengan surat ini, kami mohon agar buku kami didaftar dalam sistem ISBN yaitu:

Judul:  
PEMANFAATAN EVOO UNTUK PENCEGAHAN PREEKLAMPSI DENGAN UJI  
COBA MODEL PREEKLAMPSI PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BUNTING  
MODEL PREEKLAMPSIA

Penulis:  
EVI IRIANTI

Untuk keperluan tersebut, kami melampirkan:

1. Cover buku
2. Halaman Judul 1
3. Halaman Judul 2
4. Kata pengantar
5. Daftar isi

Hasil pendaftaran ISBN mohon dikirimkan ke pilihan alamat sebagai berikut:

1. E-mail: [forikes@gmail.com](mailto:forikes@gmail.com)
2. Ditampilkan di layanan ISBN Online

Atas perhatian dan bantuan yang diberikan kami sampaikan terima kasih.

Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES)

Ketua



Dr. Heru SWN, S.Kep., Ns., M.M.Kes, C.P.M.C.

# PEMANFAATAN EVOO

UNTUK PENCEGAHAN PREEKLAMPSI  
DENGAN UJI COBA MODEL PREEKLAMPSI  
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BUNTING

EVI IRIANTI

Forum Ilmiah Kesehatan Forikes  
Ponorogo, 2019

EVI

EVI

ISBN 978-623-7307-08-2



9

786237

307082

**PEMANFAATAN EVOO UNTUK PENCEGAHAN  
PREEKLAMPSI DENGAN UJI COBA MODEL PREEKLAMPSI  
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BUNTING MODEL  
PREEKLAMPSIA**

**EVI IRIANTI**

**Forum Ilmiah Kesehatan Forikes  
2019**

**PEMANFAATAN EVOO UNTUK PENCEGAHAN PREEKLAMPSI  
I DENGAN UJI COBA MODEL PREEKLAMPSI PADA TIKUS P  
UTIH (*Rattus norvegicus*) BUNTING MODEL PREEKLAMPSIA**

Oleh:  
EVI IRIANTI

ISBN 978-623-7307-08-2

Penerbit:  
FORUM ILMIAH KESEHATAN (FORIKES)  
2019

Jalan Cemara 25, RT. 001, RW. 002 Dare, Desa Sukorejo, Kecamatan  
Sukorejo, Ponorogo, Jawa Timur  
E-mail: forikes@gmail.com  
Telepon: 082142259360

Editor: Dhiana Setyorini

Edisi I  
Cetakan I

Hak Cipta dilindungi Undang-undang

Dilarang memperbanyak, mencetak, dan menerbitkan sebagian atau  
seluruh buku dengan cara dan dalam bentuk apapun juga tanpa seijin  
penulis.

## **PRAKATA**

Puji syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah banyak memberikan anugerah-Nya, serta shalawat dan salam kepada Rasulullah SAW, sehingga penulisan buku ini dapat diselesaikan. Buku ini berisi tentang hasil penelitian Disertasi dengan judul Manfaat EVOO (Extra Virgin Olive Oil) sebagai antioksidan untuk alternatif pencegahan Preeklampsia. Penelitian ini merupakan penelitian preklinik yang bertujuan sebagai pembuka jalan bagi peneliti selanjutnya, untuk menemukan cara yang terbaik dalam menurunkan angka preeklampsia bagi ibu hamil.

Sebagai model preeklampsia ibu hamil maka penelitian ini menggunakan hewan coba karena dengan pertimbangan etika pada penelitian. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Genetika Molekuler dan Farmako Therapy Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran Bandung dan Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Keberhasilan penelitian dan penulisan buku ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada kedua orang tua dan suami tercinta, juga kedua putri saya yang telah menjadi penyemangat penulis dalam menyelesaikan buku ini. Penulis menyadari sepenuhnya, bahwa buku ini banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu saran dan kritik dari pembaca, penulis harapkan untuk perbaikan dari penulisan ini selanjutnya.

Medan, Agustus 2019

Penulis

## **DAFTAR ISI**

Halaman judul I --- i

Halaman judul II --- ii

Prakata --- iii

Daftar isi --- iv

Bab 1 Pendahuluan ---1

Bab 2 Tinjauan Pustaka --- 2

1. Pengertian Preeklampsia --- 2

2. Patofisiologi Preeklampsia --- 2

3. Peranan MDA pada Preeklampsia --- 4

4. Ekspresi Hsp70 pada Preeklampsia --- 7

5. Peranan Apoptosis pada Preeklampsia --- 8

6. Peranan Ekspresi Bcl2 pada Preeklampsia --- 10

7. Pencegahan Preeklampsia --- 11

8. Extra Virgin Olive Oil (EVOO) Sebagai anti oksidan --- 12

Bab 3 Hasil Penelitian

1. EVOO Menurunkan Kadar MDA Plasma Tikus Putih dengan Preeklampsia --- 15

2. Pengaruh EVOO Terhadap Ekspresi Protein Hsp70 pada Preeklampsia --- 20

3. Pengaruh EVOO Terhadap Apoptosis Indeks Plasenta Pada Preeklampsia --- 25

4. Pengaruh EVOO Terhadap Ekspresi Protein Bcl2 pada Preeklampsia --- 29

5. EVOO Dan Penurunan Tekanan Darah Tikus Putih Dengan Preeklampsia --- 31

6. Pengaruh EVOO Terhadap Morfometri Fetus dan Jumlah Implantasi pada Tikus Putih dengan Preeklampsia --- 34

Bab 3 Kesimpulan --- 44

Bab 4 Daftar Pustaka --- 45

Lampiran --- 52

## BAB 1 PENDAHULUAN

Kematian ibu di Indonesia disebabkan oleh tiga penyebab utama yaitu perdarahan, hipertensi dalam kehamilan dan infeksi, akan tetapi proporsinya telah berubah saat ini, dimana perdarahan dan infeksi cenderung menurun, sedangkan hipertensi dalam kehamilan mengalami peningkatan. Lebih dari 25% AKI di Indonesia pada tahun 2013 disebabkan oleh preeklampsia/eklampsia (Kemenkes RI, 2015).

Preeklampsia merupakan sindroma pada kehamilan yang awalnya sehat, ditandai oleh hipertensi gestasional dan proteinuria (meskipun saat ini diagnosis preeklampsia tidak tergantung pada proteinuria), terjadi setelah usia kehamilan 20 minggu (Robert *et al.*, 2003; Yusniar, 2004; Matsubara *et al.*, 2015), merupakan salah satu penyebab kematian ibu. Preeklampsia juga merupakan salah satu penyulit kehamilan yang dapat menyebabkan terjadinya komplikasi persalinan, berkisar antara 5-15% dari kehamilan, hal ini mengakibatkan mortalitas dan morbiditas maternal serta perinatal menjadi tinggi (Angsar, 2013).

Menurut penelitian Chen bao dan Wang (2013) salah satu penyebab preeklampsia karena adanya ketidakseimbangan antara antioksidan dengan radikal bebas, akibat terjadinya kegagalan *remodeling arteri spiralis*. Kegagalan *remodeling arteri spiralis* mengakibatkan plasenta mengalami iskemia dan hipoksia sehingga menghasilkan radikal hidroksil yang sangat toksik, pada akhirnya akan merusak membran sel endotel yang kaya akan kandungan asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida dan produk akhirnya adalah *Malondialdehyde* (MDA), hal ini menyebabkan stres oksidatif (Hung, 2007). Salah satu penanda terjadinya stres oksidatif pada penderita preeklampsia adalah meningkatnya kadar lipid peroksida/*Malondialdehyde* (MDA) (Hung, 2007).

Oleh karena itu perlu upaya pencegahan PE, salah satunya adalah dengan pemberian antioksidan seperti suplemen kombinasi antara vitamin C dan vitamin E, ternyata secara signifikan dapat menurunkan kejadian preeklampsia (Takiuti *et al.*, 2000). Salah satu jenis antioksidan yang telah diketahui yaitu *extra virgin olive oil* (EVOO), kaya akan kandungan antioksidan yaitu  *tokoferol* (Nakbi *et al.*, 2010). Hasil penelitian ini akan memaparkan manfaat dari EVOO yang diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk mencegah preeklampsia.

## **BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA**

### **1. Pengertian Preeklampsia**

Preeklampsia adalah hipertensi dalam kehamilan dengan tekanan darah sistolik dan diastolik  $\geq 140/90$  mmHg yang terjadi pada kehamilan  $> 20$  minggu (Robert *et al.*, 2003; Yusniar, 2004; Matsubara *et al.*, 2015). Pengukuran tekanan darah sekurang-kurangnya dilakukan 2 kali selang 4 jam. Selain hipertensi juga dapat disertai dengan dengan proteinuria yaitu terdapatnya protein dalam urin selama 24 jam sekitar 300 mg atau  $\geq 1+$  *dipstick* (Angsar, 2012).

### **2. Patofisiologi Preeklampsia**

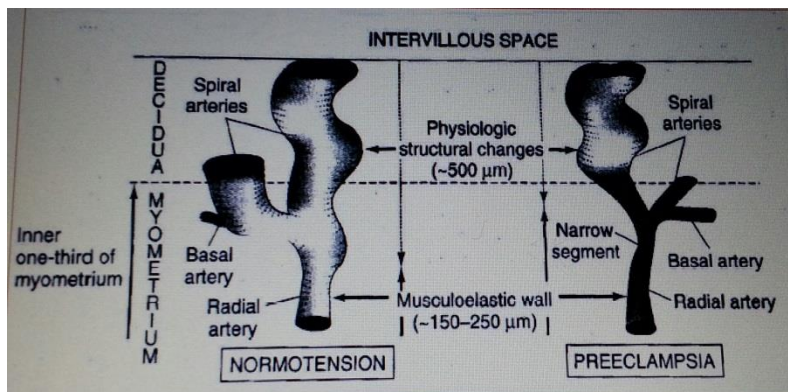
Salah satu penyebab PE adalah akibat ketidakseimbangan antara kadar oksidan dan antioksidan yang bermula karena terjadinya kegagalan *remodeling arteri spiralis*. Kegagalan *remodeling arteri spiralis* diduga karena ada keterlibatan ekspresi miR17 yang belum diketahui penyebabnya. Seperti diketahui bahwa pada kehamilan normal, miR17 hanya bersirkulasi dalam kadar yang rendah, hal ini memungkinkan ekspresi EPHB4 dan EPHB2 di plasenta. EPHB4 dan EPHB2 diduga dapat menginduksi perubahan CTB menjadi EVT untuk menginvasi desidua dan me-remodeling arteri spiralis uterus. Arteri spiral adalah arteri dengan tahanan perifer yang lebih rendah yang memungkinkan aliran darah bolak-balik antara maternal-fetal untuk pertukaran nutrisi dan gas serta pengeluaran sisa metabolik fetus, namun pada kehamilan PE ternyata ekspresi miR17 justru meningkat, mensupresi ekspresi EPHB4/EPHB2 yang akan menghambat transformasi CTB menjadi EVT sehingga terjadi kegagalan remodeling arteri spiralis, dan hal inilah yang menghambat aliran darah maternal fetal serta merupakan patogenesis dari PE itu sendiri (Chen bao dan Wang, 2013).

Secara fisiologi pada kehamilan normal, rahim dan plasenta mendapat aliran darah dari cabang-cabang arteri uterina dan arteria ovarika. Kedua pembuluh darah tersebut menembus miometrium menjadi arteri arkuata yang bercabang ke arteria radialis. Arteria radialis menembus endometrium menjadi arteri basalis yang bercabang ke arteri basalis memberi cabang arteria spiralis. Invasi trofoblas ke dalam lapisan otot arteria spiralis, menimbulkan degenerasi lapisan otot tersebut sehingga terjadi dilatasi arteri spiralis. Invasi trofoblas juga memasuki jaringan sekitar arteri spiralis, sehingga jaringan matriks menjadi gembur dan memudahkan lumen arteri spiralis mengalami distensi dan dilatasi. Distensi dan vasodilatasi lumen arteri spiralis ini memberi dampak penurunan tekanan darah, penurunan resistensi vaskular, dan peningkatan aliran darah pada daerah utero plasenta. Akibatnya, aliran



darah ke janin cukup banyak dan perfusi jaringan juga meningkat, sehingga dapat menjamin pertumbuhan janin dengan baik. Proses ini disebut dengan *remodeling arteri spiralis* (Walker, 2000; Cunningham, 2005; Angsar, 2012).

Pada kondisi kegagalan *remodeling arteri spiralis* maka tidak terjadi invasi sel-sel trofoblas dalam lapisan otot arteri spiralis dan jaringan matriks sekitarnya. Lapisan otot arteri spiralis menjadi tetap kaku dan keras sehingga lumen arteri spiralis tidak memungkinkan mengalami distensi dan vasodilatasi, akibatnya arteri spiralis relatif mengalami vasokonstriksi, sehingga aliran darah utero-plasenta menurun, dan terjadilah hipoksia dan iskemia plasenta. Diameter rata-rata arteri spiralis pada hamil normal adalah 500 mikron, sedangkan pada PE rata-rata 200 mikron (Gambar 1). Pada hamil normal vasodilatasi lumen arteri spiralis dapat meningkatkan 10 kali aliran darah ke utero plasenta (Cunningham, 2005).



Gambar 1 Plasenta pada kehamilan normotensi dan PE

Kegagalan *remodeling arteri spiralis* ini menyebabkan plasenta mengalami iskemia. Plasenta yang mengalami iskemia dan hipoksia akan menghasilkan oksidan (disebut juga radikal bebas). Oksidan atau radikal bebas adalah senyawa penerima elektron atau atom/molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Salah satu oksidan penting yang dihasilkan plasenta iskemia adalah radikal hidroksil yang sangat toksis, khususnya terhadap membran sel endotel pembuluh darah. Sebenarnya produksi oksidan pada manusia adalah suatu proses normal, karena oksidan memang dibutuhkan untuk perlindungan tubuh. Adanya radikal hidroksil dalam darah mungkin dahulu dianggap sebagai bahan toksin yang beredar dalam darah, maka dulu PE disebut ‘toksemia kehamilan’. Radikal hidroksil akan merusak membran sel, yang

mengandung banyak asam lemak tidak jenuh menjadi peroksida lemak. Peroksida lemak selain akan merusak membran sel, juga akan merusak nukleus dan protein sel endotel. Produksi oksidan (radikal bebas) dalam tubuh yang bersifat toksis, selalu diimbangi dengan produksi antioksidan (Hubel, 1989; Zeeman, 1992; Kadirvelu *et al.*, 2002)

Pada Preeklampsia telah terbukti bahwa kadar oksidan, khususnya peroksida lemak meningkat, sedangkan antioksidan misalnya vitamin E menurun, sehingga terjadi dominasi kadar oksidan peroksida lemak yang relatif tinggi. Peroksida lemak sebagai oksidan/radikal bebas yang sangat toksis ini akan beredar di seluruh tubuh dalam aliran darah dan akan merusak membran sel endotel. Membran sel endotel lebih mudah mengalami kerusakan oleh peroksida lemak, karena letaknya langsung berhubungan dengan aliran darah dan mengandung banyak asam lemak tidak jenuh. Asam lemak tidak jenuh sangat rentan terhadap oksidan radikal hidroksil, yang akan berubah menjadi peroksida lemak (lipid peroksida). Akibat sel endotel terpapar terhadap peroksida lemak, maka terjadi kerusakan sel endotel, yang kerusakannya dimulai dari membran sel endotel. Kerusakan membran sel endotel mengakibatkan terganggunya fungsi endotel, bahkan rusaknya seluruh struktur sel endotel. Keadaan ini disebut disfungsi endotel (Higgins, 2001). Redman (2002), menyatakan bahwa disfungsi endotel pada PE akibat produksi debris trofoblas plasenta berlebihan tersebut di atas mengakibatkan “aktivitas leukosit yang sangat tinggi” pada sirkulasi ibu. Peristiwa ini oleh Redman (2002) disebut sebagai “kekacauan adaptasi dari proses inflamasi intravaskular pada kehamilan” yang biasanya berlangsung normal dan menyeluruh.

Disfungsi endotel dipicu oleh peningkatan stres oksidatif akibat bahan asing dari debris trofoblas dalam jumlah yang banyak sehingga merangsang timbulnya proses inflamasi. Hal ini karena proses apoptosis akibat peningkatan stres oksidatif, sehingga produksi debris apoptosis dan nekrotik trofoblas juga meningkat. Makin banyak sel trofoblas plasenta misalnya pada plasenta besar, hamil ganda, maka reaksi stres oksidatif akan sangat meningkat sehingga jumlah sisa debris trofoblas juga makin meningkat (Redman, 2002; Martin *et al.*, 2003).

### **3. Peranan MDA pada preeklampsia**

#### **3.1. Kadar *Malondialdehyde (MDA)* sebagai Indikator Peroksida Lipid**

MDA adalah suatu senyawa yang sangat reaktif yang merupakan produk akhir dari peroksidatif lipid, dan biasanya digunakan sebagai biomarker biologis peroksidatif lipid untuk menilai stres oksidatif. MDA adalah senyawa aldehida yang merupakan produk akhir peroksida lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus

molekul  $C_3H_4O_2$ . MDA juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentose dan heksosa. Selain itu, MDA juga merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk sampah biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidatif lipid membran (De Zwart *et al.*, 1998; Droge, 2003).

Pengukuran MDA mudah dilakukan baik secara spektrofotometrik atau fluorimetrik. Karena MDA tidak stabil maka cara penyimpanan sampel harus terlindung dari cahaya, dan bila tidak segera diperiksa harus disimpan pada suhu  $-70^{\circ}C$ , penyimpanan  $-20^{\circ}C$  tidak memadai (Mates 2000). Uji TBARs merupakan salah satu uji yang paling lama dan paling sering digunakan untuk mengukur proses peroksidatif lipid asam lemak tidak jenuh. Uji TBARs dapat menilai stres oksidatif berdasarkan reaksi asam tiobarbiturat dengan malondialdehid (MDA). Supernatan plasma (setelah protein diendapkan) direaksikan dengan asam tiobarbiturat menghasilkan kromofor berwarna merah muda yang dibaca pada panjang gelombang 530 nm. Hasilnya dibandingkan dengan kurva standar memakai tetraetoksipropan.

### 3.2 Mekanisme MDA pada Preeklampsia

Gambaran PE ditandai adanya vasospasme dan peningkatan tahanan perifer yang mengurangi perfusi ke organ. Etiologi dari fenomena ini berhubungan dengan perubahan fisiologis arteri spiralis yang tidak sempurna (Ekambaram dan Geetha, 2008). Pada kehamilan normal, respon imun tidak menolak hasil konsepsi oleh karena adanya HLA-G pada plasenta yang melindungi trofoblas dari lisis yang disebabkan sel NK ibu. Invasi trofoblas yang adekuat sangat penting agar jaringan menjadi lebih lunak dan memudahkan dilatasi arteri spiralis sehingga perfusi ke arteri spiralis semakin lancar.

Namun pada PE, terjadi penurunan ekspresi HLA-G yang menyebabkan hambatan invasi trofoblas dalam desidua (Abdulsid *et al.*, 2013). Keadaan ini kemudian menimbulkan terjadinya hipoperfusi uteroplasenta, menginduksi terjadinya iskemia jaringan plasenta yang kemudian meningkatkan produksi radikal bebas (Yung *et al.*, 2014). Radikal bebas, terutama spesies oksigen reaktif, menyebabkan penurunan antioksidan dalam sel dan menjadi kunci terjadinya kerusakan endotel maternal (Giuliano *et al.*, 2011).

Plasenta yang mengalami iskemia akan melepaskan radikal penting yaitu radikal hidroksil yang sangat toksis. Radikal hidroksil kemudian akan merusak membran sel endotel yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh menjadi peroksida lipid. Peroksida lipid inilah yang kemudian akan merusak struktur sel lainnya, seperti protein membran dan nukleus. Selain merusak struktur, peroksida lipid menghambat secara selektif terhadap prostasiklin sintetase dan

meningkatkan kerja enzim siklooksigenase yang dapat meningkatkan produksi tromboksan, sehingga terjadi vasokonstriksi pembuluh darah (Yung et al., 2014). Oleh karena itu, peningkatan peroksida lipid dapat menjadi penanda stres oksidatif yang dapat diukur melalui senyawa malondialdehid (MDA), produk akhir dari proses peroksidatif lipid (Yung et al., 2014; Giuliano et al., 2011).

Seperti yang telah diuraikan sebelumnya, patogenesis PE dimulai dengan terjadinya kegagalan invasi sel-sel sitotrofoblas ke arteri spiralis yang disinyalir berhubungan dengan maladaptasi sistem imun antara ibu dan fetus juga keterlibatan ekspresi mir17 yang meningkat. Kegagalan ini menyebabkan terhambatnya perfusi ke plasenta yang menimbulkan hipoksia. Hipoksia plasenta menimbulkan pertumbuhan intra uterin yang terhambat pada fetus, selain itu pada ibu dapat mengakibatkan kerusakan multi-organ yang timbul akibat dilepaskannya berbagai sitokin, produk peroksida lipid (malondialdehid), debris trofoblas (mikrofragmen sinsitiotrofoblas, sitokeratin) oleh plasenta yang hipoksia ke sirkulasi maternal. Keadaan hipoksia juga menimbulkan aktivasi sel-sel imun, terutama neutrofil dan sel dendritik menghasilkan lebih banyak sitokin yang menginduksi terbentuknya ROS yang berlebihan sehingga memperburuk keadaan sirkulasi maternal, juga resistensi perifer serta disfungsi endotel (Yung et al., 2014).

Pada kehamilan normal, peningkatan aliran darah utero-plasenta dikompensasi oleh adanya estrogen yang menginduksi vasodilatasi pembuluh darah melalui NO. Selain sebagai vasodilator, NO berperan mencegah timbulnya perlekatan leukosit dan molekul adhesi lainnya, serta menghambat agregasi platelet. NO adalah vasodilator alami yang terbentuk melalui aktivasi enzim eNOS (*endothelial Nitric Oxide Synthase*). Namun pada keadaan PE, peningkatan ROS menyebabkan terbentuknya ONOO<sup>-</sup> (*nitrat trioksida*) yang menghambat BH<sub>4</sub> sehingga struktur eNOS menjadi tidak stabil dan tidak mampu menghasilkan NO secara maksimal. Di sisi lain, ONOO<sup>-</sup> juga berperan dalam merusak DNA (asam deoksiribonukleat), protein, struktur lipid membran dan menghambat aktivitas prostaglandin sintase yang menyebabkan konstriksi pembuluh darah dan agregasi platelet. Peningkatan ROS yang tidak dapat diimbangi oleh pembentukan NO inilah yang menimbulkan kondisi stres oksidatif (Ekambaram et al., 2009).

Kondisi stres oksidatif tentunya juga berpengaruh langsung terhadap integritas organel sel, seperti mitokondria. Terjadinya disfungsi mitokondria sebagai generator energi sel tubuh akan menyebabkan penurunan produksi ATP yang pada akhirnya menghambat kerja enzim-enzim mitokondria, menimbulkan destabilisasi dan agregasi protein-protein intraselular yang merupakan awal dari proses apoptosis (Barton dan Sibai, 2007). Selain berpengaruh terhadap integritas membran dalam mitokondria, keadaan stres oksidatif juga menimbulkan kerusakan pada

*retikulum endoplasma* (RE) yang merupakan tempat biosintesis hormon-hormon polipeptid, faktor-faktor pertumbuhan, dan protein-protein plasma membran beserta hasil modifikasi post-transisionalnya. Keadaan ini mengaktifkan beberapa jalur-jalur (pathway) *caspace*, seperti PERK - eIF-2 $\alpha$  (*Protein Endoplasmic Reticulum Kinase – Eucaryotic Initiation Factor*) dan ATF-6 (*Activating Transcription Factor 6*) yang meningkatkan pembentukan *misfolded proteins* yang berujung pada degradasi protein-protein intrasel (Lopez *et al.*, 2008). Dalam hal ini peranan Hsp70 dibutuhkan untuk tidak terjadi apoptosis yang berlebihan, sehingga dapat menjaga homeostasis sel.

#### **4. Ekspresi Hsp70 pada Preeklampsia**

Pada kehamilan normal, diketahui bahwa ada peningkatan produksi radikal bebas dan peroksida lipid pada akhir kehamilan jika dibandingkan dengan wanita yang tidak hamil. Pada waktu yang bersamaan, biasanya terjadi juga peningkatan antioksidan selama masa kehamilan, bertujuan untuk menjaga keseimbangan oksidan selama masa kehamilan, akan tetapi kehamilan patologi seperti PE faktanya terjadi kelebihan produksi ROS yang diduga menjadi salah satu penyebab utama terjadinya kegagalan reperfusi pada perkembangan plasenta, hal inilah yang menjadi akumulasi debris-debris plasenta pada jalur apoptosis (Ekambaram dan Geetha, 2008).

Oleh karena itu sel harus dilindungi dari sitotoksik yang merupakan golongan protein, mudah diinduksi dan beberapa diantaranya secara berurutan diekspresikan serta meningkat pada respon stres, walaupun ada juga hanya diekspresikan setelah kejadian stres. Perlindungan sel tersebut dilakukan oleh Hsp 70, bertujuan untuk melindungi sel dari apoptosis yang berlebihan pada PE sebagai respon stres oksidatif, dan banyak diekspresikan terutama pada plasenta. Penelitian tentang peningkatan Hsp70 pada serum dan jaringan plasenta, serta sel endotel plasenta pada kasus PE telah banyak dilakukan dan didapatkan suatu kesimpulan bahwa Hsp 70 mempunyai peranan dalam menghadapi keadaan stres oksidatif (Ekambaram, 2011).

Penelitian lain melaporkan bahwa terjadi peningkatan Hsp70 pada PE dengan infeksi *Ureaplasma urealyticum* (Ekambaram *et al.*, 2009). Penelitian lainnya menunjukkan adanya genotip yang spesifik dalam ekspresi Hsp70 pada kondisi PE (Fekete *et al.*, 2006). Mitochondria Hsp70 (mtHsp70) juga mempunyai peranan penting untuk membawa praprotein melewati membran mitokondria masuk ke dalam matriks. Proses ini juga untuk mempertahankan membran potensial pada mitokondria yang merupakan motor pembentukan protein dalam mitokondria. Sekarang telah diketahui bahwa peningkatan mtHsp70 seiring dengan respon peningkatan terhadap oksidasi mitokondria dan

stres nitrat selama penurunan status antioksidan pada PE (Ekambaran *et al.*, 2009). Terjadinya penurunan aktivasi enzim kompleks respiratori mitokondria yang bekerja merupakan stimulus pertama untuk menginduksi ekspresi mtHsp70 (Ekambaran *et al.*, 2009).

Penurunan antioksidan pada jaringan plasenta ditambah lagi dengan kondisi stres oksidatif sehingga menyebabkan dalam jaringan ini terjadi peningkatan apoptosis bahkan pada akhirnya akan mengalami nekrosis. Berkurangnya atau buruknya fungsi plasenta pada PE menyebabkan peningkatan apoptosis, oleh karena itu fungsi dari HSP khususnya Hsp 70 berperan juga sebagai anti apoptosis yaitu dengan cara menghambat aktivasi Bax (*Bcl-2-associated X protein*) untuk mencegah pelepasan proapoptosis faktor seperti *sitokrom-c* dari mitokondria (Ekambaran dan Lavanya, 2011). Dalam hal ini Hsp70 juga menghambat kejadian stres pada sel membran permeabel mitokondria dengan mengontrol kapan sel perlu dimatikan, tetapi tidak ikut campur pada kematian sel jika kondisi ini telah terjadi (Ekambaran, 2011). Melalui peningkatan ekspresi Hsp70, ternyata dapat memblokir proses kematian sel, atau yang lebih ekstrimnya lagi dapat mendukung atau mengurangi pertumbuhan sel tersebut, hal inilah yang mungkin menyebabkan peningkatan komplikasi maternal dan fetal, sehingga membutuhkan pengembangan terapi yang tepat, salah satunya adalah dengan pemberian berbagai macam antioksidan seperti vitamin E,  $\beta$ -carotene, asam askorbat dan glutathione bersama dengan penurunan aktivasi ikatan zat besi bebas telah banyak diujicobakan pada kasus PE (Ekambaran, 2011).

Untuk mengetahui ekspresi Hsp70 telah banyak diteliti dengan menggunakan metode *Western Blot* (Ekambaran dan Geetha, 2008; Abdulsid *et al.*, 2013). Pencuplikan sampel plasenta dilakukan di tiga bagian yang berbeda dari plasenta yaitu bagian dalam, tengah dan pinggir, diambil dari ibu melahirkan dengan PE dan normal. Hasilnya ternyata ada perbedaan yang signifikan peningkatan ekspresi Hsp 70 pada sampel plasenta yang dicuplik dari bagian tengah kedua kelompok penelitian tersebut. Demikian juga pada penelitian Ekambaran dan Geetha (2008), namun peneliti ini tidak membedakan tempat pencuplikan sampel plasenta, akan tetapi hasil penelitiannya menunjukkan perbedaan yang signifikan antara ibu melahirkan dengan PE dan normal. Sementara itu untuk mengukur kadar Hsp70 serum dapat dilakukan dengan menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Molvarec *et al.*, 2009).

## **5. Peranan apoptosis pada Preeklampsia**

Preeklampsia terjadi salah satunya karena kegagalan sel trofoblas melakukan remodeling arteri spiralis akibat proses apoptosis yang

berlebihan menyebabkan terjadinya iskemia uteroplasenta dan kerusakan sel endotel yang menimbulkan manifestasi klinis preeklampsia terutama terjadi melalui jalur intrinsik intraseluler di mana Bax dan Bak adalah gen-gen yang berperan sebagai regulator apoptosis pada sel (sebagai pro apoptosis). Mereka terletak di dalam mitokondria dan retikulum endoplasma dan bekerja mengaktifkan caspase sehingga terjadi proses kematian sel (Sujatmiko *et al.*, 2015).

Sementara itu terjadi juga penurunan antioksidan pada jaringan plasenta ditambah lagi dengan kondisi stres oksidatif sehingga menyebabkan dalam jaringan ini terjadi peningkatan apoptosis bahkan pada akhirnya akan mengalami nekrosis. Berkurangnya atau buruknya fungsi plasenta pada PE menyebabkan peningkatan apoptosis, dalam hal ini Hsp 70 berperan juga sebagai anti apoptosis yaitu dengan cara menghambat aktivitas Bax untuk mencegah pelepasan proapoptosis faktor seperti *sitokrom-c* dari mitokondria (Ekambaram dan Lavanya, 2011).

Pada PE terjadi kegagalan adaptasi imunologik yang tidak terlalu kuat, maka konsepsi tetap berjalan tetapi sel-sel trofoblas tidak mampu melakukan invasi arteri spiralis supaya berdilatasi, sehingga tonus pembuluh darah tetap tinggi dan terjadi vasokonstriksi. Keadaan ini menyebabkan pembuluh darah maternal tidak dapat memenuhi kebutuhan darah sirkulasi, sehingga akan terjadi iskemia dan merangsang terjadinya apoptosis plasenta (Keman, 2009)

Kegagalan invasi trofoblas, vaskulitis, trombosis dan iskemia dari plasenta menyebabkan preeklampsia. Plasenta yang iskemia menyebabkan hipoksia sehingga terjadi disfungsi sel endotel. Trofoblas yang terpapar hipoksia secara invitro menyebabkan terjadinya proses apoptosis yang berlebihan, sehingga invasi sitotrofoblas ke dalam miometrium menjadi dangkal dan remodeling arteri spiralis pada uterus terjadi tidak lengkap. Pada akhirnya akan menimbulkan iskemia uteroplasenter. Hipoksia pada plasenta ini juga menimbulkan apoptosis, terutama melalui jalur intrinsik (Ishihara *et al.*, 2002).

Hipoksia menyebabkan aktifitas antiapoptosis Bcl-2 famili terhambat sehingga mengaktifkan peran dari protein Bax yang meningkatkan permeabilitas membran mitokondria terhadap sitokrom-c yang selanjutnya berikatan dengan APAF-1 dan membentuk apoptosome yang akan mengaktifkan caspase 9. Caspase 9 selanjutnya akan mengaktifkan caspase 3 sehingga terjadilah proses kematian sel (Ishihara *et al.*, 2002).

Pada kondisi normal dapat terjadi apoptosis sel sinsitiotrofoblas yang dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop elektron berupa gambaran khas, seperti hilangnya mikrovili dan menggembungnya membran plasenta. Proses apoptosis ini berperan dalam pergantian sitotrofoblas dan pembaruan permukaan sinsitium dari vili korialis.

Proses apoptosis selain terjadi pada sinsitiotrofoblas juga pada sitotrofoblas. Proses ini mulai meningkat dengan makin tuanya usia kehamilan karena adanya penurunan ekspresi protein Bcl-2 (Ishihara et al., 2002). Tingginya kadar ekspresi protein Bcl-2 pada sinsitiotrofoblas dapat mencegah proses apoptosis pada trofoblas (Allaire et al., 2000).

Studi lain mengungkapkan bahwa pada kelompok preeklampsia dengan apoptosis indeks meningkat terdapat komplikasi yaitu 1 kasus KMK (Kecil Masa Kehamilan) dan pada AI positif terdapat 3 kasus KMK (Teguh et al., 2010). Peneliti lain juga melaporkan bahwa pada preeklampsia dapat terjadi peningkatan AI di plasenta dibanding kehamilan normal, namun tidak terdapat perbedaan ekspresi Bax atau Bcl-2 (Allaire et al., 2000). Teguh et al (2010) juga melaporkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara AI dengan peningkatan tekanan darah dan BB lahir bayi pada penderita preeklampsia dan kehamilan normal.

Pemeriksaan patologi anatomi plasenta pada PE memperlihatkan adanya infark dan sklerotik yang menyebabkan penyempitan pembuluh darah arteri dan arteriole dengan karakteristik kurangnya invasi endovaskuler sitotrofoblas dan remodeling arteri spiralis yang tidak sempurna. Hal ini disebabkan oleh proses apoptosis yang terjadi berlebihan pada perkembangan dan diferensiasi trofoblas (Teguh, 2010).

Sel yang mengalami apoptosis ditemukan juga pada plasenta kehamilan normal baik pada sisi maternal maupun sisi fetus. Proses apoptosis berperan pada terjadinya penempelan dan invasi trofoblas, proses transformasi arteri spiralis, diferensiasi trofoblas, dan proses toleransi imun pada antigen paternal yang diekspresikan oleh sel trofoblas (Teguh, 2010).

## **6. Peranan ekspresi Bcl-2 pada kejadian Preeklampsia**

Fungsi dari Bcl-2 sebagai antiapoptosis akan memblokir program kematian sel dan memperpanjang waktu hidup sel, ekspresi berlebih dari Bcl-2 ini melindungi limfosit dari apoptosis dan memungkinkan sel tersebut bertahan untuk periode yang lama. Bcl-2 juga mempunyai fungsi lain sebagai suatu antioksidan untuk melindungi mitokondria (Ghobrial et al., 2005).

Berlebihnya Bax (proapoptotik) selalu ditemukan dengan aktifitas melawan Bcl-2 sehingga mempercepat kematian sel. Rasio anti dan proapoptotik protein keluarga Bcl-2 menentukan secara keseluruhan sel sensitif atau resisten terhadap berbagai stimulus apoptosis.

Keseimbangan antara Bcl-2 dan Bax dipercaya memainkan peranan penting untuk memelihara keseimbangan kelangsungan hidup



dan kematian sel dan menjadi esensi dari determinasi potensi apoptosis dari sel oleh karenanya aktivitas apoptosis yang tinggi selalu dihubungkan dengan tingkat ekspresi rasio Bcl-2/Bax yang rendah (Ghobrial *et al.*, 2005).

Seiring dengan itu peneliti lain juga mengungkapkan bahwa ekspresi protein Bax dan Bak pada preeklampsia berat lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normotensi dan protein Bax lebih berpengaruh pada preeklampsia dibanding dengan protein Bak (Sujatmiko *et al.*, 2015). Sejalan dengan hal ini juga ditemukan oleh Arianto (2015), bahwa ekspresi protein Bcl-2 dan Bcl-xl lebih rendah pada kehamilan preeklampsia berat dibandingkan kehamilan normotensi.

Peneliti lain melaporkan terjadi penurunan ekspresi protein Bcl-2 sinsitiotrofoblas pada sel plasenta penderita preeklamsia berat dan pertumbuhan janin terhambat (PJT) dibandingkan plasenta kehamilan normal (Ishihara, 2002). Penelitian lain juga menunjukkan peningkatan proses apoptosis sel sinsitiotrofoblas plasenta penderita preeklampsia dan PJT, sehingga penurunan ekspresi protein Bcl-2 pada keadaan ini akan meningkatkan proses apoptosis (Teguh, 2010).

Pada PE terjadi penyempitan lumen arteri spiralis sampai diameter rata-rata 200 pm (pikometer), sedangkan pada kehamilan normal 500 pm, selain itu juga didapatkan perfusi plasenta sebesar 2 – 3 kali lebih rendah (Van Wijk *et al.*, 2000). Kegagalan remodeling ini menghalangi respons yang adekuat terhadap meningkatnya aliran darah sejalan dengan perkembangan kehamilan yang akan menyebabkan penurunan perfusi uteroplasenta sehingga terjadi iskemia plasenta. Seperti telah diketahui kegagalan remodeling menginduksi radikal bebas dan

menyebabkan peningkatan membran mitokondria sehingga terjadi penurunan ekspresi Bcl-2 serta terjadinya apoptosis (Ishihara, 2002).

## **7. Pencegahan Preeklampsia**

Berdasarkan teori-teori yang telah dijelaskan di atas dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa PE merupakan sindroma dari beberapa kelainan yang timbul. Namun yang menarik adalah ternyata peranan stres oksidatif dan ketidakseimbangan oksidan menimbulkan perubahan-perubahan pada tingkat molekuler, maka berkembang saat ini suatu teori bahwa sebenarnya PE dapat dicegah meskipun belum untuk seluruhnya (Matsubara *et al.*, 2015).

Pencegahan yang dilakukan pada ibu hamil yang mempunyai risiko PE, salah satunya adalah secara nonmedikal yaitu dengan tidak memberikan obat. Cara yang paling sederhana adalah melakukan tirah baring walaupun belum terbukti namun masih diperlukan bagi mereka yang mempunyai risiko tinggi PE, diet dengan penambahan suplemen

yang mengandung (a) minyak ikan yang kaya dengan asam lemak tidak jenuh, misalnya omega-3 PUFA, (b) antioksidan : vitamin C, vitamin E,  $\beta$ -karoten, asam lipoik dan (c) elemen logam berat : zinc, magnesium, dan kalsium (Angsar, 2012). Pencegahan pada PE yang dimaksud dalam penelitian ini adalah salah satunya dengan pemberian suplemen antioksidan yaitu EVOO (Extra Virgin Olive Oil).

EVOO berasal dari buah tumbuhan zaitun yang telah matang berwarna ungu kehitaman, dihasilkan dari perasan pertama dengan cara *cold pressing* yang memiliki tingkat keasaman kurang dari 1 persen berdasarkan standard “European Union” (EU Directives Union 2568/91 dan 656/95) (Uceda dan Hermoso, 1997). Dianjurkan untuk kesehatan dan dapat diminum secara langsung. Selain EVOO, minyak zaitun (*Olive oil*) terdiri atas beberapa jenis, diantaranya:

1. Virgin Olive Oil : hampir menyerupai extra virgin olive oil, Bedanya, virgin olive oil diambil dari buah yang lebih matang dan punya tingkat keasaman lebih tinggi.
2. Refined Olive Oil : merupakan minyak zaitun yang berasal dari hasil penyulingan. Jenis ini tingkat keasamannya lebih dari 3,3 persen. Aromanya kurang begitu baik dan rasanya kurang menggugah lidah.
3. Pure Olive Oil : merupakan minyak zaitun paling banyak dijual di pasaran. Warna, aroma, dan rasanya lebih ringan daripada *virgin olive oil*.
4. Extra Light Olive Oil : jenis ini merupakan campuran minyak zaitun murni dan hasil sulingan, sehingga kualitasnya kurang begitu baik. Namun, jenis ini cukup populer karena harganya lebih murah daripada jenis lainnya (Kinanthi, 2009).

## **8. Extra Virgin Olive Oil (EVOO) sebagai antioksidan.**

EVOO adalah hasil sari buah zaitun yang didapat dengan penggunaan teknologi *cold-press*, mengubah senyawa kimia alam dari buah menjadi minyak. Tehnik ini akan menghasilkan komponen buah memiliki pengaruh untuk menekan radikal bebas, karena mengandung struktur zat fenol yang merupakan senyawa polar. Buah zaitun yang tingkat kematangannya cukup mengandung suatu zat yang disebut *oleuropein* (salah satu kandungan zat aktif pada buah zaitun) maka dengan bantuan enzim dan nonenzim akan dihidrolisis menghasilkan beberapa komponen yang lebih sederhana yaitu hidrotirosol, *oleuropein*, *aglikon* dan *ligstrosida*.

Dalam hal ini hasil penelitian menunjukkan bahwa manusia atau hewan yang diberi polifenol atau fenol dari EVOO menunjukkan aktifitas hidrotirosol sebagai antioksidan cukup tinggi setelah mengkonsumsinya (Lopez *et al.*, 2008). Pada penelitian selanjutnya bahwa pemberian EVOO dengan dosis 50 ml pada orang tua yang sehat

secara signifikan dapat menurunkan total kolesterol, hal ini karena kandungannya yang kaya akan polifenol. Selain itu peneliti ini juga mengungkapkan bahwa dengan mengonsumsi EVOO sehari-hari ditemukan efek yang positif terhadap penurunan profil lipid, dan penurunan SOD, aktifitas GPx (Lopez *et al.*, 2013) secara signifikan. Penelitian yang serupa juga telah dilakukan pada orang dewasa muda dengan pemberian EVOO 50 ml perhari selama 30 hari ternyata dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah, total kolesterol dan tekanan darah secara signifikan (Lopez *et al.*, 2012).

Studi lain mengungkapkan bahwa EVOO kemungkinan juga berperan secara tidak langsung melawan stres oksidatif dengan cara memodulasi ekspresi gen dan aktivitas enzim, yang mana mampu memperbanyak antioksidan enzimatis sebagai mekanisme pertahanan tubuh. Dalam hal ini EVOO memiliki nilai nutrisi yang cukup tinggi. Penelitian ini membuktikan pada tikus bahwa mengonsumsi EVOO dengan dosis sedang selama 3 hari berturut-turut mampu mengurangi stres oksidatif di pankreas, oleh karena itu perlu menjadi pertimbangan untuk mengembangkannya bagi kesehatan manusia (Lopez *et al.*, 2008).

Minyak zaitun jenis EVOO mengandung 17,3 % lemak jenuh (*Saturated acid*) yaitu asam palmitat dan asam stearat, 66,2 % lemak tak jenuh adalah (*Monounsaturated acid*) utamanya (asam oleat), dan 15 % *poliunsaturated acid*, sementara itu EVOO nya sendiri mengandung jumlah fenol yang cukup banyak sekitar 579,2 mg/kg dan beberapa  $\alpha$ -tokoferol. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa fenol dan tokoferol merupakan antioksidan (Nakbi *et al.*, 2010).

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa kandungan MUFA yang terdapat dalam EVOO dapat melindungi jaringan hepar dari kerusakan karena proses oksidasi yaitu dengan cara mencegah aktivitas peroksida lipid yang berlebihan. Mekanisme kerjanya dengan cara mempertahankan marker enzim-enzim pada serum juga aktivitas enzim-enzim antioksidan hepar pada konsentrasi mendekati normal. Selain itu adalah fraksi/bagian hidrofilik dari minyak zaitun ternyata terbukti efektif untuk mengurangi stres oksidatif dan dalam hal ini ekstra hidrofilik itulah yang sangat potensial memberikan efek antioksidan langsung pada sel-sel hepar (Nakbi *et al.*, 2010).

Selain itu penelitian lain juga mengungkapkan bahwa kandungan MUFA pada EVOO dapat menurunkan rerata kadar kolesterol tikus putih dengan pemberian 0,9 g/hari (Nugraheni, 2012). Lebih lanjut Keita (2013) mengungkapkan bahwa EVOO juga mampu memperbaiki fungsi endotelial pada tikus yang dimanipulasi menjadi diabetes. Selain itu, ada peneliti lain yang melakukannya pada tikus mengungkapkan bahwa EVOO mampu mengubah struktur biokimia pada otak dan perilaku hewan coba tersebut (Pitozzi *et al.*, 2010). Beberapa mekanisme

polifenol dari EVOO sangat penting untuk melindungi dan memberikan efek yang menguntungkan sebagai antioksidan yang diinginkan. Mengonsumsi EVOO tiga kali sehari dapat mengurangi stres oksidatif pada pankreas, jadi penggunaan minyak ini sangat menguntungkan untuk diformulasikan, karena dapat memberikan hasil yang signifikan untuk kesehatan tubuh manusia (Lopez *et al.*, 2008).

Dengan pemberian EVOO diharapkan dapat mencegah terbentuknya peroksida lipid. Seperti diketahui peroksida lipid akan merusak struktur sel seperti protein membran dan nukleus, juga secara perlahan peroksida lipid akan menghambat prostasiklin sintetase dan meningkatkan kerja enzim siklooksigenase yang menyebabkan peningkatan produksi tromboksan. Produksi tromboksan yang meningkat akan mengakibatkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh darah (Yung *et al.*, 2014).

## **BAB 3 HASIL PENELITIAN**

### **1. EVOO menurunkan kadar MDA plasma pada preeklampsia**

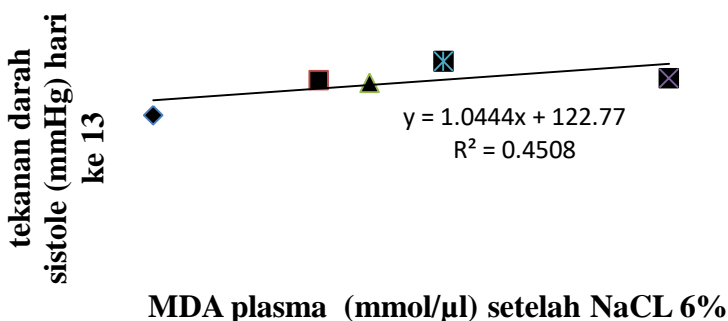
Setelah invasi trofoblas ke dalam jaringan desidua, maka terjadi pelepasan debris trofoblas di dalam sirkulasi darah. Pelepasan bahan-bahan asing tersebut dapat meningkatkan ROS akibat terjadinya stres oksidatif namun dapat diredam oleh mekanisme pertahanan sel secara alami karena tubuh memiliki sistem proteksi terhadap radikal bebas yaitu SOD, katalase dan glutathion peroksidase (Nelawati *et al.*, 2016). Apabila senyawa-senyawa tersebut tidak diredam, maka oksigen akan berbalik menjadi racun bagi tubuh sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif menghasilkan oksidan (disebut juga radikal bebas). Salah satu oksidan penting yang dihasilkan plasenta tersebut adalah radikal hidroksil yang sangat toksis (akan sangat meningkat jika terjadi plasenta iskemia) dapat merusak membran sel, mengubah asam lemak tidak jenuh menjadi peroksida lipid dan produksi akhirnya adalah MDA (Langseth, 1994; Suryohudoyo, 2000; Brooks *et al.*, 2005).

Mekanisme tersebut terjadi pada kondisi kehamilan normal, namun rerata kadar MDA plasma meningkat dari yang biasanya karena proses implantasi tersebut maka produksi oksidan lebih banyak. Hal ini dianggap karena pada kehamilan produksi oksidan lebih besar dari biasanya adalah suatu proses normal (Hubel, 1989; Zeeman, 1992). Subakir *et al* (2008) juga menyatakan bahwa tingginya kadar MDA tersebut kemungkinan karena efek polusi atau hal-hal lain yang menyebabkan pembentukan senyawa radikal bebas meningkat.

Pada kelompok tikus putih bunting yang dimodifikasi menjadi preeklampsia diketahui terjadi peningkatan tekanan darah. Akibat hipertensi itu sendiri dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas, sehingga terjadi reaksi oksidasi berantai (ROS) yang berpotensi menjadi sitotoksik, mengakibatkan terjadinya peningkatan penebalan endotelial dan otot polos (Harjanto, 2004; Roseta *et al.*, 2014; Yudomustopo, 2015). Sumber ROS itu sendiri ternyata didapat dari respirasi mitokondria yang terdapat pada pembuluh darah disebabkan karena adanya ET-1 (Roseta *et al.*, 2014). Selain itu radikal bebas, juga dapat menyebabkan kerusakan seluruh membran biologis dengan cara menyerang protein, lipid, asam nukleat dan glikonjugat. Radikal bebas ini dapat menyebabkan kerusakan seluruh membran biologis dengan cara menyerang protein, lipid, asam nukleat dan glikonjugat. Dalam hal ini proses oksidasi asam lemak tidak jenuh berantai panjang (PUFA) atau yang dikenal dengan sebutan Peroksidasi lipid pada membran sel menghasilkan radikal peroksida lipid, hidroperoksida dan produk aldehida misalnya MDA dan jika kadarnya meningkat maka sel mengalami stres oksidasi (Sharma *et al.*, 2003; Roseta *et al.*, 2014). Hal inilah yang

diduga menyebabkan kenaikan kadar MDA plasma pada tikus bunting yang diberikan NaCl 6%.

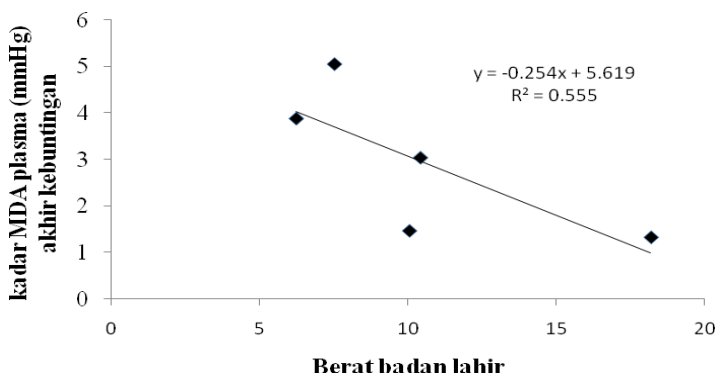
Peroksidasi lipid atau lemak sebenarnya adalah suatu proses normal yang terjadi dalam seluruh sel dan jaringan. Proses ini melibatkan perubahan oksidasi asam lemak tak jenuh menghasilkan produk utama yang dikenal dengan peroksida lipid. Keadaan yang dapat menstimulasi peroksida lemak yaitu adanya peningkatan radikal bebas seperti yang terjadi pada kehamilan yang mengalami preeklampsia (Candra S *et al.*, 2007). Lebih lanjut Candra *et al* (2007) menjelaskan bahwa kadar MDA plasma pada PE menunjukkan 4,5 lebih tinggi konsentrasinya dari pada kehamilan normal. Sementara itu, dalam penelitian ini kadar MDA plasma 2,05 sampai 4,27 kali lebih tinggi dari kontrol setelah diinduksi NaCl 6%. Peneliti lain mengungkapkan bahwa semakin tinggi kadar MDA pada kehamilan maka makin parah derajat preeklamsianya (Suparman E, 2012). Hal ini juga terbukti berdasarkan uji korelasi *Spearman* didapatkan bahwa  $P = 0,026$ , berarti ada hubungan antara peningkatan tekanan darah dengan kadar MDA plasma, meskipun hubungan ini tidak terlalu kuat yaitu sekitar 44,4%. Model linear dari hubungan ini dapat dilihat pada 2 berikut ini.



Gambar 2. Hubungan kadar MDA plasma dengan tekanan darah sistole

Hubungan kadar MDA plasma setelah pemberian NaCl 6% dengan tekanan darah sistole model persamaannya adalah  $Y = 1,044x + 122,7$  dengan nilai  $R^2 = 0,450$ . Model ini mengisyaratkan bahwa semakin tinggi kadar MDA plasma akan semakin tinggi tekanan darah sistole. Namun model ini hanya menggambarkan hubungan kadar MDA plasma dan tekanan darah sistole sebanyak 45%, berarti 55% lagi ada faktor lain yang berpengaruh tapi belum terungkap dalam penelitian ini.

Kadar MDA plasma tikus putih yang semakin tinggi hingga menjelang kelahiran fetus ternyata berpengaruh terhadap rerata BBL, hal ini berdasarkan hasil uji Spearman  $P = 0,010$  dengan kekuatan hubungan  $-0,507$  atau 50,7% (kuat). Garis persamaannya seperti Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Hubungan BBL dengan kadar MDA plasma

Hubungan BBL dan kadar MDA plasma berdasarkan model persamaan  $Y = -0,254x + 5,619$  dengan nilai  $R^2 = 0,555$ . Model persamaan ini menggambarkan hasil hubungan yang negatif, maka dapat diartikan bahwa semakin tinggi kadar MDA plasma induk tikus maka kemungkinan fetus mengalami BBLR. Namun model ini hanya menggambarkan hubungan kadar MDA plasma dan BBL sebesar 55,5% berarti 44,5% lagi ada faktor lain yang berpengaruh tapi belum terungkap dalam penelitian ini. Hasil penelitian ini sejalan yang ditemukan oleh Yudomustopo (2015) bahwa kelompok perlakuan P1 (model PE) dengan kadar MDA yang tinggi, 68% memiliki fetus dengan BBLR, sedangkan pada kontrol hampir keseluruhan memiliki BBL di atas rata-rata. Faktor lain yang berpengaruh terhadap berat badan lahir rendah dalam penelitian ini diduga kemungkinan disebabkan oleh hipertensi dan stres oksidasi menyebabkan kerusakan di membran sel endotel plasenta sehingga asupan nutrisi tidak adekuat pada fetus tikus putih.

Setelah tikus putih dipastikan hamil, maka pada hari ke 13 sampai dengan 19 kebuntingan, kelompok perlakuan diberi EVOO. Setelah pemberian EVOO terjadi penurunan rerata kadar MDA plasma yang signifikan terjadi pada kelompok perlakuan yang diberi EVOO dengan dosis pemberian yang sudah ditentukan. Hal ini dibuktikan dari hasil uji *Kruskal Wallis* diketahui  $P = 0,036$  yang berarti bahwa ada pengaruh yang signifikan terhadap kadar MDA plasma setelah pemberian EVOO. Hasil uji *Mann Whitney* diketahui bahwa pada kelompok P2 (model PE + EVOO: 0,38 mL/kgBB/hari) memiliki rerata kadar MDA plasma yang

paling rendah dari kelompok perlakuan lainnya. Hasil uji Wilcoxon diketahui bahwa ada penurunan rerata kadar MDA plasma yang signifikan dari sebelumnya setelah pemberian EVOO (dapat diperhatikan pada Gambar 3). Hasil penelitian ini hampir sama dengan penelitian Meilina (2017) pada tikus wistar jantan yang dipaparkan asap rokok selama 14 hari dan diberi EVOO ternyata terjadi penurunan kadar MDA yang signifikan dari pretest  $8,8838 \text{ nmol/mL} \pm 0,63541$  menjadi  $3,4925 \text{ nmol/mL} \pm 0,85058$  saat posttest.

Penurunan rerata kadar MDA plasma setelah pemberian EVOO, diduga kandungan zat fenol yang terdapat di dalamnya merupakan senyawa polar didalamnya mampu untuk menekan radikal bebas. EVOO juga mengandung komponen sederhana lainnya yaitu hidroksitirosool sebagai antioksidan yang cukup tinggi daripada sumber antioksidan lainnya seperti vitamin E dan C (Lopez, *et al.*, 2008). Hal ini sejalan dengan penelitian lainnya bahwa kandungan  $\alpha$  tokoferol dalam EVOO mencapai 90% ditambah lagi dengan kandungan fenol yang cukup banyak sekitar 579,2 mg/kg dan hal ini merupakan antioksidan (Nakbi *et al.*, 2010).

Mekanisme kerja EVOO untuk menurunkan kadar MDA plasma adalah sebagai antioksidan golongan pemutus rantai. Dalam hal ini  $\alpha$ -tokoferol yang terkandung di dalamnya berfungsi memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas dengan cara memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang telah mengalami peroksidasi sehingga membentuk senyawa baru yang lebih stabil, oleh karena itu  $\alpha$ -tokoferol merupakan bentuk tokoferol yang paling aktif dan paling penting untuk aktivitas biologi tubuh (Murray *et al.*, 2000; Winarsi, 2011).  $\alpha$ -tokoferol mengendalikan peroksida lemak dengan menyumbangkan ion hidrogen ke dalam reaksi, sehingga mengubah radikal peroksil (hasil peroksidasi lipid) menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, menyekat aktivitas tambahan yang dilakukan oleh peroksida, pada akhirnya akan memutus reaksi berantai dan bersifat membatasi kerusakan (Murray *et al.*, 2000; Roziana *et al.*, 2015).

Selain itu EVOO diduga juga berperan secara tidak langsung melawan stres oksidatif dengan memodulasi ekspresi gen dan aktivitas enzim, sehingga dapat memperbanyak antioksidan enzimatik seperti SOD, GPx, katalase. Dalam hal ini EVOO memiliki nilai nutrisi yang cukup tinggi dan pada penelitian lainnya terbukti dengan pemberian selama 3 hari berturut-turut ternyata mampu mengurangi stress oksidatif di pankreas (Lopez *at al.*, 2008).

Selain sebagai antioksidan alami yang membuang radikal bebas, ternyata tokoferol di dalam jaringan dapat menekan terjadinya oksidasi asam lemak tak jenuh sehingga mempertahankan fungsi membran. Tokoferol bertindak sebagai reduktor dan menangkap radikal bebas



tersebut, perannya tersebut disebut sebagai *scavenger*. *Scavenger* lainnya adalah vitamin C, enzim glutation reduktase, dismutase dan peroxidase, yang bersifat larut dalam air. *Scavenger* yang larut dalam lemak adalah vitamin E atau tokoferol dan  $\beta$  karoten (Murray *et al.*, 2000). Winarni (2011) menjelaskan bahwa kandungan tokoferol yang terdapat dalam EVOO sebagai antioksidan berfungsi sebagai donor ion hydrogen yang mampu mengubah radikal bebas menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak.

Penelitian lain juga mengungkapkan bahwa kandungan MUFA yang terdapat dalam EVOO dapat melindungi jaringan hepar dari kerusakan karena proses oksidasi yaitu dengan cara mencegah aktivitas peroksida lipid yang berlebihan. Mekanisme kerjanya dengan cara mempertahankan marker enzim-enzim pada serum juga aktivitas enzim-enzim antioksidan hepar pada konsentrasi mendekati normal (Nakbi *et al.*, 2010). Kelebihan dari EVOO yang lain adalah kandungan hidroksitirozol sebagai antioksidan tidak rusak atau tetap dipertahankan walaupun telah dicerna (Lopez, 2008).

Berkaitan dengan hal tersebut, sejalan dengan yang didapatkan dalam penelitian ini bahwa penurunan rerata kadar MDA plasma setelah pemberian EVOO sekitar 36,02% sampai dengan 53,12%. Seperti telah diketahui bahwa  $\alpha$  tokoferol yang dikandung oleh EVOO merupakan salah satu nutrisi yang bekerja sebagai antioksidan yang larut dalam lemak. Senyawa antioksidan ini mencegah terjadinya oksidasi dalam membran sel dengan cara (1) melepas hydrogen dari antioksidan, (2) melepas elektron dari antioksidan, (3). Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan dan (4) pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Winarti, 2010).

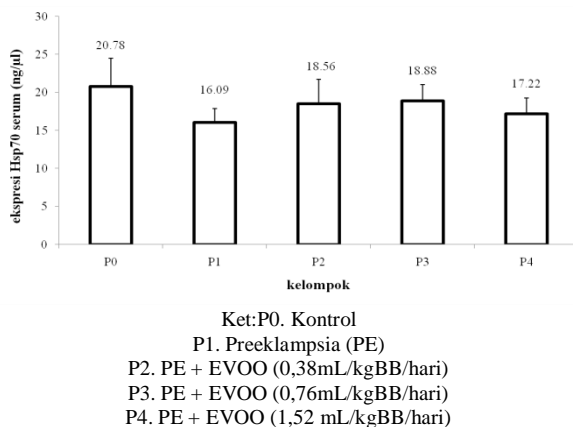
Pemberian EVOO dosis sedang dan tinggi di dalam penelitian ini tidak menjadikan rerata kadar MDA plasma lebih rendah, namun justru lebih tinggi dari dosis rendah. Hal ini sejalan apa yang telah dikemukakan oleh Sulistyowati (2006) yang dikutip dari Hillbom bahwa pemberian antioksidan dalam kadar rendah mampu menghambat oksidasi molekul target sehingga dapat melawan atau menetralkan radikal bebas. Selain itu juga diduga bahwa  $\alpha$  tokoferol hanya sekitar 40 – 60% saja dari makanan yang dapat diserap oleh usus. Jadi peningkatan jumlah yang dikonsumsi akan menurunkan persentase yang diserap. Selain itu,  $\alpha$  tokoferol disimpan di dalam jaringan adipose, otot dan hati. Di dalam hati  $\alpha$  tokoferol diikat oleh  $\alpha$ -TPP (Tokoferol Transfer Protein). Sebagian dari  $\alpha$  tokoferol menjalankan fungsinya sebagai antioksidan, yang lainnya disimpan di dalam hati akan teroksidasi menjadi tokoferil (suatu tokoferol bentuk radikal), meskipun bentuk ini akan direduksi kembali menjadi tokoferol oleh kinerja sinergi dari antioksidan yang lain seperti vitamin C dan glutation (Winarsi, 2011). Oleh karena itu dapat dipahami dosis pemberian EVOO sedang maupun tinggi menyebabkan tokoferil

meningkat sehingga terjadi peroksidase asam lemak yang pada akhirnya kadar MDA plasma semakin meningkat, jika dibandingkan dengan pemberian dosis rendah.

Kelemahan dari penelitian itu tidak dilakukan penggabungan pemberian EVOO dengan antioksidan lainnya seperti vitamin C atau glutathion dan juga tidak diketahuinya antioksidan mana yang memegang peranan utama dalam menurunkan kadar MDA plasma pada model preeklampsia apakah fenol,  $\alpha$  tokoferol, flavanoid, squalene, pigment atau  $\beta$  karoten karena penelitian ini tidak memeriksa kandungan fitokimia dari EVOO tersebut.

## 2. Pengaruh EVOO terhadap ekspresi protein Hsp70 pada preeklampsia

Pengukuran ekspresi protein Hsp70 serum dilakukan pada hari ke 20 setelah pemberian EVOO. Pengambilan darah serum tikus putih langsung dari *intracardia* segera dilakukan setelah dianestesi. Setelah hasil ekspresi protein Hsp70 serum terkumpul maka data dianalisis dengan uji *Anova*. Berdasarkan uji *Anova* diketahui  $P = 0,109$  berarti tidak ada pengaruh pemberian EVOO terhadap rerata ekspresi protein Hsp70 antara kelompok kontrol dan perlakuan tikus putih (Gambar 4)



Gambar 4. Pengaruh pemberian EVOO terhadap ekspresi protein Hsp70 tikus putih bunting

Berdasarkan Gambar 4 diketahui kelompok P1 memiliki ekspresi Hsp70 paling rendah, dan pada kelompok P0 diketahui lebih tinggi dari kelompok lainnya. Subakir *et al* (2008) menemukan pada kultur sel-sel trophoblast plasenta manusia dengan PE berat, Hsp70 lebih rendah

( $3,78 \pm 3,07$  nmol/ml) dari pada PE ringan ( $10,15 \pm 12,39$  nmol/ml) dan pada kehamilan normal ekspresi Hsp70 diketahui  $3,76 \pm 4,65$  nmol/ml.

Beberapa penelitian yang berbeda seperti Kasan *et al* (2015) mendapatkan ekspresi Hsp70 serum pada kehamilan normal  $\leq 12,5$  ng/ $\mu$ l. Fukushima *et al* (2005) mendapatkan bahwa rerata Hsp70 serum pada kehamilan normal  $21,9 \pm 5,3$  ng/ $\mu$ l. Menurut Kasan (2015) tingginya rerata ekspresi protein Hsp70 serum belum dapat dipastikan bahwa terjadi juga peningkatan yang sama di tempat lain seperti plasenta, amnion karena Hsp70 serum yang diperiksa berada dalam intraseluler, sehingga perlu membandingkan kadarnya di tempat lain serta dengan jumlah sampel yang lebih banyak lagi. Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut diketahui bahwa nilai normal ekspresi Hsp70 di serum lebih tinggi dari plasenta. Berhubung penulis belum mendapatkan nilai ekspresi protein Hsp70 serum pada binatang coba tikus, maka dalam hal ini diambil acuan berdasarkan hasil penelitian lain sebelumnya pada ibu hamil normal. Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa ekspresi Hsp70 serum pada kelompok kontrol tidak jauh berbeda apa yang didapatkan oleh Fukushima *et al* (2005) yaitu  $20,78 \pm 3,73$  nmol/ml.

Tingginya ekspresi Hsp70 serum merupakan sebagai bentuk perlawanan terhadap apoptosis yang terjadi (anti apoptosis), selain itu dapat meredam senyawa radikal dan mengatur homeostasis fungsi sel-sel trofoblast plasenta agar lebih baik. Kondisi demikian terjadi sebagai awal dari PE ringan, dan hal ini akan berbeda dengan PE berat yang mengakibatkan Hsp70 lebih rendah sehingga menyebabkan fungsi plasenta terganggu (Subakir *et al.*, 2008; Molvarec *et al.*, 2006).

Ekspresi Hsp70 pada kelompok P0 yang tinggi dari lainnya diduga kemungkinan merupakan kondisi normal seiring dengan bertambahnya usia kebuntingan tikus putih tersebut, karena pengukurannya dilakukan saat sebelum melahirkan. Hal ini berdasarkan hasil penelitian Molvarec *et al* (2010) yang dilakukan pada hewan coba ditemukan peningkatan Hsp90 dan Hsp70 dalam mRNA di miometrium dan endometrium, bersamaan juga dengan peningkatan glukokortikoid yang berperan untuk terjadinya persalinan normal. Dalam hal ini peningkatan Hsp90 dan Hsp70 tersebut boleh jadi untuk menghambat reseptor progesteron dan menstimulus fungsi reseptor estrogen di uterus sehingga proses persalinan terjadi.

Beberapa pendapat yang berbeda berdasarkan hasil penelitian lainnya bahwa kadar Hsp70 serum pada kehamilan normal menurut Molvarec *et al* (2010) meningkat secara bermakna seiring dengan bertambahnya umur kehamilan. Fukushima *et al* (2005) menyatakan tidak ada perubahan yang bermakna kadar Hsp70 selama kehamilan. Lebih lanjut Molvarec *et al* (2010) menyatakan bahwa peningkatan Hsp70 di tingkat intra seluler maupun ekstra seluler dibutuhkan pada akhir kehamilan untuk menginduksi proses kelahiran dimulai.

Seperti telah diketahui bahwa pada kehamilan normal, ada peningkatan produksi radikal bebas dan peroksida lipid pada akhir kehamilan jika dibandingkan dengan kondisi tidak hamil. Pada waktu yang bersamaan, biasanya terjadi juga peningkatan antioksidan selama masa kehamilan, bertujuan untuk menjaga keseimbangan oksidan selama masa kehamilan, akan tetapi kehamilan patologi seperti PE faktanya terjadi kelebihan produksi ROS yang diduga menjadi salah satu penyebab utama terjadinya kegagalan reperfusi pada perkembangan plasenta, hal inilah yang menjadi akumulasi debris-debris plasenta pada jalur apoptosis (Ekambaram dan Geetha, 2008). Debris-debris plasenta ini yang merupakan salah satu penyebab terjadinya gangguan keseimbangan oksidan dan antioksidan di dalam tubuh, sehingga Hsp70 terinduksi untuk mencegah apoptosis tidak terjadi secara berlebihan.

Peningkatan ekspresi protein Hsp70 berperan serta dalam regulasi siklus sel diketahui turut membantu proses pelipatan protein pada kondisi stres dengan kemampuannya memperbanyak jumlah ikatan peptida dan peptida kompleks yang lebih stabil sehingga dapat mencegah proses apoptosis berlebihan (Ekambaram dan Lavanya, 2011). Oleh karena itu peningkatan ekspresi protein Hsp70 pada serum atau jaringan plasenta serta sel endotel plasenta mempunyai peranan dalam menghadapi keadaan stres oksidatif (Ekambaram, 2011).

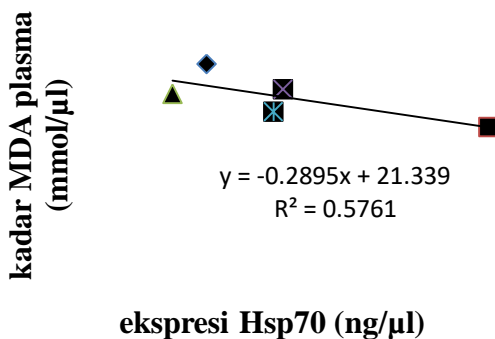
Selain itu, ekspresi Hsp70 serum yang tinggi pada kelompok kontrol dalam penelitian ini dari lainnya diduga karena respon untuk mempertahankan homeostasis di ekstra seluler tikus bunting masih tinggi, hal ini sama seperti yang telah dikemukakan oleh Fukushima *et al* (2005). Keterlibatan Hsp70 serum juga diduga untuk mempertahankan fungsi plasenta tetap adekuat sehingga dapat memberikan nutrisi yang cukup pada fetus yang dapat diamati pada kelompok kontrol bahwa seluruh fetus yang dilahirkan hidup dengan BBL di atas rata-rata, berbeda dengan kelompok lainnya, terutama pada kelompok P1 yang memiliki fetus dengan BBL lebih rendah dari lainnya.

Kadar ekspresi Hsp70 pada plasenta kehamilan normal berperan menjaga homeostasis fungsi sel dan tekanan darah tetap normal, jika tidak ada kelainan pembentukan pembuluh darah plasenta di awal kehamilan sehingga vaskularisasi plasenta tidak mengalami konstiksi, menyebabkan aliran darah ke plasenta cukup (Subakir *et al.*, 2008). Oleh karena itu dalam penelitian ini, diduga bahwa Hsp70 serum yang tinggi pada kelompok kontrol bukanlah merupakan gejala dari preeklampsia namun berfungsi sebagai respon untuk mempertahankan homeostasis di plasenta juga untuk menstimulus peningkatan estrogen pada proses persalinan.

Kelompok P1 yang merupakan model preeklampsia dalam penelitian ini memiliki ekspresi Hsp70 paling rendah dari kelompok lainnya. Hal ini sama apa yang telah ditemukan oleh Subakir *et al* (2008),

tetapi berbeda dengan yang ditemukan oleh Ekambaram (2011) bahwa semakin berat derajat PE maka semakin meningkat ekspresi Hsp 70 di plasenta. Oleh karena penelitian ini tidak mengukur ekspresi Hsp70 di plasenta maka tidak dapat diketahui dengan pasti apakah terjadi juga penurunan atau peningkatan ekspresi protein tersebut.

Jika diambil patokan dari Subakir *et al* (2008) bahwa pada PE berat ekspresi Hsp70 lebih rendah dari normal, maka kelompok P1 dengan ekspresi Hsp70 paling rendah kemungkinan mengalami PE berat sehingga integritas sel terganggu, hal ini berkaitan dengan peningkatan apoptosis indeks yang sangat kuat (>10% sel yang mengalami apoptosis) dan fetus yang dilahirkan memiliki BBL lebih rendah dari kelompok lainnya serta jumlah fetus mati juga tinggi. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dikemukakan suatu argumen bahwa Hsp70 yang rendah tidak dapat mempertahankan fungsi plasenta akibat penurunan antioksidan ditambah lagi dengan kondisi stres oksidatif sehingga pasokan nutrisi yang adekuat ke janin berkurang. Selain itu diduga rendahnya ekspresi Hsp70 pada kelompok P1 berhubungan dengan kadar MDA plasma masih tinggi sampai akhir kebuntingan. Hasil Uji korelasi *Spearman* MDA plasma dengan ekspresi protein Hsp70 serum diketahui ada hubungan yang bermakna ( $P = 0,033$ ). Gambaran korelasinya dapat diamati pada Gambar 5 berikut ini.



Gambar 5. Hubungan kadar MDA plasma dan ekspresi Hsp70

Gambaran ini menunjukkan korelasi antara kadar MDA plasma dan ekspresi Hsp70 berdasarkan model persamaan  $Y = -0,289x + 21,33$  dengan nilai  $R^2 = 0,576$ . Model persamaan ini menggambarkan hasil hubungan yang negatif, maka dapat diartikan bahwa semakin tinggi kadar MDA plasma maka kemungkinan semakin rendah ekspresi Hsp70. Namun model ini hanya menggambarkan hubungan kadar MDA plasma dan ekspresi Hsp70 sebesar 57,6% berarti 42,4% lagi ada faktor lain yang berpengaruh tetapi belum terungkap dalam penelitian ini.

Fungsi Hsp70 berperan untuk melindungi sel dari apoptosis yang berlebihan pada PE sebagai respon stres oksidatif (Ekambaram, 2011). Mekanisme Hsp70 yang berperan agar apoptosis tidak terjadi berlebihan yaitu dengan cara menghambat aktivasi protein Bax, sehingga mencegah pelepasan proapoptosis faktor dari intermembran mitokondria (Adam *et al.*, 2005; Hui Li *et al.*, 2010). Hsp70 tidak secara langsung berinteraksi dengan Bax untuk mengontrol apoptosis, tetapi melalui aktivasi JNK (Jun N terminal Kinase) untuk menekan sinyal yang menyebabkan aktivasi Bax, dalam hal ini Hsp70 diinduksi jika terjadi stres oksidatif. Hsp70 tidaklah memproteksi sel dalam rangka menghambat mutasi gen dari protein Bax sehingga Hsp70 overekspresi atau dengan kata lain bukan untuk memproteksi ekspresi protein Bax dalam bentuk mutan yang akhirnya akan masuk ke dalam membran tetapi menjaga sel bersama dengan aktivator molekul kecil dalam bentuk apoptosome. Hal ini berarti bahwa Hsp70 tidak dapat mencegah kematian sel setelah terjadi kerusakan pada mitokondria dan aktivasi caspase atau dengan kata lain Hsp70 hanya mampu mengontrol apoptosis tidak terjadi berlebihan tetapi tidak dapat berperan dalam sel bila sudah terjadi apoptosis (Adam *et al.*, 2005). Hal ini dapat dilihat dalam penelitian ini bahwa kelompok P1 yang merupakan model PE dengan ekspresi Hsp70 serum yang paling rendah memiliki indeks apoptosis lebih tinggi dari lainnya.

Overekspresi Hsp70 bertujuan untuk mengontrol apoptosis yang terjadi agar tidak berlebihan, maka sebenarnya ada hubungan yang sangat kuat dalam hal ini. Namun, berdasarkan hasil uji statistik dalam penelitian ini diketahui bahwa tidak terdapat hubungan yang bermakna antara Hsp70 dengan apoptosis indeks (*Pearson, P = 0,057*) sehingga perlu untuk disarankan meneliti lagi lebih dalam gen yang berperan penting dalam menginduksi Hsp70 khususnya di plasenta, hal ini berdasarkan seperti yang telah pernah dikemukakan oleh Molvarec *et al* (2010) bahwa sebenarnya masih belum jelas sumber utama yang mengatur sirkulasi heat shock protein.

Kelompok perlakuan model preeklampsia yang diberi EVOO diketahui ekspresi Hsp70 serum lebih tinggi (khususnya dengan dosis pemberian rendah (P2) dan sedang (P3P)) dari P1 yang tidak mendapatkannya. Hal ini diduga bahwa EVOO kemungkinan juga berperan secara tidak langsung melawan stres oksidatif dengan cara memodulasi ekspresi protein gen dan aktivitas enzim, sehingga dapat memperbanyak antioksidan enzimatik sebagai mekanisme pertahanan tubuh karena EVOO memiliki nilai nutrisi yang cukup tinggi (Lopez *et al.*, 2008). Penelitian lain membuktikan bahwa pada mencit yang diberi EVOO dengan dosis sedang selama 3 hari berturut-turut mampu mengurangi stres oksidatif di pankreas (Lopez *et al.*, 2008). Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa dengan pemberian EVOO dapat meningkatkan antioksidan pada tikus putih bunting khususnya pada dosis

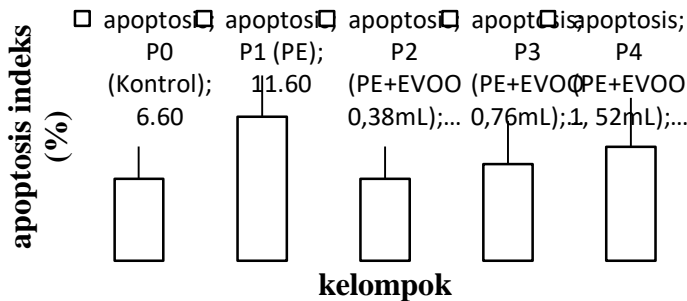
pemberian rendah dan sedang sehingga dapat meningkatkan ekspresi Hsp70 dalam serum sebagai bagian dari antiapoptotic untuk mencegah apoptosis tidak terjadi secara berlebihan.

Kandungan  $\alpha$ -tokoferol yang terdapat dalam EVOO bersama ataupun tanpa vitamin E diduga mampu meningkatkan ekspresi Hsp70 dengan cara mengikat TAP (Tocopherol Associated Protein). TAP akan menginduksi aktivasi JNK ketika berikatan dengan tokoferol, dan JNK dibutuhkan untuk menginduksi regulasi Hsp70. Seperti diketahui bahwa ROS merupakan kunci utama memediasi JNK. Ketika terjadi peningkatan ROS, maka JNK menginduksi regulasi Hsp70, sementara itu TAP dapat berinteraksi dengan JNK. Dari hasil percobaan *in vitro* dan *in vivo* diketahui bahwa TAP punya peranan penting dalam memodulasi oksidatif stres yang menginduksi apoptosis (Baoyi Zhu *et al.*, 2012).

Selain itu tokoferol yang terdapat di dalam EVOO ternyata mampu mempengaruhi sinyal sitokin pada trophoblast plasenta dan juga mempunyai efek pada sel imun maternal pada awal maupun akhir kehamilan, sehingga dengan peningkatan ekspresi protein Hsp70, dapat memblok proses kematian sel, atau dapat mendukung maupun mengurangi pertumbuhan sel tersebut (Ekambaran, 2011). Fungsi Hsp70 berperan juga sebagai anti apoptosis yaitu dengan cara bersama bcl-2 menghambat aktivasi protein bax untuk mencegah pelepasan proapoptosis faktor seperti sitokrom-*c* dari mitokondria (Ekambaran dan Lavanya, 2011). Dalam hal ini Hsp70 juga menghambat kejadian stres pada sel membran permeabel mitokondria dengan mengontrol kapan sel perlu dimatikan, tetapi tidak ikut campur pada kematian sel jika kondisi ini telah terjadi (Ekambaran, 2011). Oleh karena itu dengan pemberian EVOO, dapat meringankan gejala PE dan sekaligus juga mencegahnya dengan cara mengontrol homeostasis dengan cara menjaga keseimbangan radikal bebas dalam tubuh.

### **3. Pengaruh EVOO terhadap Apoptosis Indeks plasenta tikus putih dengan preeklampsia**

Pengamatan sel apoptosis di jaringan plasenta tikus putih secara imunohistokimia menggunakan TUNEL kit. Sel apoptosis dihitung untuk menentukan AI. Jaringan yang digunakan adalah plasenta yang disimpan dalam blok parafin. Penghitungan AI dengan kualitatif kemudian dikonversikan ke semikuantitatif berdasarkan kriteria yang telah ditentukan (Kokawa *et al.*, 2001), hasilnya seperti Gambar 6 berikut ini:



Gambar 6. Pengaruh EVOO terhadap apoptosis indeks plasenta kelompok kontrol dan perlakuan.

Berdasarkan hasil uji *Anova* ( $P = 0,119$ ) dapat diketahui bahwa tidak ada pengaruh pemberian EVOO terhadap nilai apoptosis indeks pada kelompok kontrol dan perlakuan. Meskipun demikian berdasarkan Gambar 4.5 diketahui rerata apoptosis indeks (AI) yang paling kuat (+++) adalah kelompok P1, di mana kematian selnya  $> 10\%$  = grade IV (Kokawa *et al.*, 2001). Berdasarkan seluruh jaringan plasenta yang diamati maka 80% sel mengalami apoptosis grade IV terjadi pada kelompok P1 (model PE tanpa EVOO), P4 (model PE dengan EVOO) sekitar 60%, P3 berjumlah 40% dan menyusul P0 serta P2 yang hanya 20%. Jika diambil reratanya dari hasil penelitian ini, maka selain kelompok P1 dengan AI yang paling kuat, kelompok lainnya juga memiliki AI berada pada Grade III (++) atau kuat). Hasil penelitian ini sejalan dengan yang telah dilakukan oleh peneliti lainnya bahwa pada PE apoptosis indeksnya lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal (Keman *et al.*, 2009). Sementara itu Teguh *et al* (2010) menyatakan AI plasenta preeklampsia lebih tinggi dari kehamilan normal, juga menyebabkan komplikasi berat badan lahir fetus rendah sekitar 14,3%. Hasil penelitian ini mendapatkan AI tidak berbeda antara kelompok karena (1) penghitungan sel apoptosis dilakukan pada akhir kebuntingan tikus putih yang bisa saja tinggi, (2) pada kelompok model preeklampsia yaitu P1 dengan AI tertinggi kemungkinan diduga adanya peningkatan apoptosis karena stres oksidatif yang berlebihan sehingga terjadi penurunan ekspresi protein Bcl-2 juga Hsp70.

Kehamilan normal pada mamalia dapat terjadi apoptosis sel sinsitiotrofoblas berupa gambaran khas seperti hilangnya mikrovili dan mengembungnya membran permukaan plasenta. Proses apoptosis ini berperan dalam pergantian sitotrofoblas dan pembaruan permukaan



sinsitium dari vili korialis. Proses apoptosis selain terjadi pada sinsitiotrofoblas juga pada sitotrofoblas. Proses peningkatan ini terjadi seiring dengan bertambah tuanya usia kehamilan karena penurunan ekspresi protein Bcl-2 yang menghambat apoptosis. Oleh karena itu jika kadar ekspresi protein Bcl-2 tinggi pada sinsitiotrofoblas dapat mencegah proses apoptosis pada trofoblas (Teguh *et al.*, 2010).

Apoptosis pada kondisi fisiologis berfungsi untuk mengatur jumlah sel, proliferasi dan menghilangkan sel yang sudah tidak berguna lagi sebagai suatu perkembangan normal dari sel, seperti pada embriogenesis, *hormone-dependent involution* pada siklus menstruasi dan atresia folikel pada menopause, delesi sel pada proliferasi sel epitel, eliminasi sel reaktif limfosit yang berlebihan, kematian sel yang diinduksi oleh sel T sitotoksik pada infeksi virus dan perkembangan tumor (Sujatmiko *et al.*, 2015). Apoptosis sebenarnya merupakan proses penting baik dalam perkembangan jaringan normal maupun homeostasis jaringan pada orang dewasa termasuk pengaturan sistem imun misalnya pada sel limfosit T yang merupakan sistem imun seluler bertanggung jawab untuk membinasakan sel yang rusak ataupun terinfeksi dalam tubuh. Limfosit T ini mengalami maturasi dalam kelenjar timus, tetapi sebelum masuk dalam peredaran darah akan diuji terlebih dahulu untuk memastikan bahwa sel tersebut efektif untuk melawan reaktif terhadap sel normal. Apabila ada limfosit T yang tidak efektif ataupun *self-reactive* maka akan disingkirkan melalui proses apoptosis (Hermawan, 2012).

Apoptosis juga merupakan proses penting dalam berbagai stadium perkembangan sel B, yaitu apabila terjadi kesalahan *rearrangement* gen immunoglobulin. Di dalam pusat germinal juga terjadi proses apoptosis yang tinggi untuk menyingkirkan sel yang tidak diperlukan dan memilih sel yang mempunyai afinitas tinggi terhadap antigen. Pemicu apoptosis termasuk steroid, sitokin seperti TNF- $\alpha$ , IL-1, dan IL-6, FasL, *heat shock protein*, oksigen radikal bebas, NO dan limfosit Tc akan mengekspresi proteinkin FasL pada permukaan selnya (Roth dan Pircher, 2004). Proses kematian sel melalui apoptosis terjadi melalui tiga jalur yang berbeda, yaitu jalur reseptor kematian ekstrinsik (set tipe I), jalur intrinsik (mitokondria atau set tipe II), dan jalur yang diinduksi oleh stres (jalur retikulum endoplasma) (Peter dan Krammer, 2003; Thorburn, 2004).

Akan tetapi pada preeklampsia terjadi kegagalan adaptasi imunologik, sehingga konsepsi tetap berjalan tetapi sel-sel trofoblas tidak mampu melakukan invasi ke dalam arteri spiralis supaya berdilatasi, sehingga tonus pembuluh darah tetap tinggi dan terjadi vasokonstriksi. Keadaan ini menyebabkan pembuluh darah maternal tidak dapat memenuhi kebutuhan darah sirkulasi, sehingga akan terjadi iskemia dan merangsang terjadinya apoptosis plasenta (Teguh *et al.*, 2010). Meskipun demikian apoptosis tidak hanya terjadi akibat plasenta yang iskemia, tetapi hipoksia juga dapat merupakan pencetus apoptosis melalui

mekanisme sitokin seperti TNF $\alpha$  atau Fas ligand yang akan mengaktifkan caspase 8 dan caspase 9 sebagai inisiator terjadinya apoptosis. Caspase 3 dan caspase 6 sebagai eksekutor. Seperti diketahui bahwa radikal bebas seringkali ikut berperan dalam terjadinya preeklampsia, tetapi tidak seluruhnya menyebabkan peningkatan apoptosis (Levy R, 2005).

Peningkatan apoptosis dalam penelitian ini yang sangat kuat pada kelompok P1 karena adanya keterlibatan dari MDA. Hal ini dibuktikan dengan hasil pengukuran kadar MDA plasma di akhir kebuntingan, kelompok P1 lebih tinggi dari kelompok lainnya. MDA merupakan produk akhir dari lipid peroksida adalah radikal bebas. Radikal bebas ini akan menyerang pertumbuhan sel, termasuk DNA, asam lemak tak jenuh (PUFA). Ketika radikal bebas bereaksi dengan PUFA di sel membran mitokondria mengakibatkan struktur dan fungsinya menjadi rusak. Akan tetapi dugaan ini tidak sejalan dengan hasil uji korelasi *Spearman* ( $P = 0,235$ ) yang berarti tidak ada hubungan yang bermakna antara kadar MDA plasma dengan apoptosis indeks dalam penelitian ini.

Hal yang telah dijelaskan di atas sejalan dengan pendapat Keman *et al* (2009) bahwa mitokondria berperan dalam meregulasi proses apoptosis pada preeklampsia. Apoptosis dapat terjadi dalam sel trofoblas dengan melibatkan mitokondria melalui salah satu jalur apoptosis yaitu protein (reseptor) CD95 atau reseptor Fas (yang tergabung dalam *TNF Receptor family*) beserta Fas ligand, yang disebut sebagai TRAIL (*TNF Receptor Apoptosis Inducing Ligand*) membentuk jalur apoptosis dan disebut sebagai *Extrinsic pathway* atau juga *Death Receptor Pathway*, namun hal ini bukanlah bagian dari proses jalur apoptosis dengan *Mitochondrial pathway (Intrinsic pathway)*.

Selain itu pendapat yang berbeda menguraikan bahwa apoptosis pada PE terjadi akibat peningkatan ekspresi protein Bax (Bcl-2 family) di intraseluler sel-sel trofoblas merupakan protein proapoptosis yang akan berinteraksi dengan Bcl-xl atau berikatan secara langsung dengan membran luar mitokondria sehingga terjadinya pelepasan sitokrom-c, yang akan bersama dengan Apaf-1, procaspase-9 dan ATP membentuk apoptosome, yang akan mengaktifkan jalur apoptosis internal (Sujatmiko *et al.*, 2015). Telah diketahui bahwa Bax yang diaktifkan oleh Bid menyebabkan terjadinya *Permeability Transition Pore* (PTP) pada membran luar mitokondria menjadi terbuka sehingga sitokrom-c keluar (bocor) sehingga terjadi apoptosis. Protein (Bcl-2 dan Bcl-xl) mampu mencegah terjadinya PTP ini, sehingga tampak bahwa peningkatan ekspresi protein Bax pada proses apoptosis oleh karena preeklampsia, memberikan bukti keterlibatan mitokondria dalam kejadian apoptosis tersebut (Keman *et al.*, 2009). Pendapat lainnya (Keman *et al.*, 2009) bahwa aktivasi protein Bax tidak sendiri untuk menginduksi terjadinya apoptosis tetapi dalam hal ini p53 (protein 53kDa) juga ikut berperan terutama pada PE berat di sejumlah sel trofoblasnya sehingga apoptosis

indeks lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal. Akan tetapi pada penelitian tidak diketahui ekspresi p53 dan Bax sehingga tidak diketahui dengan jelas ekspresi protein yang berperan dalam menginduksi apoptosis.

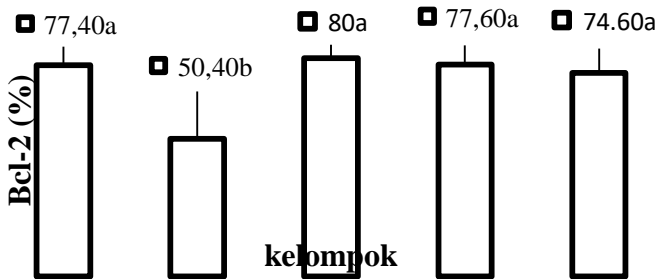
Kelompok perlakuan yang diberi EVOO, apoptosis indeks lebih rendah dari yang tidak mendapatkannya. Hal ini diduga karena kandungan polyfenol (fenol dan  $\alpha$ -tokoferol) yang terdapat di dalam EVOO berfungsi sebagai scavenger terhadap ROS dan sebagian besar dari hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang merupakan bagian dari radikal bebas (Ramos, 2007) sehingga dapat mengurangi stres oksidatif yang menyebabkan apoptosis terjadi berlebihan.

Selain itu kandungan  $\alpha$  tokoferol dalam EVOO secara signifikan mampu menghambat MGO (methylglyoxal) yang reaksinya sangat tinggi pada metabolisme glukosa, dan telah diketahui menjadi penyebab kerusakan dan menginduksi apoptosis dalam sel endotel. Penghambatan MGO ini mampu merubah produksi ROS dalam intraseluler sehingga terjadi peningkatan ekspresi protein Bcl-2 dan menurunkan ekspresi protein Bax, yang pada akhirnya dapat mencegah apoptosis sel meningkat lebih luas lagi (Moon ho Do, 2015).

Kandungan  $\alpha$  tokoferol yang terdapat dalam EVOO dapat menyerang lipid peroksida yang merupakan hasil dari reaksi antara lipid dan radikal bebas pada membran sel mitokondria sehingga akan melindungi bagian metabolik yang akan mentransformasi bahan bakar energi ke dalam ATP. Oleh karena itu struktur dan fungsi sel membran dapat dipertahankan dari kerusakan akibat serangan dari radikal bebas tersebut. Dalam hal ini  $\alpha$  tokoferol yang dapat berikatan dengan TAP akan menginduksi aktivasi JNK, sebagai akibatnya regulasi Hsp70 meningkat sehingga menghambat aktivasi Bax (gen proapoptosis) dan caspase di mitokondria, pada akhirnya apoptosis berlebihan dapat ditekan. Hal ini terbukti dari rerata ekspresi Hsp70 pada kelompok P2 dan P3 lebih tinggi dari kelompok perlakuan lainnya, serta apoptosis indeksnya lebih rendah dibanding yang lainnya, tetapi hasil uji korelasi PPM antara Hsp70 dan apoptosis tidak signifikan ( $P = 0,057$ ).

#### **4. Pengaruh EVOO terhadap ekspresi protein Bcl-2 tikus putih dengan preeklampsia**

Hasil pengamatan ekspresi protein Bcl-2 jaringan plasenta dapat dilihat pada Gambar 7 berikut ini:



Gambar 7. Pengaruh EVOO terhadap ekspresi protein Bcl-2 jaringan plasenta tikus putih bunting. Huruf kecil yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata ( $P > 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 7 diketahui bahwa setelah pemberian EVOO ada beda nyata ekspresi protein Bcl-2 antara kelompok kontrol dan perlakuan (uji *Kruskal Wallis*,  $P = 0,020$ ). Dalam hal ini, EVOO mempengaruhi peningkatan ekspresi protein Bcl-2 pada kelompok perlakuan yang mendapatkannya. Peningkatan ekspresi protein Bcl-2 pada kelompok perlakuan yang diberi EVOO hampir sama dengan kontrol yaitu dalam kategori *strongly positif*, namun tidak demikian pada P1 (model preeklampsia yang tidak diberi EVOO) masuk dalam kategori *moderately positif* (sedang). Hal ini terbukti secara kuantitatif dari hasil uji Mann Whitney bahwa ekspresi protein Bcl-2 pada P1 beda nyata dengan kelompok lainnya yaitu lebih rendah, dan yang paling tinggi adalah kelompok P2, di mana hampir hampir pada seluruh jaringan plasentanya ekspresi Bcl-2 cukup tinggi.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Keman *et al* (2009) dan Teguh *et al* (2010) yang menjelaskan bahwa ada perbedaan yang signifikan ekspresi protein Bcl-2 pada kelompok normal dan preeklampsia, dimana pada penderita PE terjadi penurunan ekspresi protein Bcl-2. Peneliti lain juga melaporkan bahwa pada PE terjadi penurunan ekspresi protein Bcl-2 di sinsitiotrofoblas sel plasenta yang mengakibatkan pertumbuhan janin terhambat (PJT). Hal ini diakibatkan oleh kegagalan remodeling arteri spiralis yang menginduksi radikal bebas di membran mitokondria sel plasenta sehingga terjadi penurunan ekspresi protein Bcl-2 sehingga memicu terjadinya apoptosis (Ishihara, 2002). Penelitian ini juga sejalan dengan yang ditemukan oleh Arianto (2015), bahwa ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-x1 lebih rendah pada kehamilan preeklampsia berat dibandingkan kehamilan normotensi.

Protein (Bax) dapat bekerja dengan membuka saluran  $Ca^{2+}$  atau menghambat Bcl-2 sehingga membuat efek anti-apoptotik Bcl-2 terhalang, demikian pula Bad menghambat Bcl-x1. Kerusakan DNA

terjadi karena beberapa faktor antara lain AIF yang terletak di intermembran mitokondria, bocor keluar oleh karena pecahnya membran mitokondria kemudian memasuki nukleus dan menimbulkan kerusakan, aktifnya berbagai endonuklease, di antaranya Endonuklease G, PARP (*Poly-ADP Ribose Polimerase*) memicu kematian sel via apoptosis dengan menempuh berbagai jalur (*pathways*) (Riawan, 2004). Salah satu jalur apoptosis tersebut melalui mitokondria yang dimediasi oleh Bax (*Bcl-2 family*), yang mana Bax diaktivasi oleh protein Bid maupun Bad. Bad diaktivasi melalui jalur eksternal (*death receptor*) melalui caspase-8. Bax berinteraksi dengan membran luar mitokondria, yang akan menyebabkan pelepasan sitokrom-c yang akhirnya akan menyebabkan apoptosis sel (Riawan, 2004).

Kandungan antioksidan yang terdapat di dalam EVOO terutama polifenol yang sangat tinggi, ternyata mengandung antioksidan dan sebagai scavenger (Keita *et al.*, 2013). Hal ini dapat diamati pada pada kelompok yang diberi EVOO terjadi peningkatan Bcl-2 akibat penghambatan pelepasan sitokrom-c dari membran mitokondria sehingga apoptosis tidak terjadi secara berlebihan. Berkaitan dengan hal tersebut di atas diduga bahwa kandungan  $\alpha$  tokoferol dalam EVOO dapat menekan aktivasi p53. Telah diketahui bahwa peningkatan ekspresi Bcl-2 diduga karena inaktivasi p53 sehingga mencegah pelepasan sitokrom c dengan Apaf1 dan ATP untuk membentuk apoptosome tidak terjadi. Hal ini menyebabkan caspase 9 tidak dapat diaktifkan sehingga terjadi hambatan apoptosis (Kirkin *et al.*, 2004; Skommer *et al.*, 2010).

Penelitian lain membuktikan bahwa dengan pemberian salep  $\alpha$  tokoferol pada bagian punggung belakang mencit setelah terpapar sinar radiasi UV, dapat mengurangi 55% pembentukan dimer cyclobutane pyrimidine gen p53 yang berperan pada patogenesis karsinoma kulit sel squamous (Weixing *et al.*, 2009). Selain itu, peneliti lain menyatakan bahwa dengan pemberian kombinasi vitamin E dan olah raga ternyata mampu menekan radikal bebas yang dapat merusak produksi DNA dari gen p53 sehingga over ekspresinya dapat ditekan pada tumor kelenjar prostat tikus (Dashtiyani *et al.*, 2017).

## **5. EVOO dan penurunan terhadap tekanan darah tikus putih dengan preeklampsia**

Pengukuran tekanan darah dilakukan atas 4 tahap. Pengukuran pertama dilakukan setelah dipastikan kebuntingannya pada hari ke 5. Pengukuran kedua dilakukan pada hari ke 13 setelah kelompok perlakuan diberikan injeksi NaCl 6% sebanyak 3 ml/hari yang dimulai dari hari ke 6 sampai 12 periode kebuntingannya, kontrol tidak diberikan apapun. Pengukuran ketiga dilakukan pada hari ke 18 kebuntingan yaitu setelah diberikan stres akut. Pengukuran keempat dilakukan pada hari ke 20

kebuntingan sebelum pelaksanaan eksekusi. Hasil pengukuran tekanan darah sistolik digunakan sebagai acuan klinis bahwa hewan model mengalami hipertensi dalam kehamilan. Tekanan darah diastolik tidak digunakan sebagai acuan karena pertimbangan alat yang digunakan tidak dapat mendeteksi lebih jauh bunyi terakhir dari diastole. Hasil pengukuran TD dapat diamati pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Rerata tekanan darah sistole tikus putih bunting

Kelompok	Mean + SD sistole (mmHg) hari ke		
	13	18	20
P0 (kontrol)	120,20±9,01	124,20±12,85	102,20±22,06
P1 (PE)	142,40±15,76*	148,60±12,62	135,60±3,21
P2 (PE + EVOO 0,38mL)	140,60±9,79*	91,60±7,02	101,40±17,52*
P3 (PE+EVOO 0,76 mL)	143,60±8,96*	115,40±15,11	114,40±17,04*
P4 (PE+EVOO 1,52 mL)	154,20±18,97*	118,20±13,20	110±9,92*
<b>Rerata keseluruhan</b>	<b>140,20±12,50</b>	<b>119,66±12,16</b>	<b>112,72±13,95</b>

Pengukuran hari ke 13 diketahui terjadi peningkatan tekanan darah sistole yang signifikan berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* ( $P = 0,038$ ), berarti ada pengaruh pemberian NaCl 6% terhadap peningkatan rerata tekanan darah sistole antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hasil uji *Mann Whitney* diketahui bahwa pada kelompok perlakuan yang diberi NaCl 6% peningkatan tekanan darah sistole beda nyata dengan kelompok kontrol atau dengan kata lain kelompok perlakuan memiliki tekanan darah sistole lebih tinggi dari kontrol. tertinggi kelompok perlakuan adalah P4, dan terendah pada P2.

Hari ke 18 kebuntingan setelah pemberian stres akut selama 30 menit pada tikus putih bunting kelompok perlakuan dengan cara tikus dimasukkan ke dalam selongsongan yang ukurannya sebesar tubuh tikus tersebut. Kemudian setelah itu, tekanan darah sistole diukur kembali (lihat Tabel 1). Berdasarkan hasil uji *Anova* ( $P = 0,000$ ), hasil uji *LSD*, menunjukkan ada beda nyata tekanan darah sistolik pada kelompok P1 dan P2 secara signifikan dibandingkan dengan kelompok lainnya. Peningkatan tekanan darah sistole kelompok P1(148,60±12,62 mmHg) signifikan dari kelompok lainnya dan peningkatan tersebut lebih tinggi dari sebelumnya yaitu hari ke 13(142,40±15,76 mmHg). Sementara itu pada kelompok P2 terjadi penurunan tekanan darah sistole secara signifikan dibanding dengan kelompok lainnya yaitu dari 140,60±9,79 mmHg (pada hari ke 13) menjadi 91,60±7,02 mmHg.

Setelah diberikan stres akut pada hari ke 18, kelompok P2, P3 dan P4 tidak terjadi peningkatan bahkan cenderung turun. Hal ini membuktikan bahwa pemberian EVOO sebagai antioksidan yang mengandung vitamin E atau tokoferol dapat meredam aktivasi sel

endotelium menjadi berkurang sehingga tidak terjadi peningkatan tekanan darah. Berbeda dengan P1 (model PE) terjadi peningkatan tekanan darah sistole dari  $142,40\text{mmHg}\pm 15,76$  menjadi  $148,60\text{mmHg}\pm 12,62$ . Hal ini terjadi karena stres akut (mengurung tikus sendiri dalam selongsongan) menyebabkan respon reaksi fisik tubuh terhadap ancaman dari luar meningkat, yang melibatkan sistem saraf simpatis untuk sementara waktu meningkatkan tekanan darah. Oleh karena itu, stres akut yang diberikan pada kelompok perlakuan dengan EVOO tidak memberikan efek terhadap peningkatan tekanan darah kelompok tersebut. Berdasarkan temuan ini pembuatan model PE dapat dilakukan dengan pemberian NaCl 6% selama 6 hari (mulai dari hari ke 6 – 12 kebuntingan) dan stress akut (pada hari ke 18 kebuntingan) selama 30 menit.

Hari ke 20 rerata tekanan darah sistole antara kelompok kontrol dan perlakuan berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* diketahui  $P = 0,010$ , yang berarti ada pengaruh pemberian EVOO terhadap penurunan tekanan darah secara signifikan. Penurunan tekanan darah hari ke 20 pada kelompok perlakuan yang diberi EVOO tidak jauh berbeda atau hampir sama dengan kontrol. Hasil uji *Mann Whitney* diketahui bahwa pada kelompok P1 rerata tekanan darah sistole beda nyata dengan kelompok lainnya atau dengan kata lain lebih tinggi dari lainnya. Berdasarkan uji *Wilcoxon* dapat diketahui bahwa ada penurunan tekanan darah yang signifikan dari sebelum dan setelah pemberian EVOO khususnya pada kelompok P2, P3 dan P4 (lihat Tabel 1)

Kelompok perlakuan yang diberi EVOO memiliki rerata tekanan darah yang hampir sama atau tidak jauh beda dengan kontrol. Namun, untuk kelompok perlakuan P1 rerata tekanan darah ternyata masih tinggi.

Hal ini membuktikan bahwa kandungan EVOO selain kaya akan tokoferol, juga kaya kandungan asam lemak tak jenuh, *oleic acid*, fenol ternyata turut berperan serta sebagai efek *cardioprotective*, memperbaiki fungsi jaringan akibat peningkatan MDA (meskipun hasil penelitian ini tidak menunjukkan hubungan yang signifikan antara peningkatan MDA dengan tekanan darah pada hari ke 20) dan memperbaiki respon vasomotor endotelial untuk mencegah kerusakan lebih lanjut (Keita *et al.*, 2013).

Kandungan polifenol, hidroksitirosol dan tirosol pada EVOO dapat meningkatkan produksi NO dan mencegah pembentukan oksidan *peroxynitrite* (merupakan salah satu penyebab stres oksidatif), serta menekan produksi ROS menyebabkan respon endotelial menjadi vasorelaksasi (Keita *et al.*, 2013) sehingga dapat memperbaiki tekanan darah pada tikus. Kelebihan dari EVOO karena memiliki senyawa polifenol yang tidak mengalami kerusakan dan tetap berada dalam keadaan natural, berbeda dengan jenis lainnya seperti "*pure olive oil*" dan "*light olive oil*". Studi literatur mengungkapkan bahwa EVOO

mampu memperbaiki tekanan darah penderita hipertensi kronis dengan mengkonsumsi 2 sendok makan EVOO (sekitar 30-40 gram) setiap hari selama 6 bulan, bahkan sebagian dari penderita hipertensi tersebut dapat melepaskan ketergantungan obat penurun tekanan darah setelah masa 6 bulan berlalu (Villarejo *et al.*, 2016).

Selain itu kandungan lemak tak jenuh (MUFA) dalam EVOO ternyata mampu menghambat enzim yang mengatur regulasi tekanan darah yaitu ACE (*Angiotensin-Converting Enzim*) atau sebagai ACE inhibitor dan menurunkan kadar NO serta 8-isoprostanes (semacam senyawa prostaglandin dari radikal bebas) rendah di dalam urin (Villarejo *et al.*, 2015). ACE merupakan enzim yang berperan dalam sistem renin angiotensi tubuh yang mengatur volume ekstraseluler (misalnya plasma, darah, limfa dan cairan jaringan tubuh) dan vasokonstriksi arteri. Fungsi utama ACE adalah mengubah angiotensin (AT) I menjadi AT II dan degradasi (penghancuran) bradikinin (suatu peptida di dalam tubuh yang membantu untuk memperbesar atau membuka pembuluh darah sehingga akan menurunkan tekanan darah dan memungkinkan darah mengalir lebih lancar ke seluruh tubuh). Angiotensin I ada di berbagai organ seperti ginjal, kelenjar adrenal, jantung, pembuluh darah dan otak. Fungsi AT II adalah salah satunya dapat meningkatkan saraf simpatis yaitu vasokonstriksi (penyempitan pembuluh darah) sehingga terjadi peningkatan tekanan darah (Sherwood L, 2004).

Mekanisme penurunan tekanan darah dengan penghambatan ACE (ACE inhibitor) adalah dengan menghambat perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II, dimana angiotensin I adalah vasokonstriktor poten yang juga merangsang sekresi aldosteron. Aldosteron dalam hal ini akan menyerap kembali lebih banyak ion natrium ( $\text{Na}^+$ ) dan air, sehingga meningkatkan volume dan tekanan darah. ACE inhibitor juga menghambat degradasi bradikinin dan merangsang sintesa zat-zat yang menyebabkan vasodilatasi, termasuk PGE2 (prostaglandin E2 yang dikeluarkan oleh dinding pembuluh darah sebagai respon terhadap infeksi atau inflamasi) dan prostasiklin. Akibat penghambatan ACE maka terjadi peningkatan bradikinin sehingga berefek terhadap penurunan tekanan darah inhibitor (Sherwood L, 2004).

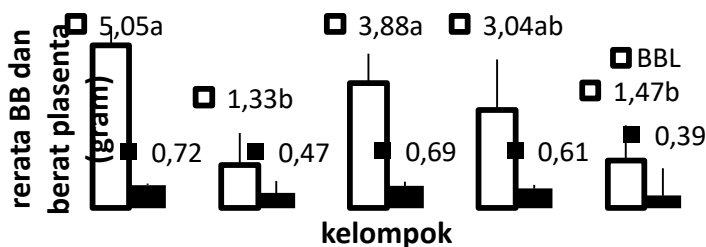
## **6. Pengaruh EVOO terhadap morfometri fetus dan jumlah implantasi pada tikus putih dengan preeklampsia**

Telah dilakukan *laparotomi dan torakotomi* pada tikus putih bunting untuk mengetahui jumlah implantasi fetus yang hidup atau mati pada hari ke 20 sebelum tikus melahirkan secara normal. Tikus dianestesi dengan ketamin 0,3ml/im sebelum eksekusi. Jaringan uterus dibuka satu persatu untuk mengangkat fetus yang ada, kemudian ditimbang dan diukur panjang badannya serta dipastikan fetus hidup atau



mati dengan cara menyentuhnya, jika tidak ada respon maka fetus dinyatakan mati. Fetus-fetus tersebut dikelompokkan sesuai dengan induknya, kemudian data yang didapat dari berat badan, panjang badan dan berat plasenta dikumpulkan. Uji *Kruskal Wallis* dilakukan untuk data BB dan PB fetus. Uji *Anova* dilakukan untuk data berat plasenta.

Gambar 8 menjelaskan tentang rerata BBL dan berat plasenta tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan.



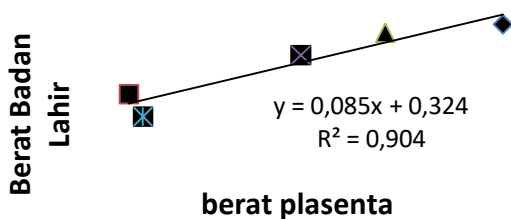
Gambar 8. Pengaruh EVOO terhadap BBL dan berat plasenta fetus tikus putih. Huruf kecil yang sama tidak ada beda nyata ( $P > 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 6 diketahui bahwa ada pengaruh pemberian EVOO yang signifikan terhadap BBL fetus tikus putih (berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis*  $P = 0,006$ ) atau dengan kata lain BBL kelompok kontrol maupun perlakuan beda nyata. Berat badan lahir fetus kelompok kontrol dalam penelitian ini yaitu 5,05 gram (rujukan 2 – 3 gram), lebih besar dari biasanya dan berbeda seperti yang didapatkan oleh Nelawati (2016) bahwa BBL fetus normal 3,2 gram. Telah diketahui bahwa bobot lahir tikus dipengaruhi oleh pertumbuhan fetus sebelum lahir atau pertumbuhan selama kebuntingan (Kusumawati, 2004).

Kelompok perlakuan tikus putih bunting yang dipaparkan dengan NaCl 6% selama masa organogenesis pada hari ke 6 sampai 13 memiliki BBL lebih rendah dari kontrol, meskipun berdasarkan hasil uji *Mann Whitney* ada beberapa kelompok yang memiliki BBL hampir sama dengan kontrol khususnya kelompok perlakuan yang diberikan EVOO dengan dosis bervariasi dari dosis ringan (P2) sampai sedang (P3), hal ini berbeda dengan kelompok perlakuan lainnya (P1 dan P4), dimana rerata BBL di bawah normal. Beberapa faktor yang mempengaruhi berat badan lahir faktor yaitu genotif (36%), lingkungan fetal (30%), lingkungan induk (18%), kesamaan induk (7%), nutrisi induk (6%) dan umur induk (1%) (Nelawati, 2016).

Berat lahir plasenta pada Gambar 6 diketahui tidak beda nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan (hasil uji *Anova*,  $P = 0,059$ ) atau dengan kata lain tidak ada pengaruh pemberian EVOO yang

signifikan terhadap berat plasenta tikus putih kelompok kontrol maupun perlakuan. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa pada kelompok kontrol dengan BBL yang paling berat memiliki plasenta yang lebih berat dibanding dengan kelompok lainnya. Demikian juga pada kelompok P1 dan P4 dengan BBL rendah memiliki berat plasenta yang rendah juga. Berdasarkan hal tersebut diduga kemungkinan ada hubungan berat plasenta dengan BBL fetus. Hal ini diperkuat berdasarkan uji korelasi *Spearman* diketahui  $P = 0,000$  seperti pada Gambar 9 berikut ini



Gambar 9. Hubungan BBL fetus tikus putih dan berat plasenta

Berdasarkan Gambar 8 menunjukkan korelasi antara BBL dan berat plasenta dengan model persamaan  $Y = 0,085 + 0,324$  dengan nilai  $R^2 = 0,904$ . Model persamaan ini menggambarkan hasil hubungan yang positif dan sangat kuat, maka dapat diartikan bahwa semakin besar berat badan lahir maka kemungkinan memiliki plasenta yang lebih besar juga, begitu juga sebaliknya. Namun model ini hanya menggambarkan hubungan BBL dan berat plasenta sebesar 90,4% berarti 6% lagi ada faktor lain yang berpengaruh tetapi belum terungkap dalam penelitian ini.

Seperti diketahui bahwa plasenta mempunyai peranan penting dalam memberikan pasokan nutrisi yang adekuat kepada fetus. Oleh karena itu plasenta yang memiliki ukuran lebih besar maka biasanya suplai nutrisi kepada fetus akan lebih besar pula sehingga mempengaruhi BBL nantinya. Kerusakan sel endotel yang terjadi pada plasenta dengan PE menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan. Selain itu juga diduga bahwa BBL fetus yang rendah berhubungan dengan kadar MDA plasma setelah pemberian EVOO, hal ini didukung oleh uji korelasi *Spearman* diketahui  $P = 0,010$  dengan koefisien korelasi sebesar  $-0,507$  (diasumsikan hubungan ini memiliki kekuatan korelasi yang sedang), berarti semakin tinggi kadar MDA plasma maka kemungkinan semakin rendah BBL fetus begitu juga sebaliknya atau dengan kata lain BBL fetus 50,7% ditentukan oleh kadar MDA plasma.

Peningkatan kadar MDA plasma terjadi akibat pemberian injeksi NaCl 6% pada kelompok tikus perlakuan sehingga BBL rendah. Tubuh sebenarnya memiliki antioksidan endogen untuk melawan radikal bebas tapi apabila kadar radikal bebas terus meningkat maka antioksidan endogen tidak mampu mengimbangi peningkatan tersebut sehingga terjadi stres oksidatif. Pada kondisi stres oksidatif akan terjadi peroksidasi lemak yang pada akhirnya akan merusak sel, selain itu hasil samping berupa MDA juga bersifat sitotoksik bagi sel endotel, sehingga mengakibatkan sel endotel mengalami *disjunction* dengan jaringan di bawahnya sehingga akan terlepas ke dalam sirkulasi (Samsuria, 2009).

Lebih lanjut pada hasil penelitian Samsuria (2009) menjelaskan bahwa dengan terjadinya degradasi NO yang cepat akibat peningkatan ROS sehingga terjadi disfungsi endotel karena bioavailabilitas NO menurun. Radikal superoksida maupun Ox-LDL kolesterol bertanggungjawab atas peningkatan degradasi NO, bahkan radikal superoksida dapat secara langsung menginaktivasi NO melalui proses reaksi cepat membentuk peroksinitrit yang merupakan komponen yang sangat kuat dan memiliki daya hancur lebih kuat daripada superoksida.

Endotel sebenarnya merupakan lapisan sel yang melapisi dinding vaskular yang menghadap ke lumen dan melekat pada jaringan sub-endotel yang terdiri atas kolagen dan berbagai glikosaminoglikan termasuk fibronectin. Fungsi endotel adalah sebagai barrier struktural antara sirkulasi dengan jaringan di sekitarnya. Selain itu fungsi endotel yang lain diketahui juga turut mengatur tonus vaskular, mencegah trombosis, mengatur aktivitas sistem fibrinolisis, mencegah perlekatan leukosit dan mengatur pertumbuhan vaskular. Substansi vasoaktif yang dikeluarkan endotel antara lain NO yang juga disebut *endothelial-derived relaxing factor* (EDRF), *endothelial-derived hyperpolarizing factor* (EDHF) prostasiklin (PGI<sub>2</sub>), bradikinin, asetilkolin, serotonin dan histamine. Substansi vasokonstriktor antara lain adalah endotelin, *platelet activating factor* (PAF), angiotensi II, prostaglandin H<sub>2</sub>, thrombin dan nikotin. Endotel juga berperan pada haemostasis dengan mempertahankan permukaan yang bersifat antitrombotik (Dharma *et al.*, 2005). Jika endotel mengalami gangguan oleh berbagai hal seperti *shear* stres hemodinamik, stress oksidatif maupun paparan dengan sitokin inflamasi dan hiperkolesterolemia, maka fungsi pengatur menjadi abnormal dan disebut disfungsi endotel.

Kondisi disfungsi endotel yang terjadi secara terus menerus dapat menimbulkan apoptosis, yang kemudian menyebabkan denudasi (pengikisan) endotel dan mempengaruhi jumlah sel endotel plasenta yang masih lengkap. Terjadinya kerusakan sel endotel pada plasenta yaitu terjadi hambatan terhadap distribusi oksigen dan nutrisi sehingga fetus tidak mendapatkan oksigenasi dan nutrisi yang adekuat (Samsuria, 2009) sehingga menyebabkan BBL rendah seperti kelompok P1.

Preeklampsia mengakibatkan terjadinya infark pada plasenta disebabkan karena oklusi arteria spiralis. Akibat infark plasenta terhadap janin tergantung dari luas infark, serta fungsi plasenta yang masih sehat. Semua ini akan menyebabkan gangguan oksigenasi dan nutrisi pada janin. 44% kematian perinatal karena faktor obstetrik, dimana 65% disebabkan karena insufisiensi plasenta (Brown, 2003). Pada preeklampsia terjadi penurunan volume plasma 30-40% dari kehamilan normal, menimbulkan hemokonsentrasi dan peningkatan viskositas darah, akibatnya hipoperfusi jaringan. Sistem yang paling peka terhadap hipoperfusi adalah uni-fetoplasenta, perfusi fetoplasenta menurun 35-65%. Sindroma pada janin timbul akibat berkurangnya perfusi uteroplasenta dan terjadi gangguan nutrisi dan respirasi. Resiko terhadap janin pada preeklampsia akibat berkurangnya sirkulasi uteroplasenta bisa menyebabkan terjadinya gangguan pertumbuhan dan prematuritas (Brown, 2003).

Terkait dengan hal tersebut di atas sebagai akibat terjadinya stres oksidatif yang ditandai dengan peningkatan lipid peroksida, indikatornya adalah kadar MDA plasma akibat reaksi asam lemak tak jenuh ganda penyusun fosfolipid membran sel dengan senyawa oksigen reaktif (ROS) yang membentuk hidropersida (Setiawan B dan Suhartono E, 2007). Munculnya aksi ROS disebabkan oleh rendahnya sistem antioksidan sehingga aktivitasnya dalam menangkal aksi ROS tersebut menjadi kurang sempurna (Baydas G *et al.*, 2002). Rendahnya sistem pertahanan antioksidan ini disebabkan oleh adanya keterbatasan penyediaan antioksidan oleh berbagai organ tubuh akibat proses pematangan yang tidak lengkap, selain beberapa senyawa yang utamanya ditranspor melalui plasenta, baru terjadi pada trimester III (Dani C *et al.*, 2003). Akibatnya stres oksidatif dan kerusakan oksidatif akan berlangsung dalam tubuh (Hirano *et al.*, 2001). Hal inilah yang mengakibatkan terjadi gangguan pertumbuhan pada embrio, dapat ditandai dengan BB lahir rendah, abortus, hingga kematian fetus di dalam kandungan. Sejalan dengan hal tersebut diketahui dari hasil penelitian ini bahwa 71,43% fetus tikus mati pada kelompok perlakuan P1 (model preeklampsia).

Selain argumentasi yang telah dikemukakan di atas, juga salah satu faktor yang mempengaruhi BB lahir rendah pada PE adalah karena dampak kekurangan gizi akibat rendahnya vaskularisasi uteroplasenta yang mengarah ke gangguan pertumbuhan, dalam hal ini diduga bahwa ada hubungan antara BBL dan AI. Contohnya pada kelompok P1 memiliki rerata BBL fetus rendah (< 2 gram) tetapi AI tinggi. Hal ini didukung oleh hasil uji korelasi *Spearman* (lampiran 17) diketahui  $P = 0.038$  yang berarti bahwa ada hubungan antara BBL fetus tikus putih dengan AI dengan koefisien korelasi -0,418 (diasumsikan kekuatan hubungan ini sedang), atau dengan kata lain semakin tinggi AI maka semakin rendah BBL fetus, dalam hal ini 41,8% BBL fetus ditentukan

oleh AI. Hal ini sejalan seperti yang dilaporkan oleh Teguh *et al* (2010) bahwa ada perbedaan yang bermakna antara AI dengan BB lahir bayi pada penderita preeklampsia dan kontrol.

Berbeda dengan fetus yang diberi EVOO, ternyata pada pemberian dosis rendah dan sedang BBL fetus tidak begitu jauh berbeda atau dengan kata lain BBL fetus sama dengan BBL fetus normal lainnya. Hal ini karena kandungan  $\alpha$ -tokoferol mampu menurunkan kadar MDA plasma induk tikus secara signifikan sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan sel endotel plasenta karena kemampuannya dalam memutus rantai reaksi radikal bebas dengan cara bereaksi terhadap radikal peroksil, sehingga mengurangi resiko terjadinya insufisiensi plasenta yang dapat menyebabkan penurunan berat badan bayi (Nelawati, 2016). Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nelawati (2016) tentang manfaat vitamin E pada BBL fetus tikus. Peneliti tersebut menjelaskan bahwa dengan dosis rendah sampai sedang (100-200 mg/kgBB/hari) dapat meningkatkan BBL fetus tikus. Penelitian Nelawati tersebut juga sejalan dengan penelitian Salem (2015) yang melaporkan bahwa fetus tikus putih bunting yang diberi EVOO memiliki BB lahir yang lebih rendah dari kontrol karena memiliki kandungan nutrisi yang seimbang dan penting untuk mengontrol perkembangan lemak yang optimal pada fetal intrauterine sejak dari awal kehamilan karena mengandung MUFA. Salah satu keuntungannya adalah kandungan MUFA tersebut mampu mengurai lemak yang tersimpan, sehingga berat fetus yang dilahirkan tidak terlalu besar, khususnya kelompok perlakuan EVOO dengan dosis rendah dan sedang, BB fetus sedikit di atas rerata.

Berkaitan dengan hal tersebut diduga bahwa EVOO ternyata mampu mengatasi ketidakseimbangan antioksidan di dalam tubuh karena kandungan  $\alpha$  tokoferol dapat mencegah kerusakan membran dan modifikasi lipoprotein densitas rendah (Baydas G *et al.*, 2002). Argumentasi ini berdasarkan penelitian lain bahwa pada bayi baru lahir, terdapat korelasi positif antara konsentrasi vitamin E darah tali pusat dan serum ibu. Konsentrasi vitamin E neonatus bergantung pada konsentrasi vitamin E ibu. Selain itu konsentrasi vitamin E di dalam serum bayi dan ibu mempunyai perbandingan tetap, yaitu 1:4, hal ini disebabkan oleh mekanisme transportasi melalui plasenta (Baydas G *et al.*, 2002). Hal ini berbeda dengan bayi prematur memiliki tokoferol total di plasma lebih rendah dibanding bayi aterm (Buonocore G *et al.*, 2002).

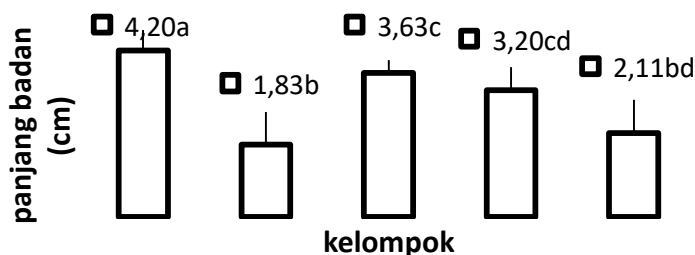
Nelawati (2016) juga mendapatkan bahwa induk tikus yang diberi vitamin E dosis tinggi (400 mg/kgBB/hari) memiliki BBL bayi tikus rendah, hal ini sama seperti yang terjadi pada penelitian ini. Hal ini disebabkan karena pada kondisi tertentu jika diberikan berlebihan maka  $\alpha$ - tokoferol ( $\alpha$ -TocH) atau vitamin E yang hanya larut dalam lemak dapat menjadi prooksidan kuat untuk LDL. Mekanisme terbentuknya radikal bebas  $\alpha$  tokoferol adalah melalui reaksi antara  $\alpha$ -TocH dengan

LOO- (radikal peroksilipid) atau ROO- (radikal peroksil), dan juga reaksi radikal bebas  $\alpha$  tokoferol dengan PUFA mengandung lemak. Oleh karena itu ternyata  $\alpha$  tokoferol mempunyai dua fungsi yang berbeda yaitu dapat menghambat pembentukan radikal bebas dengan bertindak sebagai pemulung LOO- dan menginisiasi terbentuknya radikal bebas ROO- (Richard, 2001).

Bersamaan dengan hal tersebut, juga telah diketahui bahwa kandungan vitamin E atau tokoferol yang terdapat di dalam EVOO hanya dapat larut dalam lemak, dan metabolismentya oleh empedu dan hati. Jika berlebih, maka tidak bisa dibuang dan lemak tersebut dapat berubah menjadi radikal bebas dan akhirnya akan merusak membran sel, kondisi ini akan menyebabkan stres oksidatif sehingga menghambat pertumbuhan sel serta menyebabkan kematian (Lopez *et al.*, 2008). Hal ini sejalan juga dengan hasil penelitian, bahwa pada kelompok P4 yang mendapatkan EVOO dosis tinggi diketahui sekitar 41.94% fetus mati.

Pada penelitian ini kelompok P4 yang diberikan dengan dosis tinggi yaitu 1,52 mL/kgBB/hari memiliki rerata BB fetus lebih rendah (1,47g) dari normal. BBL yang rendah pada kelompok P4 ini diduga karena vitamin E atau tokoferol yang terkandung di dalam EVOO hanya dapat larut dalam lemak, dan metabolismentya oleh empedu dan hati. Jika berlebih, maka tidak bisa dibuang dan lemak tersebut dapat berubah menjadi radikal bebas dan akhirnya akan merusak membran sel, kondisi ini akan menyebabkan stres oksidatif dan kerusakan pada sel endotel plasenta sehingga fungsi plasenta terganggu yang pada akhirnya plasenta tidak adekuat mensuplai nutrisi ke janin. Suplai nutrisi yang berkurang ke janin mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan janin sehingga menyebabkan kematian embrio tikus putih bunting. Dengan demikian dosis EVOO yang tinggi pada penelitian ini kurang tepat diberikan jika dibandingkan dengan dosis lebih rendah atau sedang.

Gambar 10 berikut ini menampilkan grafik PB fetus pada tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan.



Gambar 10. Pengaruh EVOO terhadap PB (cm) fetus tikus putih. Huruf kecil yang sama tidak beda nyata ( $P > 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 9 diketahui ada kecenderungan pada fetus BBL besar maka memiliki badan yang lebih panjang, begitu juga sebaliknya. Hal ini juga didukung oleh hasil uji *Kruskal Wallis* diketahui  $P = 0,001$  yang berarti ada pengaruh pemberian EVOO terhadap panjang badan fetus tikus putih. Kelompok kontrol memiliki badan yang lebih panjang dari kelompok lainnya. Kelompok P2 dan P3 memiliki panjang badan yang hampir sama, demikian juga pada P4 dan P1 dengan panjang badan yang tidak berbeda. Panjang badan fetus tikus putih dalam penelitian ini diduga ada hubungannya dengan BBL, berdasarkan korelasi *Spearman* diketahui  $P = 0,000$  dengan koefisien korelasi 0,935 (diasumsikan bahwa hubungan ini sangat kuat), yang berarti semakin besar BBL fetus maka semakin panjang badannya atau panjang badan lahir 93,5% ditentukan oleh BBL fetus.

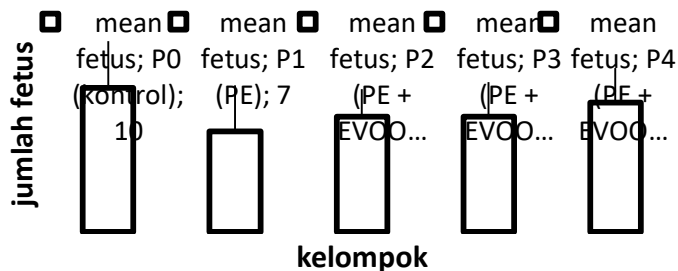
Rerata PB kelompok kontrol dalam penelitian ini 4,20 cm  $\pm 0,51$  lebih panjang dari PB normal (0,5-1,5 cm, sumber Kusumawati, 2004). Namun pada penelitian lain mendapatkan rerata PB fetus tikus 36,676 mm (3,67cm) (Wijayanto *et al.*, 2007). Seluruh kelompok perlakuan dalam penelitian ini memiliki rerata PB di atas rata-rata, namun pada P1 rerata PB fetus lebih pendek dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, meskipun masih di atas rata-rata (1,83 cm  $\pm 0,81$ ).

Selain itu juga ditemukan dalam penelitian ini bahwa ternyata berat plasenta berhubungan secara signifikan dengan PB. Hal ini sejalan apa yang dijelaskan oleh Kusumawardana *et al* (2014) bahwa penurunan berat plasenta akan mengakibatkan penurunan BBL dan PB. Korelasi yang sangat kuat antara BBL dan PB fetus diduga dipengaruhi oleh perbedaan susunan morfologi plasenta, karakteristik dan densitas dari sel trophoblast, ditambah dengan akibat penurunan aliran darah ke plasenta sehingga menyebabkan penurunan oksigenisasi, asbsorbsi nutrisi dan aliran darah plasenta ke fetus.

Hasil penelitian ini juga sejalan apa yang ditemukan oleh Kusumawardana *et al* (2014) bahwa rerata PB pada kelompok kontrol 4,8 cm, dengan berat plasenta berkisar 0,62 gram dan BBL 4,08 gram. Sementara itu rerata berat plasenta kelompok kontrol pada penelitian ini berkisar 0,72 gram  $\pm 0,05$ . Jika diamati keseluruhan ukurannya ini tidak jauh berbeda atau hampir sama. Oleh karena itu dapat diketahui bahwa berat plasenta sangat mempengaruhi ukuran BBL dan PB fetus, karena plasenta merupakan pusat nutrisi bagi pertumbuhan dan perkembangan fetus.

Seperti telah diketahui bahwa sirkulasi aliran darah plasenta merupakan awal dari pertumbuhan dan perkembangan embrio atau plasenta itu sendiri. Peningkatan pertukaran transplasenta akan mendukung peningkatan eksponen lain pada perkembangan fetal selama masa pertengahan kehamilan, hal ini sangat tergantung pada

perkembangan aliran darah plasenta dan hasilnya akan terjadi peningkatan aliran darah umbilical uterine. Perkembangan vaskularisasi pada plasenta sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan fetus tentunya (Kusumawardana *et al.*, 2014). Maka dalam hal ini keterkaitan antara berat plasenta, BBL dan PB sangat kuat sekali dan saling mempengaruhi satu sama lain. Gambar 11 berikut ini tentang jumlah fetus (fetus hidup dan mati) yang berasal dari induk tikus putih.



Gambar 11. Pengaruh EVOO terhadap jumlah fetus tikus putih.

Berdasarkan Gambar 11 diketahui bahwa tidak ada pengaruh EVOO yang signifikan terhadap jumlah fetus tikus putih, atau dengan kata lain tidak ada beda nyata jumlah fetus pada kelompok kontrol maupun perlakuan (uji *Anova*,  $P = 0,715$ ). Kelompok kontrol umumnya memiliki jumlah fetus lebih banyak, dan P1 umumnya memiliki jumlah fetus lebih sedikit dari yang lainnya. Selain fetus mati yang terjadi pada kelompok P1 dan P4, ditemukan juga dalam penelitian ini beberapa fetus ada yang tidak jadi pembentukannya walaupun kehamilannya aterm, dan ada beberapa induk mengalami keguguran (khusus pada kelompok P1). Jumlah fetus yang dilahirkan oleh tikus putih dalam penelitian ini tidak ada hubungannya dengan BBL, hal ini didukung oleh hasil uji korelasi *Spearman*  $P = 0,145$ .

Dampak preeklampsia pada fetus adalah kekurangan gizi akibat kekurangan vascular uteroplacenta, pada akhirnya mengakibatkan gangguan pertumbuhan sehingga kesehatan fetus serta berat badannya terganggu, dan mungkin dapat menyebabkan kematian fetus. Hal ini dapat diketahui bahwa pada kelompok P1 (model preeklampsia) dari 36 fetus yang dilahirkan, sekitar 71,43% fetus mati. Pada kelompok P4 (model preeklampsia yang diberi EVOO dosis 1,52mL) yaitu sekitar 41,94% fetus mati dari total fetus 44 ekor yang dilahirkan. Vasokonstriksi yang merupakan salah satu pathogenesis terjadinya preeklampsia menimbulkan peningkatan total perifer resisten dan hipertensi, sehingga



menyebabkan terjadinya hipoksia pada sel endotel khususnya pada arteri spiral. Kondisi ini menyebabkan penurunan perfusi utero plasenta yang pada plasenta menyebabkan terjadi proses hiperoksidase sehingga membutuhkan konsumsi oksigen yang lebih tinggi. Akibat kondisi ini menyebabkan terganggunya metabolisme di dalam sel itu sendiri. Hiperoksidase menghasilkan peroksidase lemak yang merupakan suatu radikal bebas. Jika kondisi ini tidak diikuti dengan keseimbangan dengan antioksidan, hal ini akan menimbulkan stres oksidatif. Hal ini terbukti dengan masih tingginya kadar MDA plasma kelompok P1 pada akhir kehamilan. Kondisi ini diduga menyebabkan terjadinya kematian janin pada preeklampsia seperti yang dialami oleh kelompok P1.

Kelompok P4 yang merupakan model preeklampsia diberi EVOO dosis tinggi juga mengalami kematian janin di dalam kandungan. Hal ini diduga bahwa EVOO dosis pemberian tinggi tidak dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi karena kandungan tokoferol (vitamin E) yang larut dalam minyak tidak dapat diabsorpsi oleh hati dengan baik, sementara beban kerja hati meningkat akibat peroksidase asam lemak jenuh, sehingga semakin memperburuk stres oksidatif yang terjadi. Namun dalam penelitian ini tidak diteliti kadar MDA di dalam hati dan plasenta sehingga tidak diketahui dengan pasti apa yang menyebabkan kematian janin pada kelompok P4. Meskipun demikian pemberian EVOO dengan dosis rendah dan sedang dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi pada model preeklampsia, sehingga tidak mempengaruhi jumlah anak dan kematian janin seperti pada kelompok perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa  $\alpha$ -tokoferol yang terdapat dalam EVOO dapat memutus mata rantai reaksi asam lemak jenuh berantai sehingga tidak sampai merusak membran sel, dan struktur sel lainnya seperti mitokondria bahkan perubahan yang terjadi pada DNA. Struktur fungsi endotel tidak berubah, sehingga iskemia plasenta tidak terjadi, dan pada akhirnya pasokan nutrisi adekuat terhadap fetus tikus putih.

Preeklampsia tidak mempengaruhi jumlah rata-rata fetus tikus putih yang dilahirkan oleh kelompok kontrol maupun perlakuan, dalam hal ini karena pemberian NaCl 6% untuk mendapatkan model preeklampsia dilakukan setelah masa implantasi, sehingga diduga tidak mempengaruhi jumlah fetus yang dilahirkan. Jumlah rata-rata fetus yang dilahirkan masih dalam batas normal yaitu antara 6 – 12 ekor (Kusumawati, 2004).

## **BAB 4 KESIMPULAN**

Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa EVOO dengan dosis pemberian rendah atau sedang dapat mencegah peningkatan radikal bebas pada tikus putih bunting model preeklampsia dalam penelitian ini sehingga beberapa indikator yang merupakan bagian dari preeklampsia menurun atau meningkat dapat diketahui seperti di bawah ini:

1. Pemberian EVOO dapat menurunkan kadar MDA plasma tikus putih bunting kelompok perlakuan model preeklampsia.
2. Ekspresi protein Hsp70 serum tikus putih model preeklampsia lebih tinggi setelah pemberian EVOO, hal ini ditandai juga dengan peningkatan ekspresi Bcl-2 pada kelompok yang mendapatkannya, dan juga tidak jauh berbeda dengan control
3. Apoptosis index pada kelompok kontrol dan perlakuan model preeklampsia yang diberi EVOO umumnya berada pada grade III (++) lebih rendah dari kelompok model preeklampsia (grade IV atau +++).
4. Tekanan darah pada kelompok model preeklampsia yang diberi EVOO menurun dari sebelumnya dan tidak jauh berbeda dengan kontrol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulsid A, Hanretty K, and Lyall F. 2013. Heat Shock Protein 70 Expression Is Spatially Distributed In Human Placenta And Selectively Upregulated During Labor And Preeclampsia. *PLoS ONE*, 8: 1 – 7
- Adam R Stankiewicz, Guillaume L, Cheryl PZ Foo, Stefani M Radicioni, and Dick D Mosser. 2005. Hsp70 Inhibits Heat-Induced Apoptosis Upstream Of Mitochondria By Preventing Bax Translocation. *The Journal of Biological Chemistry*, 280: 38729-38739.
- Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahon MJ, and Lessey BA. 2000. Placental Apoptosis In Preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 96: 271-276
- Angsar MD. 2012. Hipertensi Dalam Kehamilan. In S. Prawirohardjo, Ilmu Kebidanan, Jakarta, PT. Bina Pustaka.
- Arianto B, Rumekti HD, Detty SN. 2015. Perbandingan Rerata Ekspresi Bcl-2 Dan Bcl-Xl Pada Preeklampsia Berat Dan Kehamilan Normotensi. *IPAKESPRO*, 2: 122-126.
- Baoyi Zhu, Xiaojuan Li, Yuying Zhang, Chunwei Ye, Yu Wang, Songwang Cai, Huaiqiu Huang et al. 2012. Cross-Talk Of Alpha Tocopherol-Associated Protein And JNK Controls The Oxidative Stress-Induced Apoptosis In Prostate Cancer Cells. *International Journal of Cancer*, 132: 2270-2282.
- Bawazier LA. 2009. Ginjal Hipertensi : Proteinuria. In Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata KM, Setiati S (edisi.V). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta, Interna Publishing.
- Baydas G, Karatas F, Gursu MF, Bozkurt HA, Ilhan N, Yasar A et al. 2002. Antioxidant Vitamin In Term And Preterm Infants And Their Relation To Maternal Vitamin Status. *Arch Med Res*, 33: 276-280.
- Buonocore G, Perrone S, Longini M, Vezzosi P, Marzocchi B, Paffetti P, et al. 2002. Oxidative Stress In Preterm Neonates At Birth And On The Seventh Day Of Life. *Pediatr Res*, 52: 46 – 49.
- Brooks GF, Butel JS, and Morse SA. 2005. Patogenesis Infeksi Bakteri. In Jawetz, Menick, and Adelberg's *Mikrobiologi Kedokteran*. 22nd Ed. Terjemahan Bonang G. Jakarta, EGC.
- Brown MA. 2003. Diagnosis And Classification Of Preeclampsia And Other Hypertensive Disorders Of Pregnancy In Belfort MA, Thornton S, Saade GR. Hypertension in Pregnancy In Angsar MD. 2012. Hipertensi Dalam Kehamilan. In S. Prawirohardjo, Ilmu Kebidanan, Jakarta, PT. Bina Pustaka.
- Candra S, Muhammad A.W, Soetomo S, and I Ketut Muliarta G. 2007. Kadar MDA Dan Rasio GSH/GSSH Pada Kehamilan Normal, Preeklampsia Berat Dan Eklampsia Di Malang. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 23: 35 – 39.

- Cunningham FG, Gant NF, and Laveno KJ. 2005. Hypertensive Disorders In Pregnancy. In William Obstetric, New York, Mac Graw Hill.
- Chen bao D and Wang W. 2013. Human Placental microRNAs And Preeclampsia. Mini review. BOR Papers in Press, 10: 1 – 6.
- Dani C, Martelli E, Bertini G, Pezzati M, Fili:i L, Rossetti M, et al. 2003. Plasma Bilirubin And Oxidative Stress In Preterm Infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal.
- Dashtiyani Amin A, Sepehrimanesh M, Nader T, Mohammad E A. 2017. The Effect Of Endurance Training With And Without Vitamin E On Expression Of p53 And PTEN Tumor Su:Resing Genes In Prostate Glands Of Male Rats. Biochimic open, 4: 112 - 118.
- De Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, and Vermulen NPE. 1998. Biomarker Of Free Radical Damage. A Location In Experimental Animals And Humans. Free Rad Biol Med, 26: 202 - 260
- Dharma R, Wibowo N, and Hessyani PTR. 2005. Disfungsi Endotel Pada Preeklampsia. Makara Kesehatan, 9: 63 - 69.
- Droge W. 2003. Free Radicals in the Physiology Control of Cell Function. Physiol Rev, 82: 47 - 95.
- Ekambaram P, and Geetha B.V. 2008. Placental Heat Shock Protein 70 Overexpression Confers Resistance Against Oxidative Stress in Preeclampsia. Turk. J. Med. Sc, 38: 27 – 34.
- Ekambaram P, Srinivasan L, and Venkrataman U. 2009. Preeclamptic Placenta Stress And Over Expression Of Mitochondrial HSP70. Clin Chem Lab Med, 47: 1073 – 1080.
- Ekambaram P, and Uthra V. 2009. MTT Assay Based Ureaplasma urealyticum Infection Quatification in Preeclampsia. Asian J Microbial Biotech Env Sci, 11: 299 – 334.
- Ekambaram P. 2011. HSP70 Expression and its Role in Preeclamptic Stress. Indian Journal of Biochemistry & Biophysics Review, 48: 243 - 255.
- Ekambaram P, dan Lavanya S. 2011. Over Expression of HSP70 and HSF1 in Preeclampsia Endothelial Cells. Aust N Z J obstet Gynecol, 51: 47 - 52.
- Fekete A, Ver A., Bogi K, Treszl A, and Rigo J. 2006. Is Preeclampsia Associated with Increasing Frequency of Hsp70 Gene Polymorphism ? Eur J Obstet Gynecol Reproduct Biol, 126: 197 – 200.
- Fukushima A, Kawahara H, Isurugi C, Syoji T, Oyama R, Sugiyama T and Horiuchi S. 2005. Changes In Serum Levels Of Heat Shock Protein 70 In Preterm Delivery and Pre-Eclampsia. J Obstet Gynaecol Res, 1: 72 - 77.

- Giuliano JS, Patrick ML, Hector RW, and Derek SW. 2011. Extracelullar Heat Shock Proteins: Alarmins for the Host Immune System. *The Open Inflammation Journal*, 4: 49 – 60.
- Harjanto. 2004. Pemulihan Stres Oksidatif Pada Latihan Olahraga. *J. Kedokteran Yarsi*, 3: 81 – 87.
- Hermawan AG, 2012. Mekanisme Apoptosis Pada Sepsis. *Majalah Kedokteran Terapi Intensif*, 2 : 26 – 32.
- Hirano K, Morinobu T, Kim H, Hiroi M, Ban R, Ogawa S, et al. Blood Transfusions Increases Radical Promoting Non-Tranferrin Bound Iron In Preterm Infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, Ed.84.
- Hung JH. 2007. Oxidative Stress and Antioxidants in Preeclampsia. *J.Chin Med Assoc*, 70: 430 – 432.
- Hui Li, Lei Lim, Daxing, Wei R Chen. 2010. Inhibition Of The JNK/Bim Pathway By Hsp70 Prevents Bax Activation In UV Induced Apoptosis. *FEBS letters*, 584: 4672 - 4678.
- Higgins JR, and M de Swiet. 2001. Blood Pressure Measurement And Classification In Pregnancy In Angsar M. D. 2012. Hipertensi Dalam Kehamilan. In S. Prawirohardjo, Ilmu Kebidanan, Jakarta, PT. Bina Pustaka.
- Ishihara N, Matsno H, Murakoshi H, Fernandez JB, Sannoto T, and Maruo T. 2002. Increased apoptosis In Syncytiotrophoblast In Human Term Placenta Complicated By Either Preeclampsia Or Intrauterine Growth Retardation. *Am J Obstet Gynecol*, 186: 158 - 166.
- Kadirvelu A, Chee KH, Chim CL. 2002. Endothelial Dysfunction In Cardiovascular Disease. *Med Progr*. 4 - 12.
- Keita H, Eduardo RSJ, Norma PC, Leticia GS, and Lucia Q. 2013. The Long Term Ingestion Of A Diet High In Extra Virgin Olive Oil Produces Obesity And Insulin Resistance But Protects Endothelial Function In Rats: a Preliminary Study. *BioMed Central*, 5: 1 – 10.
- Kemenkes RI. 2015. Profil Kesehatan Indonesia 2015. Pusat Data dan Informasi Kemenkes RI, Jakarta.
- Keman K, Prasetyorini N, MJ Langgar. 2015. Perbandingan Eskpresi p53, Bcl-2 Dan Indeks Apoptosis Trofoblas Pada Preeklampsia/Eclampsia Dan Kehamilan Normal. *Maj Obstet Ginekol Indones*, 33: 151 - 159.
- Kinanthi. 2009. Minyak Zaitun (Sumber Lemak Nabati). [serial on line]. <http://kinanthidiah.multiply.com/journal/item/4/>.
- Kirkin S, Joos M, and Zornig. 2004. The Role Of Bcl-2 Family Members In Tumorigenesis. *Biochim Biophys Act*, 1644 : 229 - 249.
- Kusumawati D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba, Gadjah University Press, Yogyakarta.
- Kusumawardani B, Arina YD, Azham P. 2014. Perkembangan Plasenta Dan Pertumbuhan Janin Pada Tikus Hamil Yang Diinfeksi Poryphyromonas Ginggivalis. *IDJ*, 3: 22 - 29

- Kokawa K, Shikone T, Otani T, Nishiyama R, Ishii Y, Yagi S, et al. 2001. Apoptosis And The Expression Of Bax And Bcl-2 In Hyperplasia And Adenocarcinoma Of The Uterine Endometrium. *Hum Reprod*, 16: 2211 – 2218.
- Langseth L. 1994. Oxidants and Antioxidants: Some Basic Concepts. In: Bracco U, Jardine NJ (Eds). *Oxidants, Antioxidants, and Disease Prevention*. Belgium: International Life Science Institute.
- Levy R, 2005. The Role Of Apoptosis In Preeclampsia. *IMAJ*, 7: 178 - 181.
- Lopez Maria Jesus O, Berna G, Everado MC, Hermina LG, Franz M and M Carmen L. 2008. An Extra–Virgin Olive Oil Rich In Polyphenolic Compounds Has Antioxidant Effects In Of1 Mice. *The Journal of Nutrition*, 138: 1074 – 1078.
- Lopez Maria Jesus O, Innocenti M, Francisco Martin B, Herminia Lopez GS, and Nadia M. 2012. Effect Of Extra Virgin Olive Oil On Glycaemia In Healthy Young Subjects. *European Journal Of Lipid Science and Technologi*, 114: 999 - 1006.
- Lopez Maria Jesus O, Molina Jose J, Marina V Mir, Encarnacion FR, Francisco M, and Herminia Lopez GS. 2013. Extra Virgin Olive Oil (EVOO) Consumption And Antioxidant Status In Healthy Institutionalized Elderly Human. *Arceives of gerontology and geriatrics*, Elsevier Inc.
- Matsubara K, Higaki T, Yuko M, and Akihiro N. 2015. Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species In The Pahogenesis Of Preeclampsia. *Int.J.Mol.Sci*, 16: 4601 – 4614.
- Mates J.M. 2000. Interrelationship Between Oxidative Damage And Antioxidant Enzyme Activities: An Easy And Rapid Experimental Approach. *Biochemical Education*, 28: 93 - 95.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, and Rodwell VW. 2000. *Biokimia Harper*. Edisi 25, Jakarta, EGC.
- Molvarec A, Prohaszka Z, Nagy B, Szalay J, Fust G, Karadi I and Rigo J Jr. 2006. Association Of Elevated Serum Heat Shock Protein 70 Concentration With Transient Hypertension Of Pregnancy, Preeclampsia And Superimposed Preeclampsia: a Case-Control Study. *Journal of Human Hypertension*, 20: 780 -786.
- Molvarec A, Rigo Jr J, Levente L, Krisztian B, Veronika M, Laszlo C. et.al. 2009. Increased serum heat-shock protein 70 levels reflect systemic inflammation, oxidatative stress and hepatocellular injury in preeclampsia. *Cell Stress and Chaperones*, 14: 151 – 159.
- Molvarec A, Tamasi L, Losonczy G, Madach K, Prohaszka Z, and Rigo J Jr. 2010. Circulating Heat Shock Protein 70 (HSPA1A) In Normal And Pathological Pregnancies. *Cell Stress and Chaperones*, 15: 237 – 247.

- Moon ho Do, Su nam Kim, Seung-Yong Seo, Eui-Ju Yeo and Sun Yeou Kim. 2015.  $\delta$ - Tocopherol Prevents Methylglyoxal-Induced Apoptosis By Reducing ROS Generation And Inhibiting Apoptotic Signaling Cascades In Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Food Funct*, 6: 1568 - 1577.
- Nakbi A, Tayeb W, Abir G, Manel I, Samia D, Issam C. et.al. 2010. Effects Of Olive Oil And Its Fractions On Oxidative Stress And The Livers Fatty Acid Composition In 2,4 Dichlorophenoxyacetic Acid-Treated Rats. *BioMed Central*, 7: 1 - 11.
- Nelawati A, Soemardini, Bambang P. 2016. Pengaruh Pemberian Vitamin E Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Bunting Yang Dipapar Asap Rokok Subakut Terhadap Berat Badan Bayi Lahir Aterm. *Majalah Kesehatan FKUB*, 3: 76 - 85.
- Nugraheni K. 2012. Pengaruh Pemberian Minyak Zaitun Ekstra Virgin Terhadap Profil Lipid Serum Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Sprague Dawley Hiperkolesterolemia. Artikel Penelitian, Undip.
- Peter ME, and Krammer PH. The CD95 (APO-1/Fas) DISC And Beyond. *Cell Death Differ*, 1: 26 – 35.
- Pitozzi V, Michela J, Mohamed Z, Cristina L, Elisabetta B, Maura L, et.al. 2010. Effects Of Dietary Extra – Virgin Olive Oil On Behaviour And Brain Biochemical Parameter In Ageing Rats. *British Journal of Nutrition*, 103: 1674 – 1683.
- Ramos S. 2007. Effects Of Dietary Flavonoids On Apoptotic Pathways Related To Cancer Chemoprevention. *J. Nutr Biochem*, 7: 420 - 427.
- Riawan W, Keman K, Wibowati S, Ali M. Peningkatan Insiden Apoptosis Pada Sel-Sel Trofoblas Jaringan Plasenta Preeklampsia Berkaitan Dengan Peningkatan Ekspresi p53 Dan Penurunan :AR Teraktivasi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, XX: 136 - 141.
- Richard BW, Barbara SV, Rachel AA, Jene ES, Michael JT. 2001. Pro-Oxidant Effect Of Vitamin E In Cigarette Smokers Consuming A High Polyunsaturated Fat Diet. *Arterioscler Throb Vasc Biol*, 21: 1029 - 1033.
- Redman Kaplan's. 2002. *Clinical Hypertension*, Ed. 8<sup>th</sup>, Norman .Kaplan.
- Redman CW, and Sargent IL. 2005. Latest Advances In Understanding Preeclampsia. *Science*, 308: 1592 - 1594.
- Robert JM, Judith L, Lisa MB, Jose MB, Eduardo B and Anibal M. 2003. Nutrient Involvement In Preeklampsia. *The Journal of Nutrition*, 133: 1684 – 1692.
- Robert JM, Carl A Hubel. 2004. Oxydative Stress in Preeclampsia. *AJOG*, 190: 117 – 118.
- Roseta M, C Masdiana, Padaga, and Rositawati I. 2014. Efek Terapi Kasein Yogurt Susu Kambing Terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) Dan Histopatologi Aorta Abdominal Tikus (*Rattus Norvegicus*) Model Hipertensi Yang Diinduksi Garam-DOCA

- (Deoxycorticosterone Acetate). Monickrose 1508@gmail.com. Universitas Brawijaya.
- Roth E, and Pircher H. IFN-Gamma Promotes Fas Ligand- And Perforin-Mediated Liver Cell Destruction By Cytotoxic CD8 T Cells. *J Immunol*, 3: 1588 – 1594.
- Roziana, Subagio HW, Suhartono, and Nyoman SW. 2015. Pengaruh Suplementasi Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) Terhadap Kadar Gamma Glutamil Transferase (GGT) dan Kadar Nitric Oxide (NO) pada Tikus (Studi pada Tikus Rattus Novergicus Strain Wistar Jantan Terpapar Inhalasi Uap Benzene). *Jurnal Gizi Indonesia*, 3: 73 - 79.
- Salem AA. 2015. Effect Of Feeding On Olive Oil And Thyme On Pregnancy And Lactation Periods. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 4: 19 - 28.
- Samsuria. 2009. Efek Asap Rokok Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Bunting Terhadap Tampilan Fisiologis Induk Dan Anaknya Setelah Dilahirkan. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Subakir S.B, Dewi I.S.S, and Arleni. 2008. Kadar MDA dan HSP 70 Pada Plasenta Penderita Preeklampsia. *Makara Kesehatan*, 12: 92 – 94.
- Setiawan B, Suhartono E. 2007. Peroksidasi Lipid Dan Penyakit Terkait Stress Oksidatif Pada Bayi Premature. *Maj Kedokt Indon*, 57: 1 - 5.
- Suparman E. 2012. Kadar Lipid Peroksida pada Kehamilan Normotensi dan Preeklampsia. *Majalah Obstetri & Ginekologi*, 20: 65 - 71.
- Suryohudoyo P. 2000. Oksidan, Antioksidan dan Radikal bebas. In: *Ilmu Kedokteran Molekuler*. Kapita Selekt, Jakarta, Sagung Seto.
- Sulistiyowati Y. 2006. Pengaruh Pemberian Likopen Terhadap Status Antioksidan (Vitamin C, Vitamin E, Dan Gluthathion Peroksidase) Tikus (Rattus Norvegite mbagas Galur Sprague Dawley) Hiperkolesterolemik. Tesis. Universitas Diponegoro.
- Sujatmiko T, Rumekti H Diah, Betty SN. 2015. Perbandingan Rerata Ekspresi Protein Bax Dan Bak Pada Preeklampsia Berat Dan Kehamilan Normotensi, *jurnal kesehatan reproduksi (IPAKESPRO)*, 2: 3 - 6.
- Sharma A, S Bansal dan RK Nagpal. 2003. Lipid Peroxidation In Bronchial Asthma. *Indian J. of Pediatrics*, 70: 715 - 717.
- Sherwood L. 2004. *Human Physiology From Cells To Systems*. 4<sup>th</sup> ed. Belmont CA., Thomson Brooks/Cole.
- Skommer JT, Brittain S, and Rayhaudhuri. 2010. Bcl-2 Inhibits Apoptosis By Increasing The Time-To-Death And Intrinsic Cell -To-Cell Variations In The Mitochondrial Pathway Of Cell Death. *Apoptosis*, 15: 1223 - 1233.
- Takiuti NH, Kahhale S, Zugaib M. Stress In Pregnancy: A New Wistar Rat Model For Human Preeklampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 3: 544 - 550.



- Teguh M, C Johannes Mose, Jusuf SE, Betty SH. 2010. Perbedaan Indeks Apoptosis Plasenta Antara Preeklampsia Dan Kehamilan Normal Serta Hubungannya Dengan Berat Badan Lahir Dan Tekanan Darah Ibu, *Majalah Kedokteran Bandung*, 42: 1 - 5.
- Thorburn A. 2004. Death Receptor-Induced Cell Killing. *Cell Signal*, 2: 139 - 144.
- Van Wijk MJ, Kublickiene K, Boer K, and Van Bavel E. 2000. Vascular Function In Preeclampsia. *J Cardio vasc Res*, 47: 38 - 48.
- Villarejo AB, Ramirez-Sanchez M, Segarra AB, Martinez-Canamero M, and Prieto. 2015. Influence Of Extra Virgin Olive Oil On Blood Pressure And Kidney Angiotensinase Activities In Spontaneously Hypertensive Rats. *Planta Med*, 8: 664 - 669.
- Weixing Chen, Margaret B, Jessie M, David A and Helen L Gensler. 2009. Inhibitions Of Cyclobutane Pyrimidine Dimer Formation In Epidermal P53 Gene Of UV- Irradiated Mice By A Tocopherol. *Journal nutrition of cancer*, 29: 205 - 211.
- Wijayanto H, Pangestiningih TW, and Erdiansyah R. 2007. Pengaruh Pemberian Kafein Pada Masa Organogenesis Terhadap Berat Lahir Fetus Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *J. Ked. Hewan*, 1: 53 - 58.
- Winarsi Hery. 2011. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta.
- Yudomustopo B. 2015. Peroksida Lipid Dan Glutation Peroksidase Jantung Akibat Diet Makanan Tinggi Garam : Penelitian Eksperimental Pada Model Hewan Coba Tikus Sprague Dawley Bunting. *Penelitian Kesehatan, JKPKB*, 30: 36 – 54.
- Yung HW, Atkinson D, Tim CS, Matts Olovson, D Stephen CJ, and Graham JB, et.al. 2014. Differential Activation Of Placental Unfolded Protein Response Pathway Implies Heterogeneity In Causation Of early- and late-onset Pre-eclampsia. *The Journal of Pathology*, 234: 262 – 272.
- Yusniar. 2004. *Faktor Risiko Kejadian Preeklampsia dan Eklampsia di RSUD Labuan Baji Makassar*. Skripsi. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Zeeman GG, and Dekker G.A. 1992. *Pathogenesis Of Preeclampsia A Hypothesis* In Angsar M. D. 2012. *Hipertensi Dalam Kehamilan*. In S. Prawirohardjo, Ilmu Kebidanan, Jakarta, PT. Bina Pustaka.

## **RIWAYAT HIDUP**

Nama : Evi Irianti  
Tempat / Tanggal Lahir : Medan, 5 November 1969  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Status : Kawin  
Riwayat Pendidikan : SD SWASTA PERTASA MEDAN 1982  
SMP NEGERI X MEDAN 1985  
SPK DEPKES RI MEDAN 1988  
AKPER DEPKES RI WIJAYAKUSUMA  
JAKARTA 1999  
FKM USU MEDAN 2001  
BIOMEDIK FK USU MEDAN 2008  
FMIPA USU 2018  
Riwayat Pekerjaan : Staf Puskesmas Kedan Durian Medan 2000  
Staf Pengajar Akbid DepKes RI Medan 2003  
Dosen Poltekkes Kemenkes Medan dari  
2004 hingga sekarang