



**EFEK PEMBERIAN
KOMBINASI VITAMIN E DAN VITAMIN C
TERHADAP KADAR NITRIC OXIDE (NO)
PADA PREEKLAMPSIA**

DEASY SAMANTHA ARDINI

TESIS

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
OBSTETRI GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2005

UPT-PUSTAK-UNDIP	
No. Daft.	4481/T/FR/Cj
Tgl.	16-8-06

**EFEK PEMBERIAN
KOMBINASI VITAMIN E DAN VITAMIN C
TERHADAP KADAR NITRIC OXIDE (NO)
PADA PREEKLAMPSIA**

**Diajukan kepada Bagian Obstetri Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Sebagai syarat untuk memperoleh
Gelar Dokter Spesialis
Dalam Bidang Obstetri Ginekologi**

**Oleh
DEASY SAMANTHA ARDINI**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
OBSTETRI GINEKOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2005**

HALAMAN PENGESAHAN TESIS

Judul Penelitian : **EFEK PEMBERIAN KOMBINASI VITAMIN E DAN VITAMIN C TERHADAP KADAR *NITRIC OXIDE* (NO) PADA PREEKLAMPSIA**

Nama peneliti : dr. Deasy Samantha Ardini

Bagian : Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Pembimbing I : dr. Hartono Hadisaputro, SpOG(K)

Pembimbing II : dr. Herman Kristanto, MS, SpOG(K)

Tesis ini merupakan milik: Bagian Obstetri Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
RS Dr Kariadi Semarang

Semarang, Desember 2005

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Hartono Hadisaputro, SpOG(K)
NIP. 140 067 785

dr. Herman Kristanto, MS, SpOG(K)
NIP. 131 844 805

Ketua Bagian
Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP

Ketua Program Studi PPDS I
Obstetri & Ginekologi FK UNDIP

dr. Suharsono, SpOG(K)
NIP. 130 354 875

dr. Hartono Hadisaputro, Sp. OG(K)
NIP. 140 067 785



KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmatNya penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Efek pemberian kombinasi vitamin E dan vitamin C terhadap kadar NO pada preeklampsia”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri dan Ginekologi pada Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. dr. Suharsono, SpOG(K) sebagai Ketua Bagian / SMF Obsgin FK UNDIP dan dr. Hartono Hadisaputro, SpOG(K) sebagai Ketua Program Studi PPDS I Obsgin FK UNDIP.
2. dr. Hartono Hadisaputro, SpOG(K) dan dr. Herman Kristanto, MS, SpOG(K) atas kesabarannya dalam membimbing penulisan tesis ini.
3. Prof. dr. Noor Pramono, MMedSc, SpOG (K) dan dr. Widiastuti Samekto, SpS(K) atas bimbingan dalam metodologi dan statistik pada penulisan tesis ini.
4. Para Guru Besar dan Staf di Bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNDIP / RS. Dr Kariadi, Bagian Patologi Anatomi, Bagian Anestesiologi, Bagian IKA, Bagian Ilmu Bedah, Bagian Radiologi, atas bimbingannya selama pendidikan saya.
5. Direktur RS dr Kariadi Semarang yang telah memberikan izin dan segala fasilitas yang diperlukan dalam rangka penelitian saya.

6. Kepala Puskesmas, Bidan dan karyawan/wati Puskesmas Halmahera dan Puskesmas Jatingaleh Semarang atas kerjasamanya selama penelitian ini.
7. Seluruh keluarga yang telah dengan sabar membantu dan memberi dukungan selama pendidikan saya..
8. Para dokter spesialis, Dokter umum, Sejawat Residen, Bidan, Paramedis, Karyawan / wati RSUD dr. Kariadi Semarang atas kerjasamanya selama ini.
9. Para pasien yang berada di poliklinik hamil RS. Dr. Kariadi Semarang, Puskesmas Halmahera, dan Puskesmas Jatingaleh Semarang yang telah bersedia mengikuti penelitian.

Segala kritik dan saran yang disampaikan untuk tulisan ini sangat saya harapkan, karena saya sadar bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna. Saya berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat untuk pengembangan pelayanan Obstetri dan Ginekologi di masa mendatang.

Semarang, Juli 2005

Deasy Samantha Ardini

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GRAFIK	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	
1.1. Latar belakang penelitian	1
1.2. Permasalahan penelitian	4
1.3. Keaslian penelitian	4
1.4. Tujuan penelitian	5
1.5. Manfaat penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Definisi preeklampsia	6
2.2. Faktor predisposisi preeklampsia	7
2.3. Etiologi dan patogenesis preeklampsia	8
2.3.1. Iskemia plasenta	8
2.3.2. Faktor imunologi	9
2.3.3. Disfungsi endotel	9
2.4. Stress oksidatif	12
2.5. Disfungsi NO pada preeklampsia	15
2.6. Antioksidan	21
2.6.1. Vitamin E	23
2.6.2. Vitamin C	27
2.7. Kerangka teori	30

2.8. Kerangka konsep	31
3. HIPOTESIS	32
4. METODE PENELITIAN	
4.1. Rancangan penelitian	33
4.2. Tempat dan waktu penelitian	33
4.3. Cara pengambilan sampel	33
4.4. Subyek penelitian	33
4.5. Perhitungan besar sampel	34
4.6. Variabel penelitian	35
4.7. Proses penelitian	36
4.8. Pengolahan dan analisis data	37
4.9. Alur penelitian	38
4.10. Definisi operasional	38
4.11. Etika penelitian	40
5. HASIL PENELITIAN	
5.1. Karakteristik penderita	42
5.2. Kadar NO	44
5.3. Tekanan darah	46
5.4. Asupan vitamin E dan vitamin C	48
6. PEMBAHASAN	50
7. SIMPULAN DAN SARAN	56
8. DAFTAR PUSTAKA	58
9. LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Relaksasi vaskular yang diperantarai oleh NO	17
2. Reaksi radikal bebas dengan NO	18
3. Struktur kimia vitamin E	24
4. Reaksi α -tocopherol dengan radikal bebas.....	26
5. Struktur kimia vitamin C	27
6. Peran vitamin C dalam proses daur ulang vitamin E	29

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Karakteristik subyek penelitian pada kelompok vitamin dan plasebo	44
2. Rerata kadar NO pada kelompok vitamin dan kelompok plasebo.....	45
3. Rerata tekanan darah sistolik dan diastolik sebelum dan sesudah	47
perlakuan pada setiap kelompok.	
4. Asupan vitamin E dan vitamin C pada kelompok vitamin dan plasebo.....	49

DAFTAR GRAFIK

Nomor	halaman
1. Kadar NO pada kelompok vitamin dan kelompok plasebo	46
2. Tekanan darah sistolik pada kelompok vitamin dan plasebo	47
3. Tekanan darah diastolik pada kelompok vitamin dan plasebo	48

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	halaman
1. Surat persetujuan penelitian	65
2. Status penelitian	66
3. Survey diet	67
4. Prinsip pemeriksaan	71
5. Prosedur pemeriksaan NO	72

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang penelitian

Preeklampsia dan eklampsia masih merupakan masalah dalam pelayanan obstetri di Indonesia dan merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas ibu dan janin disamping perdarahan dan infeksi¹⁻². Preeklampsia terjadi sekitar 3-10 % dari seluruh kehamilan, dengan angka yang bervariasi pada masing-masing negara³. Di Amerika Serikat, hipertensi dalam kehamilan merupakan penyebab kedua kematian maternal, dan 15% dari kematian ibu karena kehamilan disebabkan oleh preeklampsia⁴. Di negara yang sedang berkembang seperti Indonesia angka kejadian preeklampsia berkisar 7 - 10 % dari seluruh kehamilan. Pada penelitian di RSUP Dr. Kariadi tahun 1993 didapatkan angka kejadian preeklampsia 2,45 % dan eklampsia 0,91%⁵. Pada tahun 1996 di RSUP Dr.Kariadi Semarang preklampsia dan eklampsia masih merupakan penyebab utama kematian maternal (40%) diikuti infeksi (26,6%) dan perdarahan (24,4%)⁶. Sedangkan pada tahun 1999-2000, preeklampsia dan eklampsia juga merupakan penyebab utama kematian maternal (52,9%) diikuti perdarahan (26,5%) dan infeksi (14,7%)⁷.

Penyebab preeklampsia sampai saat ini belum diketahui secara pasti sehingga penyakit ini oleh Zweifel (1916) disebut "*the disease of theories*"¹. Oleh karena itu berbagai penelitian terus dilakukan untuk mengetahui patogenesis preeklampsia, dengan hasil berbagai temuan baru yang terungkap. Penelitian membuktikan bahwa plasenta penderita preeklampsia ternyata mengalami iskemia

akibat menurunnya aliran darah ke plasenta yang disebabkan karena adanya perubahan pada arteri spiralis⁸⁻¹⁰. Pada plasenta yang mengalami iskemia, akan diproduksi peroksida lipid yang tidak terkendali karena tidak diimbangi dengan kenaikan antioksidan. Peroksida lipid selanjutnya akan masuk dalam sirkulasi darah dan terikat dengan lipoprotein. Kontak sel endotel dengan peroksida lipid akan menimbulkan kerusakan peroksidatif membran sel yang disebut dengan disfungsi endotel¹¹. Disfungsi endotel mengakibatkan banyak hal, salah satunya yaitu terjadi penurunan *nitric oxide* (NO) atau *endothelial derived relaxing factor* (EDRF), sehingga menimbulkan peningkatan tahanan perifer dan pada akhirnya akan terjadi hipertensi¹²⁻¹³.

Belakangan ini para ahli mengajukan hipotesis bahwa disfungsi primer dari preeklampsia adalah akibat defisiensi relatif dari NO yang tersedia, serta peroksinitrit (ONOO⁻) yang berlebihan. Kombinasi dari defisiensi NO dan peningkatan ONOO⁻ secara langsung maupun tidak langsung dapat memicu timbulnya perubahan fisiologis maupun serologis yang berkaitan dengan preeklampsia, misalnya tekanan darah, peningkatan laju filtrasi glomerulus, proteinuria, disfungsi platelet, peningkatan *thromboxane* (TXA) dan endotelin, serta penurunan *prostacyclin* (PGI₂)¹³⁻¹⁴. NO merupakan vasodilator endogen yang disintesis dari asam amino non esensial *L-arginine* dengan perantaraan enzim yang disebut *nitric oxide synthase* (NOS). NO yang diproduksi dalam sel endotel menyebabkan relaksasi otot vaskular melalui jalur yang tergantung pada *cyclic-Guanosine Monophosphate* (c-GMP)¹³.

Hipotesis mengenai disfungsi endotel dan defisiensi NO tidak terlepas dari suatu kondisi yang disebut stress oksidatif. Stress oksidatif adalah

ketidakseimbangan antara kekuatan oksidan dan antioksidan, dimana komponen oksidan mendominasi dan menghasilkan efek merugikan¹²⁻¹³. Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses-proses biologis alami dan melibatkan apa yang disebut sebagai senyawa oksigen reaktif. Sebagian diantaranya berbentuk radikal bebas, seperti radikal hidroksil (OH), radikal peroksil (OOH) dan ion superoksida (O_2^-), sebagian lain bukan radikal seperti oksigen tunggal ($^{\cdot}O_2$), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan ion hipoklorit (ClO^-)¹⁵. Dampak negatif senyawa-senyawa tersebut timbul karena reaktivitasnya sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel. Peroksida lipid yang mengakibatkan disfungsi endotel merupakan hasil dari reaksi asam lemak tak jenuh dengan radikal bebas, terutama radikal hidroksil melalui suatu reaksi rantai yang dikenal sebagai peroksidasi lipid^{11-12,16}. Maka NO akan berkurang sebagai akibat sekunder dari stress oksidatif. Peningkatan radikal bebas yang terjadi pada preeklampsia juga mengakibatkan penurunan *tetrahydrobiopterin* (BH_4) sebagai kofaktor pembentukan NO dan berakibat peningkatan produksi O_2^- . O_2^- akan bereaksi dengan NO yang telah ada menghasilkan $ONOO^-$, sehingga NO yang siap pakai akan berkurang dengan semua akibatnya¹³.

Dalam arti biologis antioksidan berarti semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan. Dalam meredam dampak negatif oksidan diterapkan strategi dua lapis, yaitu mencegah terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan secara berlebihan dan mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan. Vitamin E dan C merupakan antioksidan yang kuat¹⁵. Pada preeklampsia vitamin E dan C diduga berperanan dalam mencegah peningkatan proses stress oksidatif yang

mengakibatkan turunnya kadar NO. Efek dari kombinasi keduanya dikatakan lebih nyata dibandingkan dengan bila diberikan sendiri-sendiri ¹⁷. Sebuah penelitian menemukan penurunan angka kejadian preeklampsia setelah pemberian antioksidan (vitamin C 1000 mg dan vitamin E 400 IU per hari) mulai umur kehamilan 22 minggu pada kelompok resiko tinggi ¹⁸. Walaupun demikian efek dari antioksidan dalam mencegah kejadian preeklampsia masih menjadi kontroversi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian antioksidan, yaitu vitamin E dan vitamin C terhadap kadar NO pada penderita preeklampsia.

1.2 Permasalahan penelitian

Apakah pemberian kombinasi vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000 mg/hari selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar NO serum pada preeklampsia?

1.3 Keaslian penelitian

Beberapa penelitian tentang pemberian vitamin E dan vitamin C pada preeklampsia telah dilakukan baik di dalam maupun luar negeri, tetapi penelitian tentang efek vitamin E dan vitamin C terhadap kadar NO pada preeklampsia belum pernah dilakukan. Penelitian di Universitas Hasanudin mendapatkan penurunan secara bermakna dari kadar peroksida lemak serum pada penderita preeklampsia ringan yang diberikan vitamin E ¹⁹. Di London telah diteliti efek suplementasi vitamin C 1000 mg/hari dan vitamin E 400 IU/hari sejak umur kehamilan 22 minggu dengan hasil penurunan kejadian preeklampsia dan peningkatan kadar vitamin E dan C plasma setelah pemberian vitamin ¹⁸. Peneliti yang sama menemukan perbaikan disfungsi plasenta, disfungsi endotel, dan stress oksidatif pada preeklampsia (kadar

asam askorbat, 8-epi-prostaglandin, leptin, dan rasio PAI-1/PAI-2) setelah pemberian vitamin E 400IU/hari dan vitamin C 1000mg/hari mulai umur kehamilan 20-22 minggu²⁰. Beberapa penelitian di luar negeri yang membuktikan adanya penurunan kadar NO pada preeklampsia telah pula dilakukan²¹⁻²³, tetapi mereka tidak melakukan intervensi berupa pemberian vitamin. Efek positif vitamin E maupun vitamin C terhadap NO dan endotel vaskular telah pula dibuktikan oleh beberapa peneliti pada penderita penyakit jantung dan dislipidemia²⁴⁻²⁸, tetapi belum pernah dilakukan pada penderita preeklampsia.

1.4 Tujuan penelitian

Membuktikan bahwa pemberian kombinasi vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000 mg/hari selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar NO serum pada preeklampsia.

1.5 Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran peranan antioksidan khususnya vitamin E dan vitamin C untuk mencegah bertambah beratnya preeklampsia sehingga pemberiannya secara tepat dapat diterapkan dalam praktek.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Preeklampsia

Preeklampsia adalah timbulnya hipertensi disertai dengan proteinuria pada umur kehamilan lebih dari 20 minggu dan masa nifas. Disebut hipertensi yaitu bila tekanan sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg. Disebut dengan proteinuria bila terdapat protein dalam urin dengan kadar ≥ 300 mg dalam 24 jam, bila terdapat protein dalam urin dengan kadar ≥ 300 mg per liter, atau dengan pemeriksaan kualitatif $\geq +1$ pada pengambilan urine secara acak²⁹⁻³⁰.

Edema sekarang tidak lagi menjadi tanda yang sah untuk menegakkan preeklampsia, oleh karena edema biasa dijumpai pada wanita hamil. Sepertiga wanita hamil timbul edema pada usia kehamilan 38 minggu dan tidak ada korelasi statistik antara edema dan hipertensi¹.

Preeklampsia dibagi menjadi preeklampsia berat dan preeklampsia ringan. Preeklampsia berat adalah preeklampsia yang disertai dengan salah satu gejala atau tanda sebagai berikut³¹:

- Tekanan darah sistolik ≥ 160 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 110 mmHg.
- Proteinuria ≥ 5 gr/24 jam atau $\geq +4$ dengan analisis kualitatif.
- Oliguria, yaitu produksi urin < 500 ml per 24 jam yang disertai kenaikan kadar kreatinin plasma.
- Gangguan visus dan serebral.

- Nyeri epigastrium atau nyeri kudran kanan atas abdomen.
- Edema paru-paru dan sianosis.
- Pertumbuhan janin terhambat.
- Adanya sindroma HELLP (*Hemolysis; Elevated liver enzymes; Low platelet*).

Disebut preklampsia ringan bila tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg disertai dengan proteinuria tanpa salah satu gejala atau tanda dari preeklampsia berat³⁰⁻³¹.

2.2 Faktor predisposisi preeklampsia

Wanita hamil cenderung dan mudah mengalami preeklampsia bila mempunyai faktor-faktor predisposisi sebagai berikut^{1,10,32}:

1. Primigravida.
2. Hiperplasentosis : Mola hidatidosa, kehamilan ganda, diabetes melitus, hidrops fetalis, bayi besar.
3. Umur yang ekstrem.
4. Riwayat preeklampsia-eklampsia pada kehamilan sebelumnya.
5. Riwayat dalam keluarga pernah preeklampsia atau eklampsia.
6. Penyakit ginjal dan hipertensi yang sudah ada sebelum kehamilan.
7. Obesitas.
8. *Thrombophilia*. Keadaan ini sering didapatkan pada sindrom antifosfolipid, defisiensi faktor V Leiden, aktivasi resistensi protein C, dan hiperhomosisteinemia.
9. Dislipidemia.

2.3 Etiologi dan patogenesis preeklampsia

Pada preeklampsia patogenesis dan patofisiologi serta perubahan-perubahan patologi fungsi organ-organ telah banyak dibicarakan, namun belum ada yang memuaskan. Oleh karena banyaknya teori yang diajukan untuk mencari etiologi dan patofisiologi maka penyakit ini disebut dengan *the disease of theories*¹.

Patogenesis yang menerangkan terjadinya preeklampsia antara lain:

2.3.1 Iskemia plasenta

Defek utama terjadi pada plasenta dimana terdapat invasi trofoblas yang tidak adekuat pada arteri spiralis yang menyebabkan hipoperfusi plasenta dengan akibat iskemia plasenta. Pada kehamilan normal, invasi trofoblas ke dalam jaringan desidua menghasilkan suatu perubahan fisiologis pada arteri spiralis. Hasil akhir dari perubahan tersebut adalah arteri spiralis yang tadinya tebal dan muskularis menjadi lebih lebar berupa pembuluh darah yang ber dinding tipis, lemas dan berbentuk seperti kantong yang memungkinkan terjadinya dilatasi secara pasif untuk menyesuaikan dengan kebutuhan aliran darah yang meningkat¹⁰⁻¹¹. Pada preeklampsia proses plasentasi tersebut tidak berjalan sebagaimana mestinya oleh karena tidak semua arteri spiralis mengalami invasi oleh sel-sel trofoblas³³. Plasenta pada penderita preeklampsia menunjukkan ekspresi abnormal dari molekul integrin yang mengatur interaksi antar matriks sel sehingga perubahan hanya terjadi pada sebagian arteri spiralis segmen desidua, sementara arteri spiralis segmen miometrium masih diselubungi oleh sel-sel otot polos. Selain itu ditemukan juga adanya hiperplasia tunika media dan trombosis³⁴. Garis tengah arteri spiralis 40%

lebih kecil dibandingkan dengan kehamilan normal, hal ini menyebabkan insufisiensi dan iskemia¹⁰. Teori tentang bagaimana sel-sel trofoblas gagal mengadakan invasi arteri spiralis sampai saat ini belum diketahui dengan jelas¹².

2.3.2 Faktor imunologi

Maladaptasi imun diduga memegang peranan pada patofisiologi terjadinya preeklampsia. Para ahli mengemukakan pendapat bahwa preeklampsia yang “murni” adalah terjadi pada kehamilan pertama kali. Ini didasarkan pada data bahwa angka kejadian preeklampsia lebih rendah pada wanita yang sebelumnya telah pernah mengalami kehamilan normal. Tetapi risiko akan meningkat bila wanita tersebut berganti pasangan seksual. Paparan berulang terhadap sperma dari individu yang sama juga merupakan faktor pencegah terjadinya preeklampsia¹⁰. Walaupun belum jelas dipahami, hipotesis yang mendasari efek protektif dari paparan sperma yaitu bahwa sel T dalam traktus genitalis dapat mengenali antigen tanpa adanya *human leucocyt antigen* (HLA) kelas I pada *antigen presenting cells* (APC), sehingga trofoblas yang mengandung sedikit HLA klasik dapat dikenali. Selain itu limfosit T kurang respon terhadap HLA kelas I paternal, yang mungkin berpengaruh terhadap reaksi imun¹⁴. Maladaptasi imun diduga mengakibatkan terjadinya kegagalan invasi trofoblas ke desidua, tetapi mekanisme yang mendasarinya belum diketahui dengan jelas¹².

2.3.3 Disfungsi endotel

Salah satu teori mengenai patogenesis preeklampsia yang saat ini dianggap penting

yaitu teori mengenai disfungsi endotel. Disfungsi endotel diduga menjadi dasar dari timbulnya manifestasi klinis pada preeklampsia³⁵. Teori ini tidak bisa lepas dari teori patogenesis preeklampsia yang lain, salah satunya yaitu teori iskemia plasenta. Pada saat plasenta mengalami iskemia, maka plasenta akan menghasilkan peroksida lipid yang selanjutnya akan masuk dalam sirkulasi darah dan terikat dengan lipoprotein, khususnya *low density lipoprotein* (LDL)³³. Dalam kadar yang rendah peroksidasi lipid merupakan peristiwa normal dalam kehidupan sel ataupun jaringan. Pada preeklampsia berat dijumpai perubahan ultrastruktur mitokondria pada pembuluh darah arteri uterina dan jaringan plasenta. Mitokondria adalah sumber oksigen radikal dan diperkaya oleh asam lemak tak jenuh. Maka plasenta dapat merupakan sumber terbesar dari produksi peroksida lipid pada kehamilan. Proses peroksidasi lipid meningkat sesuai dengan meningkatnya umur kehamilan, bahkan pada akhir kehamilan aktivitas menjadi dua kali lipat¹¹⁻¹². Dalam keadaan normal peroksidasi lipid selalu dijaga dalam keadaan seimbang melalui peran antioksidan. Bila kadar antioksidan rendah maka peroksidasi lipid menjadi tidak terkendali dan timbullah keadaan yang disebut dengan stress oksidatif¹⁵. Hal tersebut ditunjukkan oleh beberapa penelitian, dimana pada preeklampsia terjadi penurunan kadar antioksidan dan peningkatan produk hasil peroksidasi lipid^{12,19,36-37}.

Sekali terjadi peroksidasi lipid yang tidak terkendali, maka proses akan berlangsung terus. Karena lapisan sel endotel merupakan lapisan yang terpapar langsung dengan darah arterial, maka sel endotel menjadi sangat rentan terhadap proses peroksidasi lipid. Kontak sel endotel dengan peroksida lipid akan menimbulkan kerusakan peroksidatif membran sel endotel. Endotel diketahui berfungsi memelihara integritas dan patensi kompartemen vaskuler, memelihara

fluiditas darah, mengatur trombosis dan mencegah koagulasi intravaskuler, regulasi inflamasi, regulasi pertumbuhan sel, oksidasi LDL, dan menjaga tonus vaskuler serta mengatur permeabilitas dinding pembuluh darah terhadap berbagai sel dan molekul³⁸. Kerusakan sel endotel menimbulkan diskontinuitas lapisan pembuluh darah sebelah dalam. Kerusakan sel endotel ini bila dibiarkan akan menimbulkan kebocoran, khususnya pada sistem vaskuler mikro. Secara alamiah, tubuh akan "menutup" tempat kerusakan endotel tersebut dengan agregasi trombosit. Dalam keadaan normal, sel endotel memproduksi PGI₂ yang relatif tinggi. Sedangkan trombosit akan memproduksi TXA. PGI₂ adalah bahan vasodilator kuat, sedangkan TXA merupakan bahan vasokonstriktor kuat. Akibat rasio PGI₂/TXA yang menurun maka efek vasokonstriktif akan tinggi dan terjadilah hipertensi menyeluruh¹¹. Selain itu terjadi penurunan NO atau EDRF, sehingga menimbulkan peningkatan tahanan perifer dan peningkatan kepekaan terhadap agonis vasopresor, sehingga terjadi hipertensi. Inilah yang disebut dengan disfungsi endotel, suatu keadaan dimana didapatkan adanya ketidakseimbangan antara faktor vasodilatasi dan vasokonstriksi^{3,12-13}. Disfungsi endotel mengakibatkan keluarnya zat-zat mediator inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, dan fibronektin⁴⁰⁻⁴¹, serta mikropartikel endotel yang terbukti meningkat pada preeklampsia³⁹. Membran sel lain yang juga peka terjadi peroksidasi lipid yaitu membran sel eritrosit, sehingga akan terjadi hemolisis yang akan meningkatkan kadar zat besi serum pada preeklampsia sampai dua kali lipat. Zat besi bersama protein hematin merupakan katalis untuk proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang dipicu oleh zat besi serum, dipermudah oleh keadaan hiperlipidemia pada kehamilan¹¹

Peroksida lipid yang merusak sel endotel kapiler glomerulus meningkatkan permeabilitas kapiler terhadap protein sehingga menyebabkan proteinuria, sedangkan peningkatan permeabilitas sel endotel menyebabkan edema. Tampak bahwa tiga manifestasi utama dari preeklampsia, yaitu hipertensi, proteinuria, dan edema disebabkan oleh disfungsi endotel akibat peroksidasi lipid¹⁰⁻¹².

2.4 Stress oksidatif

Sebelumnya kita harus mengetahui definisi dari oksidan dan radikal bebas. Dalam ilmu kedokteran keduanya sering dibaurkan, karena memiliki sifat-sifat yang mirip. Oksidan yaitu senyawa penerima elektron atau senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron. Radikal bebas adalah atom atau molekul (kumpulan atom) yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit terluarnya^{15,38}.

Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses-proses biologis alami dan melibatkan apa yang disebut sebagai senyawa oksigen reaktif. Sebagian diantaranya berbentuk radikal seperti OH, OOH, dan O_2^- , sebagian lain bukan radikal seperti O_2 , H_2O_2 , dan ClO^- ¹⁵. Walaupun oksigen sangat penting untuk metabolisme normal makhluk hidup, oksigen juga dapat meningkatkan jumlah radikal bebas. Senyawa oksigen reaktif berasal dari oksigen, yang sangat diperlukan oleh organisme aerobik untuk menghasilkan *adenosine triphosphate* (ATP), suatu senyawa yang merupakan sumber energi bagi kebanyakan makhluk hidup melalui proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di mitokondria. Dalam proses fosforilasi oksidatif terjadi proses pengalihan elektron. Dalam keadaan tertentu misalnya stress oksidatif proses pengalihan elektron berjalan

yang antara lain berupa hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila kerusakan tak terlalu parah maka masih bisa diperbaiki dengan sistem perbaikan DNA. Namun apabila kerusakan terlalu parah misalnya rantai DNA terputus di berbagai tempat, kerusakan tersebut tak dapat diperbaiki dan replikasi sel terganggu. Sistem perbaikan DNA itu sendiri sering mengakibatkan mutasi yang dapat menimbulkan kanker. Oksidan dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam-asam amino yang menyusun protein tersebut sehingga kehilangan fungsi biologisnya (misalnya: enzim menjadi kehilangan aktivitasnya)¹⁵. Dengan demikian, sebagian besar struktur sel sangat rentan, termasuk membran, protein, dan DNA, yang dapat menyebabkan mutasi dan kematian sel³⁸.

Stress oksidatif yaitu ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan. Dalam keadaan normal tubuh manusia dilengkapi dengan berbagai mekanisme untuk mempertahankan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Jika jumlah radikal bebas yang terbentuk melampaui batas kemampuan mekanisme pertahanan antioksidan yang dimiliki tubuh, maka rangkaian reaksi yang terjadi akan bersifat destruktif dan menyebabkan kerusakan sel^{11,38}. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan ini dijumpai dalam preeklampsia, dan diduga merupakan awal dari berbagai reaksi yang kompleks yang menimbulkan sindrom klinis dari preeklampsia¹².

Maka pada preeklampsia timbul berbagai manifestasi klinik maupun laboratoris yang sebenarnya merupakan dampak dari keadaan stress oksidatif yang mengakibatkan disfungsi endotel. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang dapat dilihat pada preeklampsia membuat para ahli memikirkan

kemungkinan untuk memberikan antioksidan sebagai upaya pencegahan terjadinya atau bertambah beratnya preeklampsia.

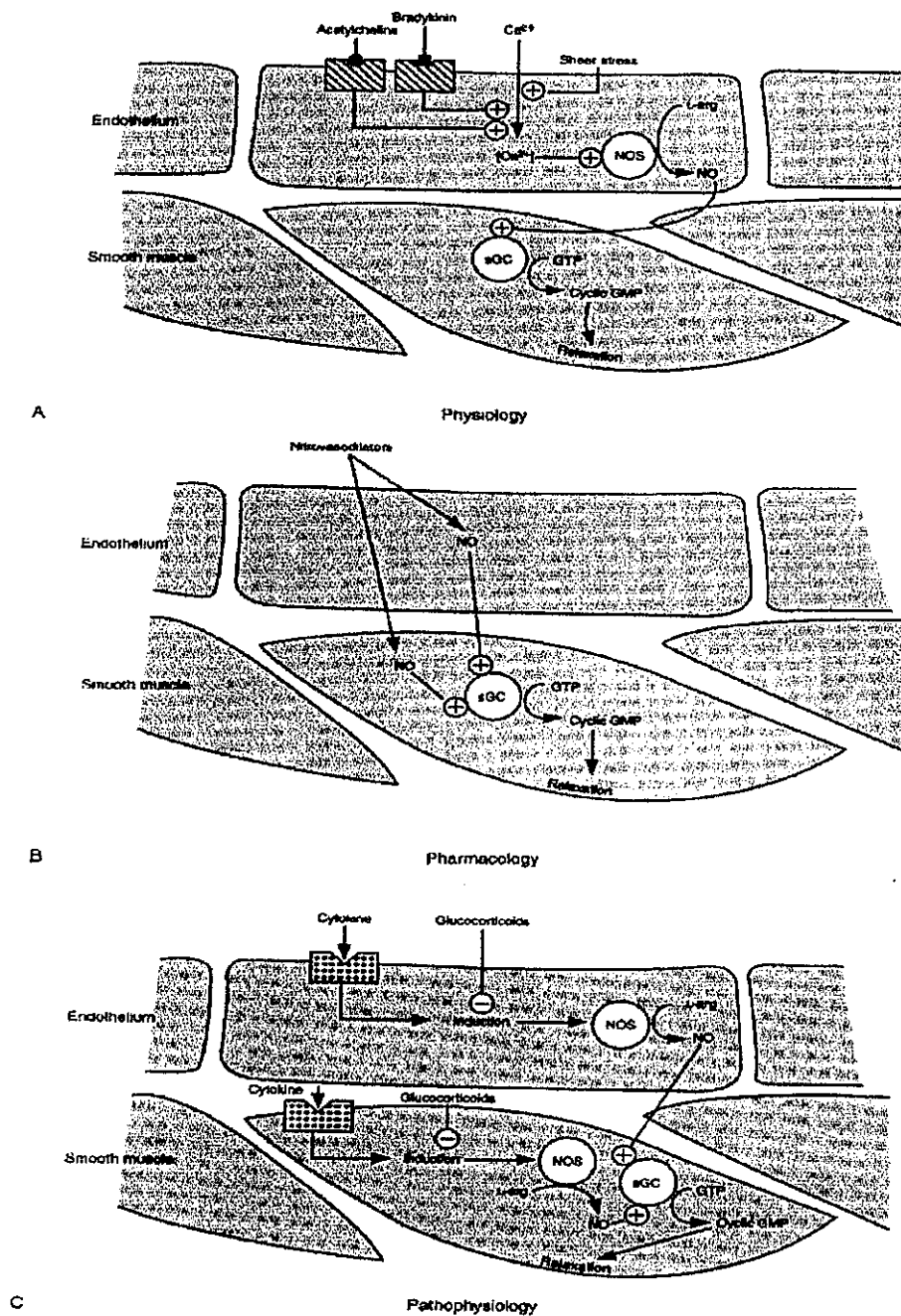
2.5 Disfungsi NO pada Preeklampsia

Para ahli mengajukan hipotesis bahwa disfungsi primer dari preeklampsia adalah akibat defisiensi relatif dari NO yang tersedia (akibat sekunder dari degradasi oksidatif) dan ONOO⁻ yang berlebihan^{7,13,19}. Preeklampsia merupakan penyakit yang kompleks yang menyebabkan ketidakseimbangan antara NO, O₂⁻, dan ONOO⁻ dalam vaskular endotel^{13,23}. Proses stress oksidatif akan menyebabkan disfungsi NO akibat penggunaan NO yang berlebihan akibat bereaksi dengan O₂⁻ sehingga membentuk ONOO⁻. ONOO⁻ merupakan zat yang sangat reaktif dan mampu menyebabkan disfungsi endotel dengan cara berinteraksi dengan residu tirosin membentuk nitrotirosin¹²⁻¹⁴. Kombinasi dari defisiensi NO dan peningkatan ONOO⁻ secara langsung maupun tidak langsung dapat memicu timbulnya perubahan fisiologis maupun serologis yang berkaitan dengan preeklampsia, misalnya peningkatan tekanan darah, proteinuria, disfungsi platelet, peningkatan TXA dan endotelin, dan penurunan PGI₂¹³⁻¹⁴.

NO adalah suatu zat mediator parakrin yang sangat penting dalam regulasi tonus vaskular dan homeostatis. Selain menstimulasi relaksasi sel otot polos pembuluh darah dan vasodilatasi, NO juga memberikan efek antiaterogenik yang poten, termasuk inhibisi proliferasi sel otot halus, agregasi platelet, dan interaksi leukosit dengan sel endotel^{1,13,38}. NO terbukti berpengaruh terhadap tonus miogenik dan resistensi vaskuler arteri pada sirkulasi uterus pada kehamilan normal, dan terhadap sirkulasi uteroplasenter pada preeklampsia⁴²⁻⁴³. Aktifitas NO diperantarai

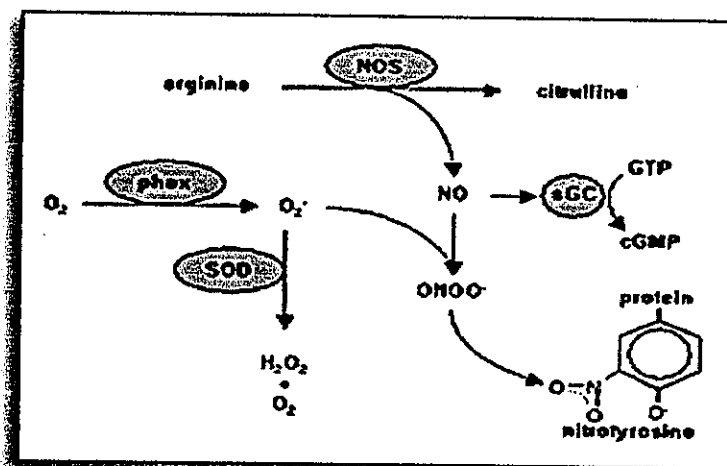
oleh reaksi dan aktivasi *guanylate cyclase* (GC) yang menghasilkan peningkatan cGMP, sehingga dalam beberapa detik NO mampu berdifusi dalam membran sel dan mampu menyebabkan dilatasi vaskular¹³. Gambar 1 menjelaskan mekanisme relaksasi vaskular yang diperantarai oleh NO.

NO disintesis dari asam amino non essensial *L-arginine* melalui kerja enzim yang disebut dengan NOS. Ada 3 isoform dari NOS: neuronal (nNOS atau NOS1), *cytokineinducible* (iNOS atau NOS2), dan endotelial (eNOS atau NOS3). Salah satu yang membedakan ketiga isoform tersebut yaitu dalam hal lokasi subseluler. iNOS banyak dijumpai dalam sitosol dan normalnya diproduksi di sel-sel makrofag, nNOS lebih banyak dijumpai dalam sitosol neuron, sebagian kecil pada muskuloskeletal, sedangkan eNOS lebih banyak dijumpai pada membran sel endotel¹⁴. Radikal bebas terutama O_2^- mengakibatkan terpakainya NO yang berlebihan membentuk $ONOO^-$ yang sangat radikal (Gambar 2)⁴⁵.



Gambar 1. Relaksasi vaskular yang diperantarai oleh NO⁴⁴.

Pada gambar 1A, shear stress atau aktivasi reseptor endotel vaskular oleh bradikinin atau asetilkolin mengakibatkan influks kalsium. Peningkatan kalsium intraseluler sebagai akibatnya menstimulasi NOS. NO yang dibentuk dari *L-arginine* (*L-arg*) oleh enzim tersebut berdifusi ke sel-sel otot polos di dekatnya sehingga menstimulasi *soluble guanylate cyclase* (*sGC*), menghasilkan peningkatan sintesis *cyclic GMP* dari *guanosine triphosphate* (*GTP*). Peningkatan *cyclic GMP* pada sel-sel otot polos menyebabkan terjadinya relaksasi. Pada gambar 1B, *nitrovasodilators* seperti *sodium nitroprusside* dan *nitroglycerin* melepaskan NO, secara spontan atau melalui reaksi enzimatik. NO menstimulasi *sGC* dalam vascular otot polos mengakibatkan relaksasi. Pada gambar 1C interaksi antara sitokin-sitokin dengan reseptornya di sel endotel menyebabkan terbentuknya *calcium-independent nitric oxide synthase*. NOS akan terus memproduksi NO, menyebabkan aktivasi dari *sGC* dan relaksasi otot polos, mengurangi sensitivitas terhadap vasokonstriktor, serta kerusakan jaringan yang mungkin terjadi. Tanda ⊕ menandakan stimulasi, ⊖ menandakan inhibisi.



Gambar 2. Reaksi radikal bebas dengan NO⁴⁸.

O₂⁻ yang diproduksi oleh NADPH oksidase (phox) dalam mitokondria, bereaksi dengan NO untuk membentuk ONOO⁻. ONOO⁻ intrasel dapat mengubah protein dengan berinteraksi dengan residu tirosin membentuk 3-nitrotirosin.

Tetrahydrobiopterin (BH₄) adalah sebuah kofaktor yang sangat penting untuk aktivitas katalitik dari ketiga isoform NOS. Maka availabilitas dari BH₄ juga mempengaruhi produksi NO di sel-sel endotel^{13,19}. Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pada kultur sel endotel peningkatan BH₄ intrasel menstimulasi aktivitas eNOS dan meningkatkan produksi NO¹⁹. Oksidasi yang berlebihan terhadap BH₄ akibat stress oksidatif memberikan kontribusi terhadap terjadinya disfungsi endotel akibat penurunan NO^{19,44}.

Pada jaringan mamalia, NOS dengan kofaktor BH₄ menyimpan cukup elektron untuk mengubah kosubstrat oksigen (O₂) dan *L-arginine* menjadi NO dan *L-citrulline*. In vitro, NOS yang mengalami defisiensi BH₄ tidak dapat mengkatalisasi *L-arginine* menjadi NO tetapi mampu mereduksi O₂ menjadi O₂⁻¹³. Maka disfungsi NOS akibat penurunan BH₄ dalam sel endotel memproduksi O₂⁻ dan berlanjut terbentuknya ONOO⁻. ONOO⁻ mengakibatkan peroksidasi lipid dan kerusakan protein¹².

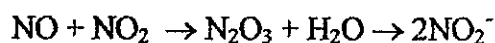
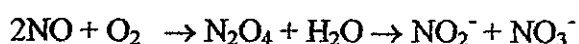
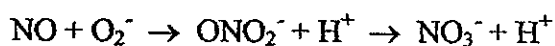
Konsentrasi yang adekuat dari *L-arginine* juga dibutuhkan untuk mencegah pembentukan O_2^- ini⁴⁵. Normalnya radikal bebas O_2^- ini akan dimetabolisir oleh enzim superoksida dismutase (SOD), menjadi H_2O_2 yang selanjutnya akan dikatalisir oleh enzim katalase. Tetapi O_2^- dapat bereaksi dengan NO untuk memproduksi peroksinitrit ($ONOO^-$). Reaksi O_2^- dengan NO tiga kali lebih cepat daripada dengan SOD, sehingga bila O_2^- meningkat maka $ONOO^-$ akan meningkat dan NO yang siap pakai pun akan berkurang^{13,44}.

Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) yaitu inhibitor NOS endogen. Asalnya yang tepat tidak diketahui. Kadar ADMA normalnya dipertahankan untuk tetap rendah dengan adanya enzim *dimethylating enzyme dimethylarginine dimethylaminohydrolase* (DDAH)⁴⁴. Meningkatnya kadar ADMA dijumpai pada beberapa keadaan, salah satunya yaitu pada preeklampsia. Hal ini disebabkan turunnya DDAH yang diakibatkan oleh oksidasi LDL dan $TNF-\alpha$ yang terjadi pada preeklampsia. Selanjutnya diketahui bahwa efek ADMA in vivo lebih ke peningkatan produksi O_2^- daripada inhibisi aktivitas NOS, sehingga $ONOO^-$ naik dan NO yang siap pakai akan berkurang¹³.

Peningkatan radikal bebas O_2^- pada preeklampsia dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satunya yaitu penurunan kadar antioksidan^{12,34}. Keadaan stress oksidatif pada preeklampsia membutuhkan konsentrasi dan aktivitas antioksidan. Tetapi pada preeklampsia justru terjadi penurunan antioksidan, baik enzimatis maupun non enzimatis dibandingkan dengan kehamilan normal^{14,16,46-47}. Sebab terjadinya kegagalan adaptasi dari stress oksidatif tersebut masih belum diketahui. Faktor yang lain yang tadi telah disebutkan yaitu defisiensi kofaktor BH_4 . Terutama eNOS sangat tergantung pada BH_4 untuk mencegah produksi O_2^- .

Peningkatan radikal bebas endogen juga menyebabkan defisiensi BH_4 ⁴⁸. Faktor yang lain yaitu adanya defisiensi *L-arginine*⁴⁵. Defisiensi *L-arginine* juga dapat meningkatkan produksi O_2^- oleh NOS. Walaupun demikian rasio *L-arginine*/ADMA dapat menurun walaupun *L-arginine* normal, sehingga kadar *L-arginine* yang normal tidak dapat menjamin bahwa pembentukan O_2^- tidak terjadi¹³.

NO mengalami sejumlah reaksi dengan beberapa molekul yang ada dalam cairan biologis, yaitu :



Maka NO dalam tubuh mamalia tidak stabil dan segera diubah menjadi metabolitnya yaitu nitrit (NO_2^-) dan nitrat (NO_3^-). Jumlah dari keduanya menggambarkan kadar NO total dalam tubuh³⁸.

Beberapa penelitian telah berusaha untuk meneliti kadar NO dengan melihat kadar metabolitnya, yaitu nitrat dan nitrit, dalam serum atau plasma penderita preeklampsia dibandingkan dengan kehamilan normotensi, dengan hasil yang bervariasi. Sebagian besar peneliti setuju dengan hipotesis bahwa pada preeklampsia terjadi penurunan NO akibat dari stress oksidatif^{21-23,49-50}. Beberapa peneliti yang menemukan peningkatan pada kadar NO plasma maupun serum pada preeklampsia menyimpulkan bahwa peningkatan tersebut akibat kompensasi terhadap preeklampsia daripada merupakan etiologi dari penyakit itu sendiri⁵¹⁻⁵³.

Telah pula diteliti hubungan disfungsi NO dengan terganggunya sirkulasi uteroplasenter yang ditandai oleh adanya pertumbuhan janin terhambat. Didapatkan bahwa konsentrasi metabolit dari NO yaitu nitrit dan nitrat dalam cairan amnion

berhubungan dengan *flow velocimetry waveforms* arteri uterina. Konsentrasi nitrit terbukti lebih rendah pada pasien dengan pertumbuhan janin terhambat dengan indeks resistensi abnormal dibandingkan dengan *flow normal* ⁵⁴. Pada preeklampsia dijumpai peningkatan kadar S-nitrosothiols (reservoir utama NO) dan S-nitrosoalbumin (kontributor S-nitrosothiols) ⁵⁵. Bukti disfungsi NO juga didukung oleh penelitian yang menemukan residu nitrotirosin (marker pembentukan ONOO⁻) pada pembuluh darah plasenta pada penderita preeklampsia yang menunjukkan adanya proses stress oksidatif ⁵⁶.

2.6 Antioksidan

Antioksidan yaitu suatu senyawa yang dapat menetralkan oksidan dengan memberikan pasangan elektron pada oksidan sehingga keduanya menjadi tidak bereaksi kembali atau menjadi netral ³⁸. Seperti telah disebutkan di atas bahwa antioksidan ini merupakan salah satu mekanisme penting dari pertahanan tubuh untuk menangkal radikal bebas.

Terdapat 2 mekanisme penting dalam mengurangi efek merugikan dari oksidan terhadap sel. Pada keadaan normal mekanisme ini mampu mempertahankan homeostasis dan mengontrol radikal bebas untuk tetap pada kadar tertentu. Bila mekanisme ini rusak maka terjadi yang disebut dengan stress oksidatif ^{15,38}. Mekanisme pertama yaitu sistem enzimatik. Enzim ini bekerja intra dan ekstraseluler, tetapi sebagian besar terdapat di mitokondria dan sitoplasma sel. Satu molekul enzim antioksidan dapat menetralkan beberapa ratus radikal bebas sebelum akhirnya struktur protein enzim tersebut kehilangan fungsinya. Terdapat beberapa enzim yang mengurangi proses oksidatif yaitu enzim superoksida dismutase (SOD),

enzim katalase, dan glutathion peroksidase (GSH Px). SOD merupakan katalisator dekomposisi O_2^- menjadi H_2O_2 dan O_2 , sedangkan katalase adalah suatu protein heme (besi) yang merupakan katalisator dekomposisi H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . GSH Px adalah suatu protein selenium yang merupakan katalisator dekomposisi H_2O_2 dan hidroperoksida organik dengan bantuan glutathion (GSH). Enzim ini dapat pula mereduksi lipid hidroperoksida pada proses peroksidasi lipid¹⁵. Mekanisme yang kedua yaitu antioksidan nonenzimatik. Prinsip kerja antioksidan yang terletak di ekstraseluler ini adalah kemampuannya memberikan ion hidrogen, sehingga radikal bebas menjadi molekul yang stabil¹⁷. Vitamin E dan C merupakan contoh antioksidan jenis ini, selain karotenoid, asam amino thiol, asam amino fenolik, alopurinol, trimetazidine, serta Mn, Cu, dan Zn sebagai komponen SOD^{15,17,38}.

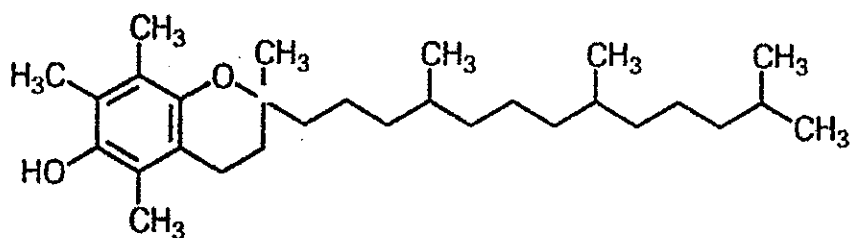
Pada preeklampsia telah banyak dibuktikan melalui berbagai penelitian bahwa kadar antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan kehamilan normal. Vitamin E dan C pada penderita preeklampsia didapatkan lebih rendah dibandingkan dengan hamil normotensi⁴⁷. Sebuah studi di Amerika Serikat menggunakan *plasma assay* dan *dietary questionnaire* untuk menentukan asupan dan kadar vitamin E dan C menemukan peningkatan risiko dua kali lipat untuk terjadinya preeklampsia pada wanita yang mengonsumsi vitamin E dan C kurang dari standar kebutuhan sehari⁴⁶.

Banyak penelitian eksperimental yang membuktikan bahwa vitamin E, terutama bila diberikan dengan vitamin C, secara efektif mengurangi kerusakan akibat stress oksidatif. Sebuah uji kontrol acak yang dilakukan pada penderita hipertensi menemukan bahwa suplementasi vitamin C 500 mg/hari selama 8 bulan

dapat menurunkan tekanan darah secara bermakna⁵⁷. Penelitian serupa dilakukan di Amerika Serikat, yaitu dengan memberikan vitamin C 500-1000 mg/hari selama 10 minggu kadar vitamin C dalam darah meningkat 55% dan parameter stress oksidatif berkurang 60%⁵⁸. Sebuah penelitian mendapatkan penurunan secara bermakna dari kadar peroksida lemak serum pada penderita preeklampsia ringan yang diberikan vitamin E¹⁹. Di London sebuah uji kontrol acak dilakukan terhadap 283 wanita risiko tinggi untuk menderita preeklampsia. Sejak umur kehamilan 22 minggu diberikan vitamin C 1000 mg/hari dan vitamin E 400 IU/hari, dengan hasil penurunan sebesar 21% pada PAI-1/PAI-2, penurunan kejadian preeklampsia dan peningkatan kadar vitamin E dan C plasma setelah pemberian vitamin¹⁸. Peneliti yang sama menemukan perbaikan indeks disfungsi plasenta, disfungsi endotel, dan stress oksidatif pada preeklampsia (kadar asam askorbat, 8-epi-prostaglandin, leptin, dan rasio PAI-1/PAI-2) setelah pemberian vitamin E 400IU/hari dan vitamin C 1000mg/hari mulai umur kehamilan 20-22 minggu²⁰. Penelitian di Afrika Selatan yang memberikan vitamin E 800 IU/hari, vitamin C 1000 mg/hari dan allopurinol 200 mg/hari pada penderita preeklampsia berat sejak umur kehamilan 24-32 minggu selama kurang lebih 2 minggu menemukan bahwa lebih banyak penderita di kelompok plasebo yang memerlukan dua obat antihipertensi sekaligus untuk menurunkan tekanan darah³⁶.

2.6.1 Vitamin E

Ada beberapa jenis *tocopherol* dalam bentuk alami. Vitamin E terdapat dalam bentuk 8 isomer yang berbeda, yaitu 4 *tocopherol* (α , β , γ , δ) dan 4 *tocotrienol* (α , β , γ , δ). α -*tocopherol* merupakan bentuk yang dibutuhkan oleh tubuh⁶⁰⁻⁶¹.



Gambar 3. Struktur kimia α -tocopherol⁶⁰.

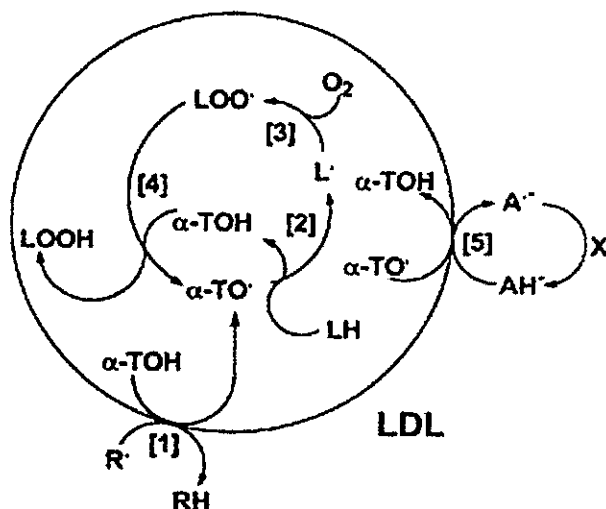
Gangguan absorpsi lemak akan menimbulkan defisiensi lemak karena vitamin E larut dalam lemak makanan dan dibebaskan serta diserap selama proses pencernaan lemak. Lebih lanjut vitamin E diangkut dalam darah oleh lipoprotein. Pertama, yaitu lewat penyatuan ke dalam kilomikron yang mendistribusikan vitamin tersebut ke jaringan yang mengandung lipoprotein lipase serta kemudian ke hati dalam bentuk fragmen sisa kilomikron. Kedua, lewat pengeluaran dari dalam hati di dalam *very low density lipoprotein* (VLDL). Selanjutnya vitamin E disimpan dalam jaringan lemak dan hati³⁸.

Tocopherol mengalami oksidasi menjadi radikal *tocopheroxyl* yang merupakan proses reversibel, yaitu mengalami proses daur ulang yang diperantarai oleh vitamin C (asam askorbat) menjadi *tocopherol* kembali. Proses selanjutnya adalah proses yang ireversibel, yaitu mengalami oksidasi menjadi *tocopherylquinone*, yang sebagian direduksi menjadi α -*tocopherylhydroquinone* dan

terkonjugasi menjadi asam glukoronat dan diekskresi di feces. Sebagian kecil (< 1%) akan diekskresi di urine⁶⁰.

Fungsi terpenting dari vitamin E yaitu sebagai antioksidan biologis yang bekerja sinergis dengan enzim GSH Px, SOD, dan katalase³⁸. Vitamin E tampaknya merupakan baris pertama pertahanan terhadap proses peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat dalam fosfolipid membran seluler dan subseluler. Fosfolipid pada mitokondria, retikulum endoplasma serta membran plasma mempunyai afinitas terhadap α -*tocopherol*, dan vitamin E tampaknya terkonsentrasi pada tempat-tempat ini^{39,60}.

Vitamin E bersifat lipofilik dan menetralkan radikal bebas terutama peroksilipid, selain itu dalam reaksi lebih lambat juga O_2^- dan OH, serta 1O_2 . Karena keberadaannya dalam membran, α -*tocopherol* dapat bereaksi dengan radikal lipid (L) dan radikal peroksilipid (LOO), membentuk radikal *tocopheroxyl* (α -TO) atau *tocopheroxyl* yang tidak reaktif. Walaupun tidak reaktif namun demikian perlu juga dihilangkan melalui reaksi dengan askorbat (AH) menghasilkan radikal askorbil (A), yaitu melalui proses daur ulang in vivo melalui proses reduksi *tocopheroxyl* kembali menjadi *tocopherol*^{15,38}. Dengan cara ini maka kadar vitamin E diharapkan dapat dipertahankan sehingga mampu mengimbangi peroksidasi lipid dan oksidasi protein yang meningkat^{15,38,59-60}.



Gambar 4 . Reaksi α -tocopherol dengan radikal bebas⁶².

Reaksi [1] disebut fase reaksi transfer dari α -tocopherol (α -TOH). Reaksi [2] merupakan proses peroksidasi lipid, diikuti dengan reaksi [3] dan [4] yaitu reaksi propagasi. Askorbat (AH) bereaksi dengan radikal α -tocopheroxyl (α -TO) untuk membentuk α -TOH (reaksi [5]). LH: asam lemak tak jenuh ganda, L: radikal lipid, LOO: radikal peroksilipid, R radikal bebas, RH radikal bebas dalam bentuk tereduksi.

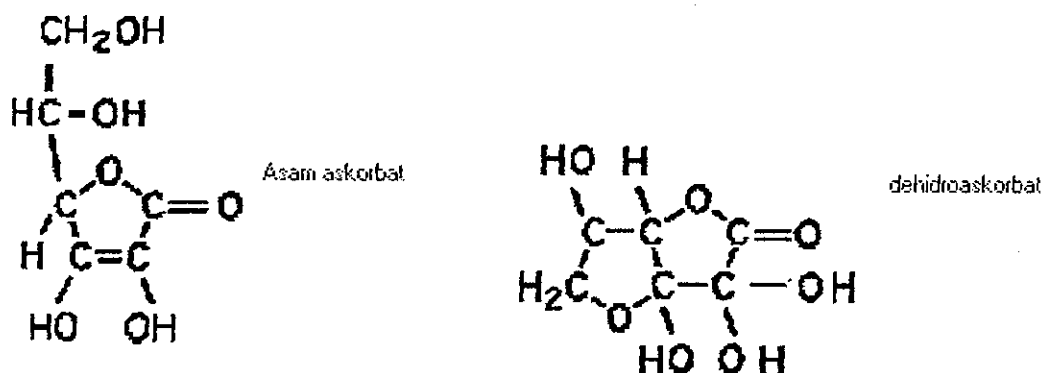
Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek vitamin E terhadap vaskular dan stress oksidatif. Peneliti di Jepang memberikan 300 mg α -tocopherol selama 4 minggu pada penderita angina dengan hasil meningkatnya vasodilatasi vaskular dan menurunnya lipid peroksidase plasma²⁶. Penelitian dengan memberikan vitamin E 400 IU/hari selama 8 minggu pada penderita dispilidemia memberikan hasil perbaikan terhadap disfungsi endotel²⁷.

Vitamin E mampu meningkatkan kadar NO, dengan cara meningkatkan aktivasi dari NOS, sehingga sintesis dan aktivitas biologi dari NO akan meningkat⁶². Secara tidak langsung peningkatan produksi NO pada preeklampsia didapatkan dari aktivitas vitamin E dalam menghambat proses stress oksidatif, sehingga pemberiannya disarankan untuk mencegah terjadinya disfungsi endotel¹³.

Penelitian tidak mendapatkan bukti adanya efek mutagenik, karsinogenik, dan teratogenik vitamin E pada dosis yang aman. Dosis aman untuk vitamin E berada pada rentang RDA (*Recommended Day Allowance*) 15 IU/hari sampai 1200 IU/hari. Daerah kuning (*yellow zone*) pada dosis antara 1200-3200 IU/hari, dan daerah merah (*red zone*) pada dosis lebih dari 3200/hari. Penelitian klinik pada dosis 3200 IU/hari ditemukan hanya sedikit efek samping berupa mual dan diare. Sementara yang lain mengeluh sakit kepala, lemah, dan pusing. Walaupun vitamin E dikatakan relatif aman dengan dosis aman yang cukup lebar, beberapa kondisi harus mendapat perhatian khusus yakni pada penderita yang mengalami masalah gangguan pembekuan darah, atau menggunakan terapi antikoagulan seperti warfarin atau heparin⁶³.

2.6.2 Vitamin C

Vitamin C terdapat dalam bentuk asam askorbat maupun dehidroaskorbat. Asam askorbat teroksidasi dengan mudah dalam air oleh O₂ menjadi dehidroaskorbat⁶⁰⁻⁶¹

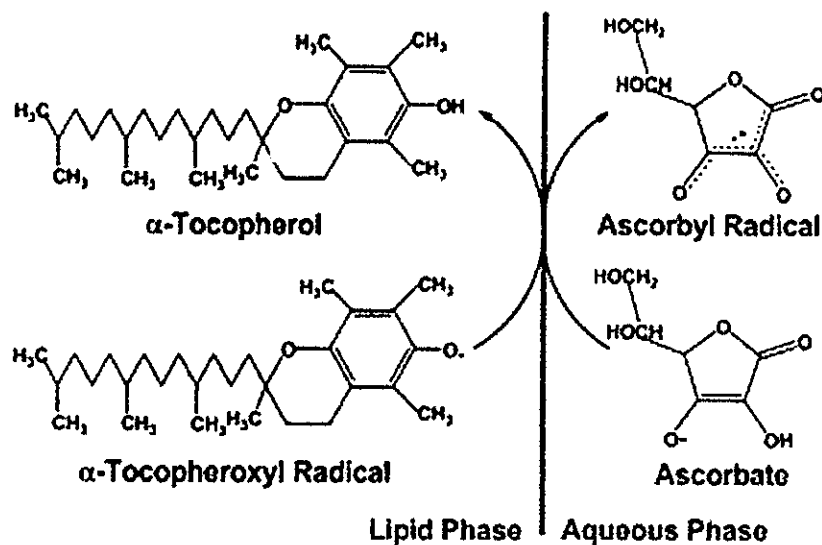


Gambar 5. Struktur kimia vitamin C⁶⁰.

Walaupun fungsi vitamin C belum jelas seluruhnya, beberapa proses yang tercatat membutuhkan asam askorbat, yaitu sintesis kolagen, penguraian tirosin, sintesis epinefrin dari tirosin, pembentukan asam empedu, penyerapan besi, bertindak sebagai antioksidan umum yang larut dalam air, dan dapat menghambat pembentukan nitrosamin selama proses pencernaan berlangsung³⁸.

Asam askorbat diabsorpsi oleh usus halus, dan hampir seluruh asam askorbat dari diet terabsorpsi secara sempurna. Asam askorbat masuk dalam sirkulasi untuk didistribusikan ke dalam sel-sel tubuh. Asam askorbat dioksidasi *in vivo* menjadi radikal bebas askorbil. Selanjutnya sebagian akan mengalami proses reversibel menjadi vitamin C kembali, sedangkan sebagian lagi menjadi dehidroaskorbat yang selanjutnya akan mengalami hidrolisis, oksidasi, dan pada akhirnya diekskresi melalui urine^{38,61}.

Vitamin C mampu menghambat oksidasi LDL oleh sel-sel vaskular dan netrofil di kompartemen hidrofilik sehingga mencegah radikal bebas bereaksi di membran lipid.⁶² Asam askorbat bereaksi dengan OH menjadi radikal askorbil yang relatif tidak reaktif. Reaksi tersebut berperan dalam proses daur ulang vitamin E, yaitu perubahan radikal *α-tocopheroxyl* menjadi *α-tocopherol* sehingga kombinasi keduanya mempunyai potensi antioksidan yang sangat kuat (gambar 6).

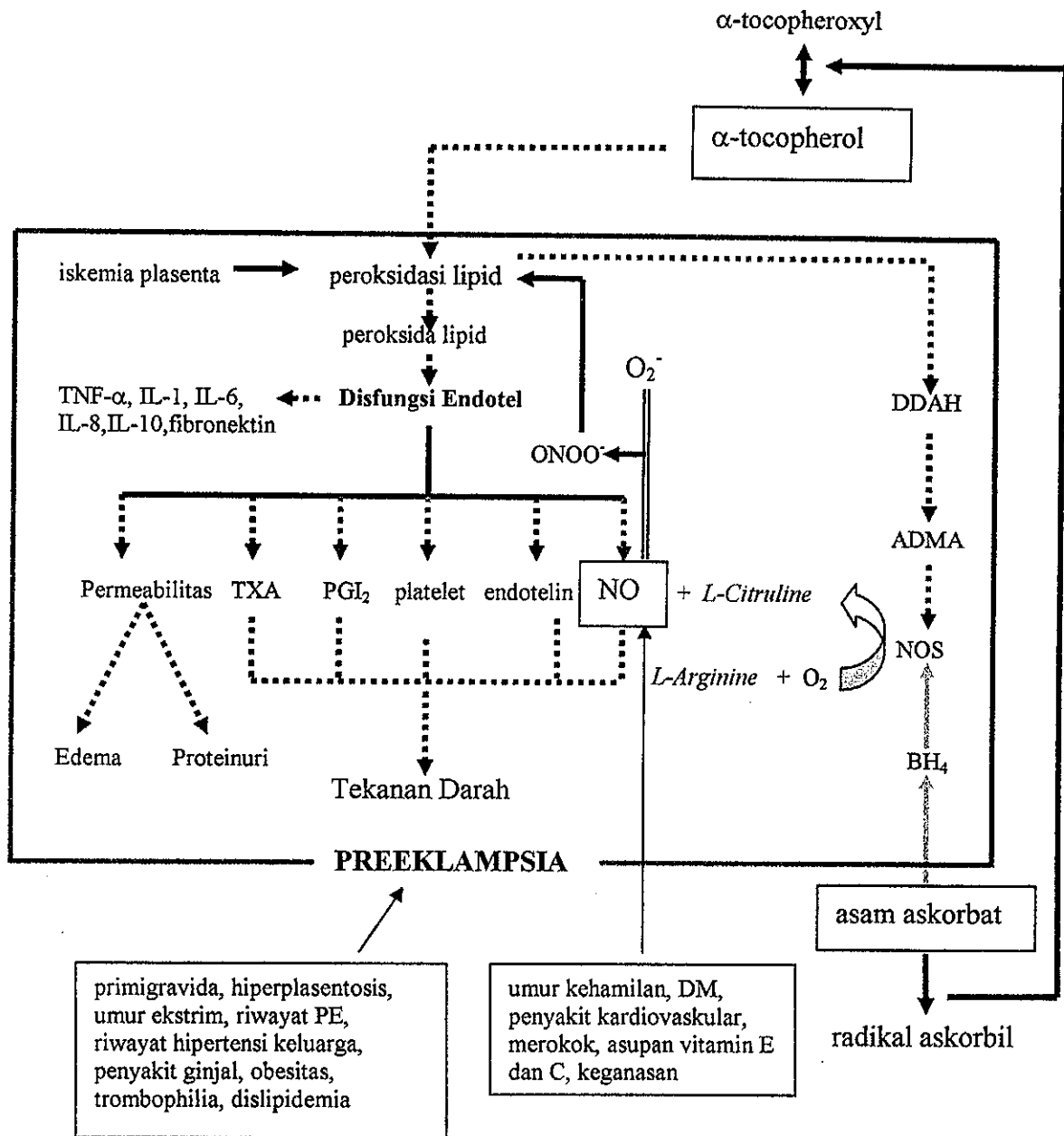


Gambar 6. Peran vitamin C dalam proses daur ulang vitamin E ⁶².

Seperti vitamin E, vitamin C mampu meningkatkan sintesis dan aktivitas biologi NO dengan cara menghambat pembentukan O_2^- dan mencegah peroksidasi lipid yang membuat turunnya kadar NO, mampu meningkatkan produksi reservoir utamanya yaitu S-nitrosothiol, melepaskan NO dari S-nitrosothiol, dan meningkatkan kadar BH_4 intrasel yang diperlukan dalam pembentukan NOS ^{13,62}. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa vitamin C meningkatkan sintesis NO dengan meningkatkan dan menstabilisasi BH_4 intrasel ⁶⁴⁻⁶⁶.

Keluhan yang sering timbul akibat konsumsi vitamin C dosis tinggi yaitu gangguan gastrointestinal. Pada megadosis (>1000 mg/hari) diduga menimbulkan pembentukan batu oksalat, menghambat absorpsi asam urat, meningkatkan destruksi vitamin B12, dan urikosuria. Dari berbagai penelitian tidak dijumpai efek samping yang berarti akibat pemberian vitamin C dosis tinggi, termasuk dugaan terjadinya batu oksalat di ginjal yang tidak terbukti ⁶⁰⁻⁶¹.

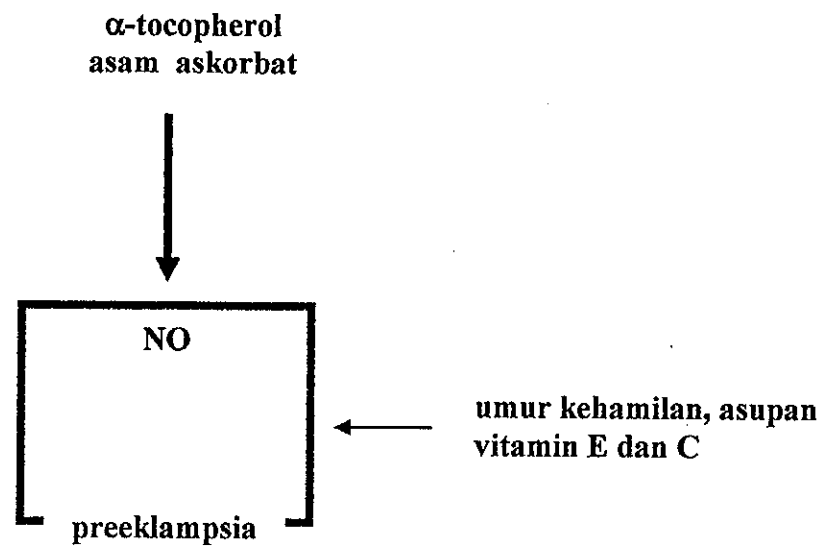
2.7 KERANGKA TEORI





Keterangan :

- Menyebabkan terjadinya
-→ Menghambat terjadinya
-→ Meningkatkan
-→ Menurunkan
- Mempengaruhi
-→ Stimulasi
- =====> Bereaksi

2.8 KERANGKA KONSEP



Keterangan :

-  meningkatkan
-  mempengaruhi

BAB 3

HIPOTESIS

Terdapat peningkatan kadar NO serum setelah pemberian kombinasi vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000mg/hari selama 8 minggu.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan suatu uji kontrol acak (*randomized controlled trial*), *pre and post test design*.

4.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Unit Rawat Jalan Ibu Hamil Rumah Sakit dr. Kariadi – Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Puskesmas Halmahera dan Jatingaleh mulai Agustus 2004 – Februari 2005.

4.3 Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling*, sedangkan alokasi random dilakukan dengan tabel angka random. Pasien dikelompokkan menjadi kelompok vitamin (kelompok yang mendapat kombinasi vitamin E dan C) dan kelompok plasebo (kelompok yang mendapat plasebo).

4.4 Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah semua penderita preeklampsia ringan yang memenuhi ketentuan sebagai berikut.

Kriteria inklusi :

- umur kehamilan 20-34 minggu
- kehamilan tunggal
- preeklampsia ringan
- setuju untuk mengikuti penelitian

Kriteria eksklusi :

- gangguan kardiovaskular
- riwayat diabetes melitus
- keganasan
- merokok
- riwayat alergi vitamin E atau C
- sedang mendapatkan terapi antikoagulan

Drop out :

- mengalami persalinan sebelum terapi selesai
- tidak meneruskan pengobatan

4.5 Perhitungan besar sampel

Di dalam penelitian ini untuk menerima atau menolak hipotesis untuk mendapat kekuatan atau *power* statistik 80% (1-β) dengan menggunakan tingkat kemaknaan (α) 0,05, digunakan rumus uji hipotesis terhadap rerata dua populasi, yaitu:

$$n1 = n2 = 2 \left[\frac{(z\alpha + z\beta) \times SD}{x1 - x2} \right]^2$$

keterangan :

SD : simpang baku kedua kelompok (dari pustaka)

$X_1 - X_2$: perbedaan klinis yang diinginkan (*clinical judgement*)

$z\alpha = 1,96$

$z\beta = 0,842$

Dari penelitian di Finlandia tahun 1999 didapatkan simpang baku sebesar $10\mu\text{M}$, dan perbedaan sebesar $10\mu\text{M}$ dianggap berarti secara klinis ($X_1 = 25\mu\text{M}$, $X_2 = 15\mu\text{M}$). Maka dari rumus tersebut didapatkan $n_1 = n_2 = 15,68$, ditambah antisipasi drop out sebesar 10% maka $n_1 = n_2 = 17,18$ dibulatkan menjadi 18. Maka jumlah sampel adalah 18 untuk kelompok yang diberi vitamin E dan C, dan 18 untuk kelompok yang diberi plasebo.

4.6 Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah pemberian antioksidan (vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000 mg/hari). Variabel tergantung adalah kadar NO serum.

Variabel perancu adalah umur kehamilan dan asupan vitamin E dan C. Beberapa faktor yang diperkirakan dapat mempengaruhi hasil penelitian, yaitu gangguan kardiovaskular, riwayat diabetes melitus, keganasan, dan merokok dimasukkan dalam kriteria eksklusi. Sedangkan trombophilia sebagai kondisi sistemik yang dapat mengakibatkan iskemia tidak diperiksa dalam penelitian ini karena keterbatasan biaya.

4.7 Proses Penelitian

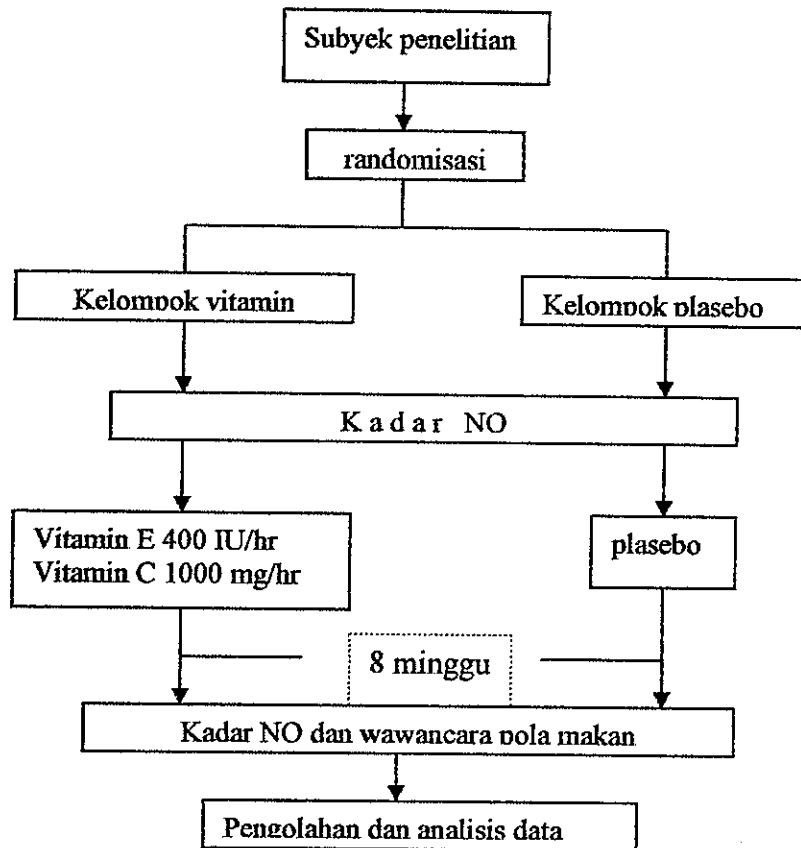
1. Penderita yang memenuhi syarat penerimaan sampel diberi penjelasan mengenai penelitian yang akan dilakukan dan menandatangani surat persetujuan untuk mengikuti penelitian.
2. Data-data mengenai penderita diambil sesuai dengan variabel yang diperlukan.
3. Seluruh penderita dilakukan pengambilan darah vena perifer (vena kubiti) sebanyak 3 cc untuk dilakukan pemeriksaan kadar NO serum sebelum intervensi. Sampel darah dimasukkan dalam tabung tanpa antikoagulan, diberi kode dan dikirim ke laboratorium GAKI untuk dilakukan *centrifuge*. Serum diambil dengan mikropipet *blue tip*, kemudian dimasukkan dalam tabung krio Eppendorf dan dibekukan dalam suhu -20°C sampai pada saat pemeriksaan dilakukan.
4. Setelah melalui proses randomisasi penderita diberi vitamin C 1000 mg dalam dosis terbagi 2 kali 500 mg/hari dan vitamin E 400 IU/hari untuk kelompok vitamin, dan plasebo untuk kelompok plasebo.
5. Pada akhir minggu ke-8 dilakukan pengambilan darah vena kembali untuk mengetahui kadar NO serum setelah intervensi, serta dilakukan wawancara mengenai pola makan selama 2 bulan terakhir. Wawancara menggunakan *food frequency questionnaire*.
6. Pemeriksaan sampel serum dilakukan di Laboratorium Pusat Antar Universitas Universitas Gajahmada Yogyakarta.

7. Di Laboratorium sampel serum dipersiapkan sesuai prosedur, kemudian kadar NO diperiksa menggunakan metode *colorimetric non-enzymatic*. Metode ini dipilih karena sampel berupa serum yang banyak mengandung protein sehingga kadmium lebih baik digunakan dibandingkan nitrat reduktase (metode *enzymatic*) untuk konversi nitrat menjadi nitrit. Seluruh sampel serum diduplikasi, selanjutnya dilakukan pemeriksaan sesuai prosedur yang tertera dalam buku manual.
8. Pembacaan absorbans pada setiap sumuran menggunakan spektrofotometer (ELISA Reader) dengan panjang gelombang 450 nm. Selanjutnya kadar NO dicari dengan menggunakan regresi linier (proses dengan piranti lunak KC-4). Kadar NO dalam satuan μM .
9. Seluruh data dikumpulkan, diolah, dan dianalisis secara statistik.

4.8 Pengolahan dan analisis data

Pengolahan dan analisis data menggunakan program SPSS for Windows 11.5. Asupan vitamin E dan vitamin C diperoleh dari pengolahan data menggunakan program Nutrisoft. Analisis data menggunakan uji *t* untuk mengetahui perbedaan rerata kedua kelompok pada distribusi normal, *Wilcoxon Signed Ranks test* dan *Mann Whitney U test*, untuk mengetahui perbedaan rerata kedua kelompok pada distribusi abnormal, dan uji Kai kuadrat serta *Fisher exact test* untuk variabel yang bersifat kategorikal. Perbedaan dianggap bermakna bila $p < 0,05$.

4.9. Alur Penelitian



4.10 Definisi Operasional

Preeklampsia ringan adalah hipertensi yang disertai dengan proteinuria yang terjadi pada umur kehamilan 20 minggu atau lebih, tanpa satupun gejala atau tanda dari preeklampsia berat.

Hipertensi adalah tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg. Pemeriksaan menggunakan sphygmomanometer air raksa, *cuff* dengan ukuran yang sesuai (paling tidak dapat melingkari 80% pertengahan lengan atas),

posisi duduk dengan lengan disangga atau relaks (*cuff* sesuai tinggi jantung), dan menentukan *Korotkoff phase I* (sistolik) dan *phase V* (diastolik).

Proteinuria adalah terdapatnya protein dalam urin minimal 300 mg/L atau dengan pemeriksaan kualitatif minimal +1 pada pengambilan urine acak.

Preeklampsia berat adalah preeklampsia yang disertai salah satu atau lebih gejala di bawah ini :

- Tekanan sistolik ≥ 160 mmHg atau tekanan diastolik ≥ 110 mmHg.
- Proteinuria > 5 gr/24 jam atau +4 dengan pemeriksaan kualitatif.
- Oliguria, yaitu produksi urine < 500 ml/ 24 jam yang disertai kenaikan kadar kreatinin plasma.
- Gangguan visus dan serebral.
- Nyeri epigastrium atau kuadran kanan atas abdomen.
- Edema paru – paru dan sianosis.
- Pertumbuhan janin terhambat.
- Sindroma HELLP (*hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*)

Kadar NO serum adalah kadar NO total dalam serum yang diperoleh dari pengukuran kadar nitrit dan nitrat sebagai produk stabil dari NO dengan menggunakan metode kolorimetrik non enzimatik. Sebelum dilakukan pengukuran kadar nitrit dan nitrat dilakukan persiapan sampel untuk mengurangi protein yang terkandung dalam serum, karena protein yang berlebihan dapat mengganggu hasil pemeriksaan. Pengukuran kadar nitrit dan nitrat tersebut meliputi 2 tahap, yaitu konversi nitrat menjadi nitrit dengan kadmium sebagai katalisator; diikuti dengan penghitungan nitrit menggunakan reagen Griess. Kadar NO ditetapkan dalam μM .

Vitamin E 400 IU adalah kapsul lunak yang berisi d- α tocopherol 400 IU, diberikan sekali sehari.

Vitamin C 1000 mg adalah tablet asam askorbat 500 mg yang diberikan 2 kali sehari.

Plasebo adalah kapsul berisi laktosa untuk menggantikan vitamin E dan vitamin C.

Asupan vitamin E dan C adalah asupan vitamin E dan C selama 2 bulan terakhir yang didapatkan dari wawancara berdasarkan *Food Frequency Questionnaire*.

Setelah itu data yang didapat diolah dengan menggunakan program *Nutrisoft*.

Asupan vitamin E dan C menggunakan satuan mg/hari.

Usia kehamilan ditentukan berdasarkan hari pertama hari terakhir, dinyatakan dalam minggu.

Kehamilan tunggal adalah kehamilan dengan satu janin intrauterin.

Gangguan kardiovaskular adalah keadaan abnormal dari sistem kardiovaskular yang diketahui berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik.

Riwayat diabetes melitus adalah riwayat menderita suatu keadaan dimana kadar gula dalam darah lebih dari normal yang dapat menimbulkan keluhan sistemik, diketahui berdasarkan anamnesis.

Keganasan ditentukan berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik.

Riwayat alergi vitamin E dan C adalah riwayat mengalami gangguan sistem tubuh akibat mengkonsumsi vitamin E maupun vitamin C.

4.11 Etika penelitian

- Subyek penelitian yang bersedia mengikuti penelitian menandatangani surat kesediaan.

- Penelitian ini tidak membahayakan jiwa pasien maupun janin yang dikandungnya.
- Bila terjadi efek samping obat yang memerlukan tindak lanjut akan ditanggung oleh peneliti dan subyek dikeluarkan dari penelitian.
- Subyek penelitian tidak dibebani biaya tambahan untuk pemeriksaan yang berkaitan dengan penelitian.
- Identitas subyek penelitian dirahasiakan.
- Penelitian ini dilakukan setelah mendapat ijin dari komisi etik.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Bagian/SMF Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RS dr. Kariadi Semarang, Puskesmas Halmahera, dan Puskesmas Jatingaleh sejak bulan Agustus 2004 sampai dengan Februari 2005, didapatkan subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi adalah 46 orang, dengan 10 orang dikeluarkan dari penelitian, yaitu 9 orang karena tidak meneruskan pengobatan dan 1 orang karena mengalami persalinan sebelum pengobatan selesai, masing-masing 5 dari kelompok vitamin dan plasebo. Dari 36 sampel penelitian, 18 masuk ke dalam kelompok vitamin dan 18 lainnya kelompok plasebo.

5.1 Karakteristik penderita

Karakteristik penderita, seperti yang tercantum dalam tabel 1 meliputi umur, pendidikan, paritas, umur kehamilan, riwayat hipertensi pada kehamilan sebelumnya, dan riwayat hipertensi pada keluarga.

Umur penderita berkisar antara 18 sampai dengan 44 tahun dengan rerata 30,08 (6,68) tahun. Sebanyak 38,88% subyek penelitian memiliki umur kurang dari 20 tahun dan lebih atau sama dengan 35 tahun. Rerata usia penderita pada kelompok vitamin dan plasebo masing-masing adalah 31,5 (7,21) dan 28,67 (5,98) tahun, dengan perbedaan rerata umur penderita antara kedua kelompok tidak bermakna secara statistik ($p = 0,21$). Tidak ada perbedaan dalam hal umur antara kedua kelompok.

Tingkat pendidikan dari seluruh sampel yang terbanyak yaitu SMP dan SMU (masing-masing 36,1%). Dari kelompok vitamin didapatkan tingkat pendidikan SD dan SMP masing-masing sebesar 27,8%, SMU 33,3% dan paling tinggi hanya setingkat D3 sebanyak 11,1%. Tidak jauh berbeda dengan kelompok plasebo dimana didapatkan pendidikan SD 11,1%, SMP 44,4%, SMU 38,9% dan D3 hanya 5,6%. Tingkat pendidikan antara kedua kelompok tidak berbeda bermakna secara statistik ($p = 0,49$). Tingkat pendidikan subyek penelitian pada kedua kelompok sama.

Multipara lebih banyak dijumpai pada keseluruhan penderita, yaitu 63,9%, dibandingkan dengan primipara, yaitu sebanyak 36,1%. Pada kelompok vitamin didapatkan 16,7% adalah nullipara dan 83,3% multipara, sedangkan pada kelompok plasebo nullipara sebanyak 55,6% dan multipara 44,4%. Perbedaan antara kedua kelompok bermakna secara statistik ($p = 0,035$). Subyek penelitian pada kelompok vitamin dan plasebo berbeda dalam hal paritas.

Rerata umur kehamilan pada keseluruhan sampel yaitu 29,31 (3,59) minggu. Rerata umur kehamilan pada kelompok vitamin dan plasebo masing-masing yaitu 28,39 (4,53) dan 30,22 (2,07) minggu. Perbedaan antara kedua kelompok tidak bermakna secara statistik ($p = 0,13$). Tidak ada perbedaan dalam hal umur kehamilan antara kedua kelompok.

Sebanyak 22,% sampel memiliki riwayat hipertensi pada kehamilan sebelumnya. Sebagian besar penderita pada kelompok vitamin tidak mengetahui adanya riwayat hipertensi pada keluarga, yaitu 44,4% dan 22,2% pada kelompok plasebo.

Seluruh peserta penelitian tidak memberikan keluhan efek samping dari pemberian vitamin maupun plasebo yang berarti.

Tabel 1. Karakteristik subyek penelitian pada kelompok vitamin dan plasebo

Karakteristik	Kelompok vitamin	Kelompok plasebo	<i>p</i>
Umur	Rerata 31,5	Rerata 28,67	
< 20 tahun	1	2	0,21*
20-34 tahun	9	13	
> 34 tahun	8	3	
Pendidikan			0,49†
SD	5	2	
SMP	5	8	
SMU	6	7	
D3	2	1	
Paritas			0,035 †
Nullipara	3	10	
Multipara	15	8	
Umur kehamilan	Rerata 28,39	Rerata 30,22	0,13 ‡
Riwayat hipertensi hamil sebelumnya			
Ada	7	1	
Tidak ada	11	17	
Riwayat hipertensi pada keluarga			
Ada	5	5	
Tidak ada	5	9	
Tidak tahu	8	4	

* Fisher exact test † Uji Kai kuadrat ‡ Uji t tak berpasangan

5.2 Kadar NO

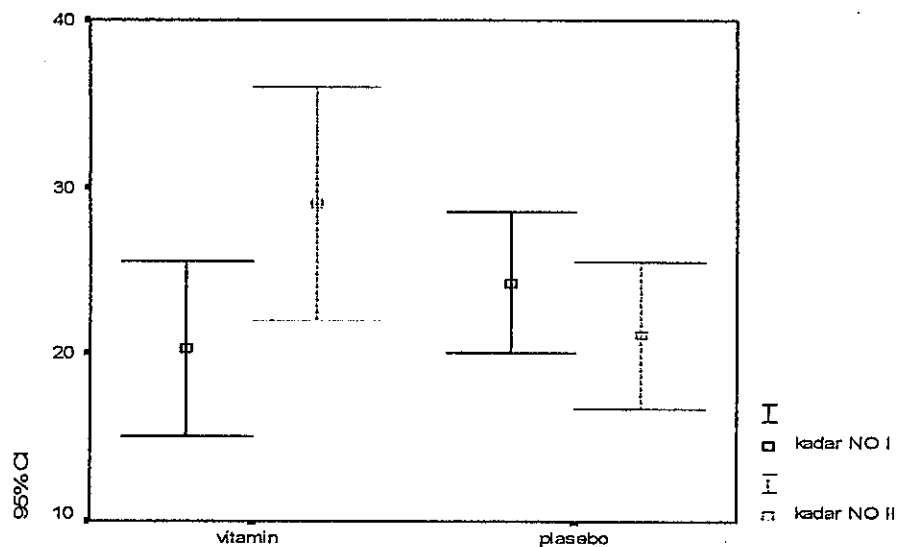
Rerata kadar NO sebelum perlakuan pada kelompok vitamin yaitu 20,33 (10,58) μM , sesudah perlakuan meningkat menjadi 28,94 (14,08) μM . Sedangkan pada kelompok plasebo rerata kadar NO sebelum perlakuan yaitu 24,26 (8,51) μM , dan sesudah perlakuan turun menjadi 21,14 (8,84) μM . Rerata kadar NO sebelum perlakuan pada kedua kelompok berbeda tidak bermakna secara statistik ($p = 0,23$). Kadar NO sebelum perlakuan pada masing-masing kelompok adalah sama. Beda

selisih rerata kadar NO sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok bermakna secara statistik ($p = 0,004$), seperti dapat dilihat pada tabel 2 dan grafik 1. Terdapat peningkatan kadar NO sesudah pemberian vitamin E dan vitamin C pada kelompok vitamin.

Tabel 2. Rerata kadar NO pada kelompok vitamin dan kelompok plasebo.

Kadar NO (μM)	Kelompok vitamin		Kelompok plasebo		t	df	p
	Rerata	SB	Rerata	SB			
NO I	20,33	10,58	24,26	8,1	-1,228	34	0,23
NO II	28,94	14,08	21,14	8,84	1,993	34	0,05
Selisih	9,8	14,93	-3,99	11,92	3,06	34	0,04

NO I: kadar NO sebelum perlakuan
 NO II: kadar NO sesudah perlakuan
 Uji t tak berpasangan SB = simpang baku



Grafik 1. Kadar NO pada kelompok vitamin dan kelompok plasebo

Kadar NO I: kadar NO sebelum perlakuan

Kadar NO II: kadar NO sesudah perlakuan

5.3 Tekanan darah

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa didapatkan penurunan rerata tekanan darah sistolik sebesar 10,56 mmHg pada kelompok yang diberi vitamin E dan vitamin C, yaitu 140 (6,86) mmHg turun menjadi 129,44 (12,59) mmHg. Demikian pula didapatkan penurunan rerata tekanan darah diastolik sebesar 7,78 mmHg, yaitu dari 95 (7,07) mmHg turun menjadi 87,22 (8,95) mmHg setelah perlakuan. Sebaliknya pada kelompok plasebo didapatkan peningkatan rerata tekanan darah sistolik sebesar 6,66 mmHg dan tekanan darah diastolik sebesar 1,66 mmHg. Pada kelompok plasebo rerata tekanan darah sistolik sebelum perlakuan yaitu 136,67 (9,06) mmHg dan 143,33 (15,72) mmHg setelah perlakuan. Sedangkan tekanan diastolik 92,78 (4,61) mmHg menjadi 94,44 (9,84) mmHg. Rerata tekanan darah sistolik maupun diastolik sebelum perlakuan antara kedua kelompok tidak berbeda bermakna (Uji t tak berpasangan, $p = 0,22$ dan *Mann Whitney U test* $p = 0,24$). Tidak ada perbedaan dalam hal tekanan darah sebelum perlakuan pada kedua kelompok. Beda rerata tekanan darah sistolik maupun diastolik sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok vitamin bermakna secara statistik (Uji t berpasangan $p = 0,006$ dan *Wilcoxon signed ranks test* $p = 0,028$). Beda rerata tekanan darah sistolik sebelum dan sesudah perlakuan pada kelompok plasebo bermakna secara statistik (Uji t berpasangan $p = 0,02$), sedangkan beda rerata tekanan darah diastolik tidak bermakna secara statistik (*Wilcoxon signed ranks test* $p = 0,43$). Didapatkan penurunan tekanan darah pada kelompok vitamin dan peningkatan tekanan darah pada kelompok plasebo setelah perlakuan, walaupun secara klinis kurang bermakna.

Pada kelompok plasebo didapatkan 5 orang (27 %) yang menderita preeklampsia berat setelah perlakuan.

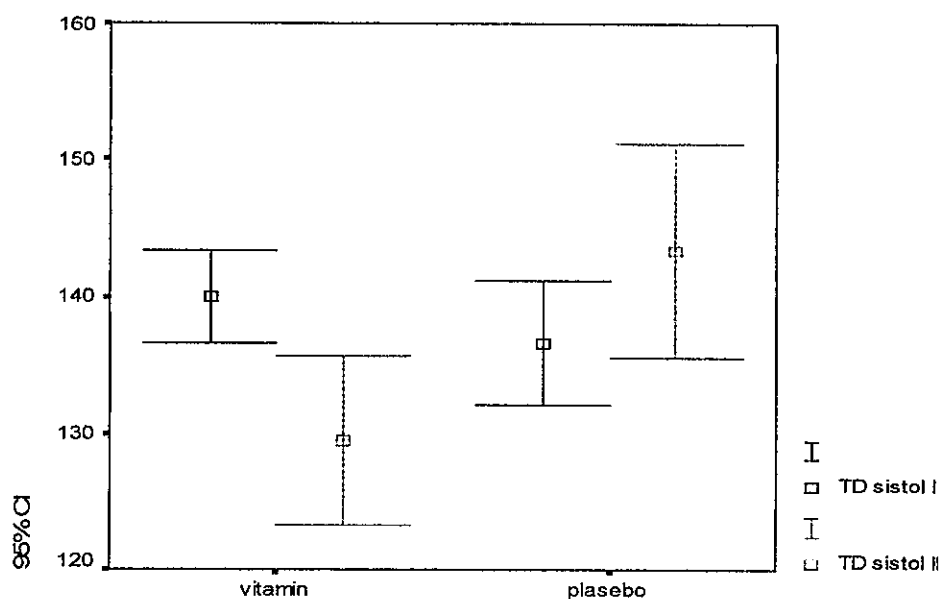
Tabel 3. Rerata tekanan darah sistolik dan diastolik sebelum dan sesudah perlakuan pada setiap kelompok.

Kelompok	Sistolik I (mmHg) Rerata (SB)	Sistolik II (mmHg) Rerata (SB)	<i>p</i>	Diastolik I (mmHg) Rerata (SB)	Diastolik II (mmHg) Rerata (SB)	<i>p</i>
Vitamin	140 (6,86)	129,44 (12,59)	0,006*	95 (7,07)	87,22 (8,95)	0,028†
Plasebo	136,67 (9,07)	143,33 (15,72)	0,02*	92,78 (4,61)	94,44 (2,32)	0,43†

I : sebelum perlakuan

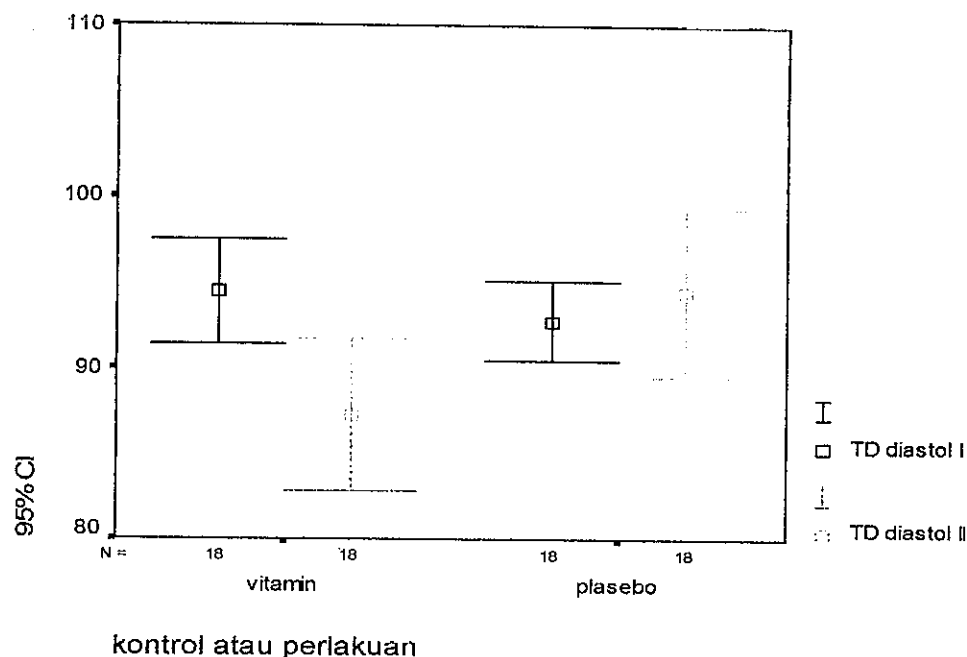
II: sesudah perlakuan

* Uji t berpasangan † *Wilcoxon signed ranks test*, SB = simpang baku



Grafik 2. Tekanan darah sistolik pada kelompok vitamin dan plasebo

TD sistol I: tekanan darah sistolik sebelum perlakuan, TD sistol II: tekanan darah sistolik setelah perlakuan.



Grafik 3. Tekanan darah diastolik pada kelompok vitamin dan plasebo

TD diastol I: tekanan darah diastolik sebelum perlakuan, TD diastol II: tekanan darah diastolik setelah perlakuan.

5.4 Asupan vitamin E dan vitamin C

Rerata asupan vitamin E pada kelompok vitamin yaitu 4,56 (1,38) mg/hari, sedangkan pada kelompok plasebo adalah 4,72 (2,02) mg/hari. Beda antara kedua kelompok tidak bermakna secara statistik ($p=0,78$). Rerata asupan vitamin C pada kelompok vitamin yaitu 103,67 (45,28) mg/hari, sedangkan pada kelompok plasebo adalah 131,33 (52,79) mg/hari. Beda antara kedua kelompok tidak bermakna secara statistik ($p=0,11$) Tidak ada perbedaan dalam hal asupan vitamin E dan vitamin C antara kedua kelompok (Tabel 4).

Tabel 4. Asupan vitamin E dan vitamin C pada kelompok vitamin dan plasebo

Asupan vitamin (mg/hari)	Kelompok vitamin		Kelompok plasebo		t	df	p
	Rerata	SB	Rerata	SB			
Vitamin E	4,56	1,38	4,72	2,02	-0,289	34	0,78
Vitamin C	103,67	45,28	131,33	52,79	1,993	34	0,11

Uji t tak berpasangan, $p > 0,05$ SB = simpang baku

BAB 6

PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian pada 36 penderita preeklampsia ringan, yang setelah dialokasikan secara acak 18 penderita masuk ke dalam kelompok vitamin dan 18 lainnya masuk ke dalam kelompok plasebo. Kelompok vitamin mendapatkan vitamin E (*α-tocopherol*) 400 IU per hari dan vitamin C (asam askorbat) 1000 mg per hari, sedangkan kelompok plasebo mendapatkan plasebo. Masing-masing diberikan selama 8 minggu.

Umur penderita berkisar antara 18 sampai dengan 44 tahun dengan rerata 30,08 tahun. Rerata umur ini tidak berbeda dengan penelitian sebelumnya, di mana usia berkisar 18-44 tahun dengan median 27 tahun³⁶ dan rerata 33 tahun⁵⁰. Umur yang ekstrem merupakan salah satu faktor predisposisi terjadinya preeklampsia^{1,10,32}. Sebanyak 38,88% subyek penelitian memiliki umur kurang dari 20 tahun dan lebih atau sama dengan 35 tahun. Tidak ada perbedaan dalam hal umur penderita antara kedua kelompok.

Tingkat pendidikan dari seluruh sampel yang terbanyak yaitu tingkat pendidikan SD dan SMU, dengan tingkat tertinggi yaitu D3. Tingkat pendidikan diperkirakan berpengaruh pada tingkat kepatuhan penderita dalam minum obat, maupun dalam wawancara mengenai pola makan. Tiga dari 10 orang yang dikeluarkan dari penelitian tidak meneruskan pengobatan karena sering lupa minum obat dan takut akan pengaruh obat terhadap kehamilan. Tetapi pada penelitian ini tingkat pendidikan antara kedua kelompok tidak berbeda.

Sebanyak 36,1% dari sampel penelitian ini adalah nullipara. Nullipara adalah salah satu faktor risiko terjadinya preeklampsia¹. Peneliti lain menemukan 26%-39% responden nullipara pada penderita preeklampsia^{36,51}. Terdapat perbedaan dalam hal paritas antara kedua kelompok, tetapi perbedaan tersebut tidak mempengaruhi hasil penelitian.

Kadar nitrit dan nitrat plasma tidak tergantung pada umur kehamilan wanita hamil normotensif pada trimester ketiga kehamilan, tetapi pada preeklampsia ada korelasi positif antara umur kehamilan dan kadar nitrit maupun nitrat plasma⁵⁰. Rerata umur kehamilan pada keseluruhan sampel yaitu 29,31 (3,59) minggu. Penelitian di Finlandia dilakukan terhadap subyek penelitian dengan rerata umur kehamilan 34,5 (3) minggu⁵⁰. Tidak ada perbedaan dalam hal umur kehamilan antara kedua kelompok, sehingga faktor umur kehamilan tidak berpengaruh terhadap hasil penelitian.

Sebanyak 22,2% sampel memiliki riwayat hipertensi pada kehamilan sebelumnya. Riwayat preeklampsia pada kehamilan sebelumnya merupakan salah satu faktor risiko terjadinya preeklampsia. Penelitian di London menemukan angka yang tidak jauh berbeda, yaitu 20-22%²⁰.

Rerata kadar NO keseluruhan subyek penelitian sebelum pemberian vitamin yaitu 22,3 (9,67) μM , dengan rerata umur kehamilan 29,31 (3,59) minggu. Penelitian pada tahun 1999 mendapatkan kadar nitrit dan nitrat plasma pada preeklampsia sebesar 18,1 (6,2) $\mu\text{mol/L}$, dengan rerata umur kehamilan 34,9 (3) minggu⁵⁰. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan rerata umur kehamilan, karena semakin tua umur kehamilan maka kadar NO akan semakin menurun⁵⁰. Penelitian lain menemukan kadar nitrat plasma sebesar 30,5 (2,2)

$\mu\text{mol/L}$, dengan rerata umur kehamilan 33,6 (0,7) minggu⁴⁹. Pada penelitian tersebut hanya diperiksa kadar nitrat dan bukan NO total. Tidak ada perbedaan kadar NO sebelum perlakuan pada kedua kelompok. Pada penelitian ini terdapat perbedaan selisih kadar NO sebelum dan sesudah perlakuan pada kedua kelompok. Pada kelompok vitamin terjadi peningkatan NO yang bermakna ($9,8 \mu\text{M}$) setelah pemberian vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000 mg/hari selama 8 minggu, sedangkan pada kelompok plasebo justru terjadi penurunan kadar NO serum. Hasil dari penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian kombinasi vitamin E dan vitamin C mampu meningkatkan kadar NO²⁴⁻²⁸, walaupun penelitian-penelitian tersebut menggunakan subyek penelitian yang berbeda, bukan pada penderita preeklampsia tetapi pada penderita gagal jantung, angina, dislipidemia, dan hiperkolesterolemia. Lamanya pemberian vitamin dan dosis vitamin E maupun vitamin C yang digunakan antara penelitian-penelitian yang sudah ada sebelumnya juga masih bervariasi, dan belum ada kesepakatan mengenai lama pemberian maupun dosis vitamin yang optimal untuk meningkatkan NO. Hasil dari penelitian ini mendukung teori bahwa pemberian antioksidan mampu menghambat terjadinya peroksidasi lipid yang pada akhirnya akan menurunkan kadar NO sebagai akibat disfungsi endotel¹³⁻¹⁴, sehingga beberapa peneliti menyarankan pemberian kombinasi vitamin E dan vitamin C untuk menghambat stress oksidatif, termasuk pada penderita preeklampsia⁶⁷, walaupun penelitian lebih lanjut masih tetap harus dilakukan untuk menemukan durasi pemberian dan dosis vitamin E dan vitamin C yang optimal untuk mencegah terjadinya atau progresivitas preeklampsia.

Hasil penelitian ini juga sesuai dengan teori bahwa peningkatan NO diharapkan dapat bermanifestasi secara klinis dalam penurunan tekanan darah.

Didapatkan penurunan tekanan darah sistolik dan diastolik pada kelompok vitamin setelah diberi perlakuan selama 8 minggu, sebaliknya justru terjadi peningkatan tekanan darah sistolik dan diastolik pada kelompok plasebo. Pada penelitian ini didapatkan penurunan rerata tekanan darah sistolik sebesar 10,56 mmHg pada kelompok yang diberi vitamin E dan C, yaitu 140 (6,86) mmHg turun menjadi 129,44 (12,59) mmHg setelah perlakuan. Sedangkan rerata tekanan darah diastolik turun sebesar 7,78 mmHg dari 95 (7,07) mmHg menjadi 87,22 (8,95) mmHg setelah perlakuan. Sebaliknya pada kelompok plasebo didapatkan peningkatan rerata tekanan darah sistolik sebesar 6,66 mmHg dan tekanan darah diastolik sebesar 1,66 mmHg. Pada kelompok plasebo rerata tekanan darah sistolik sebelum perlakuan yaitu 136,67 (9,06) mmHg dan mengalami peningkatan menjadi 143,33 (15,72) mmHg setelah perlakuan. Sedangkan tekanan diastolik 92,78 (4,61) mmHg sedikit meningkat menjadi 94,44 (9,84) mmHg. Sebelum perlakuan tidak ada perbedaan tekanan darah antara kedua kelompok. Penurunan tekanan darah pada kelompok vitamin secara klinis kurang bermakna karena hanya sebesar 10,56 mmHg untuk tekanan darah sistolik dan 7,78 mmHg untuk tekanan darah diastolik. Tetapi penurunan tersebut cukup menggembirakan karena pada preeklampsia ringan penurunan tekanan darah sistolik maupun diastolik ditujukan pada target normotensi, sehingga menurunkan risiko peningkatan morbiditas dan mortalitas ibu dan janin⁹. Pada penelitian ini penurunan tekanan darah sistolik pada kelompok vitamin berhasil mencapai target kriteria normotensi. Target penurunan tekanan darah pada penderita hipertensi secara umum pun adalah di bawah 140/90 mmHg, sehingga sebagian klinisi menganggap bahwa penurunan tekanan darah akan dianggap bermakna secara klinis bila berhasil mencapai target tersebut⁶⁸. Pada kelompok plasebo

didapatkan peningkatan tekanan darah sistolik maupun diastolik, walaupun secara klinis tidak bermakna karena hanya sebesar 6,66 mmHg dan 1,66 mmHg untuk tekanan darah sistolik dan diastolik, serta rerata tekanan darah masih dalam kriteria preeklampsia ringan. Sebanyak 5 orang (0,27%) subyek penelitian dalam kelompok plasebo mengalami progresivitas penyakit menjadi preeklampsia berat. Penurunan tekanan darah pada kelompok vitamin setelah pemberian vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000 mg/hari sesuai dengan teori bahwa pemberian antioksidan mengurangi stress oksidatif dan disfungsi endotel yang bermanifestasi timbulnya hipertensi¹²⁻¹⁴. Sebuah penelitian di London tahun 1999 terhadap 283 wanita risiko tinggi memberikan vitamin E 400 IU/hari dan vitamin C 1000 mg/hari sejak umur kehamilan 16-22 minggu. Mereka menemukan angka kejadian preeklampsia lebih rendah pada kelompok vitamin¹⁸. Peneliti yang sama pada tahun 2002 memberikan vitamin E dan C pada wanita risiko tinggi sejak umur kehamilan 20-22 minggu dan menemukan angka kejadian preeklampsia lebih tinggi pada kelompok risiko tinggi yang diberi plasebo, dibandingkan dengan kelompok vitamin²⁰. Sebuah penelitian di Afrika Selatan yang memberikan kombinasi vitamin E 800 IU/hari, vitamin C 1000 mg/hari dan allopurinol 200 mg/hari pada penderita preeklampsia berat sejak umur kehamilan 24-32 minggu menemukan bahwa lebih banyak penderita di kelompok plasebo yang memerlukan dua obat antihipertensi sekaligus untuk menurunkan tekanan darah, dibandingkan kelompok antioksidan³⁶. Belum tercapai kesepakatan mengenai lamanya pemberian maupun dosis optimal vitamin E dan vitamin C yang diberikan yang berpengaruh dalam penurunan tekanan darah ataupun dalam pencegahan terjadinya preeklampsia.

Kadar vitamin E maupun vitamin C plasma lebih rendah pada penderita preeklampsia dibandingkan hamil normotensi⁶⁷. Walaupun pada penelitian ini tidak diperiksa kadar vitamin E dan vitamin C dalam tubuh, asupan vitamin E dan vitamin C diduga akan berpengaruh terhadap hasil penelitian, sehingga peneliti berusaha memperoleh informasi mengenai asupan vitamin E dan vitamin C selama 8 minggu dengan menggunakan *Food Frequency Questioner*. Rerata asupan vitamin E pada keseluruhan sampel penelitian adalah 4,64 mg/hari, sedangkan untuk vitamin C adalah 117,5 mg/hari. Asupan vitamin E tersebut masih dibawah angka *Recommended Daily Dietary Allowances* (RDA) sedangkan untuk asupan vitamin C melebihi RDA, dimana asupan vitamin E dan vitamin C per hari untuk wanita hamil adalah 10 mg/ hari dan 70 mg/hari⁶⁰. Pada penelitian ini didapatkan bahwa asupan vitamin E dan vitamin C per hari pada kedua kelompok tidak berbeda, sehingga faktor asupan vitamin E dan vitamin C tidak mempengaruhi hasil penelitian.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah trombophilia sebagai kondisi sistemik yang dapat mengakibatkan iskemia tidak diperiksa dalam penelitian ini karena keterbatasan biaya. Keadaan ini sering didapatkan pada sindrom antifosfolipid, defisiensi faktor V Leiden, aktivasi resistensi protein C, dan hiperhomosisteinemia.

BAB 7

SIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Pemberian kombinasi vitamin E 400 IU dan vitamin C 1000 mg per hari selama 8 minggu meningkatkan kadar NO pada penderita preeklampsia.

7.2 Saran

Untuk ilmu pengetahuan

Disfungsi primer dari preeklampsia adalah akibat ketidakseimbangan antara NO, O₂⁻, dan ONOO⁻. Selain pemberian antioksidan yang diperlukan untuk menghambat stress oksidatif, konsentrasi *L-arginine* yang adekuat juga dibutuhkan untuk mencegah pembentukan O₂.

Masih belum ada kesepakatan mengenai lama pemberian dan dosis vitamin E dan vitamin C yang optimal untuk pencegahan preeklampsia. Dari pernyataan di atas maka:

- Perlu dilakukan penelitian serupa dengan memberikan *L-arginine* dan antioksidan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar NO dan pencegahan terjadinya atau bertambah beratnya preeklampsia.
- Perlu dilakukan penelitian serupa dengan lama pemberian atau dosis vitamin E dan vitamin C yang berbeda untuk menemukan lama dan dosis optimal dalam pencegahan terjadinya atau bertambah beratnya preeklampsia.

Untuk pelayanan

Karena pemberian kombinasi vitamin E 400 IU per hari dan vitamin C 1000 mg/hari terbukti meningkatkan kadar NO dan memberikan hasil yang cukup menggembirakan dalam menurunkan tekanan darah maka disarankan untuk memberikan kombinasi vitamin tersebut pada penderita preeklampsia ringan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hauth JC, Wenstrom KD.. Williams Obstetrics. 21st ed. New York: McGraw-Hill; 2001.
2. Suparmanto S. Gerakan Sayang Ibu. Penatalaksanaan kegawatdaruratan obstetri dan neonatal dalam gerakan sayang ibu. Semarang: Perinasia Cabang Jawa Tengah; 1997. h. 1-6.
3. Hauth JC, Cunningham FG. Preeclampsia-eclampsia. In: Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG, editors. Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy (2nd ed). Stamford, CT: Appleton & Lange; 1999. p. 169-199.
4. Working Group on High Blood Pressure on Pregnancy. Report of the National High Blood Pressure Education Program. Am J Obstet Gynecol 2000;183:S1-S21.
5. Junaedi A, Soejoenoes A. Kematian maternal di RSUP Dr.Kariadi Semarang tahun 1991-1995. Naskah lengkap POGI Cabang Semarang. PIT POGI Padang 1996.
6. Anggorowati D. Hadisaputro H. Kejadian preeklampsia/eklampsia di RSDK tahun 1997-1999. Kumpulan makalah/Kuliah utama. KOGI X Denpasar: POGI Cabang Semarang; 2000.
7. Wahdi, Suhartono A, Praptohardjo U. Kematian maternal di RSUP Dr.Kariadi Semarang tahun 1996-1998. Majalah Obstetri dan Ginekologi Indonesia. POGI. Jakarta. 2000; h. 65-70.
8. Cowles T, Saleh A, Cotton DB. Hypertensive Disorders of Pregnancy. In: High Risk Pregnancy. London: W.B.Saunders Company LTD; 1996. p. 253-61.
9. Mabie WC, Sibai BM. Hypertensive states of pregnancy. In: Decherney AH, Nathan L. Current obstetric & gynecologic. Diagnosis & treatment. 9th ed. New York: The Mc Graw-Hill Companies; 2003. p.338-53.

10. Pridjian G, Puschett JB. Preeclampsia. Part 1: Clinical and pathophysiologic considerations. *Obstet Gynecol Surv* 2002;57(9):598-613.
11. Angsar MD. Dampak radikal bebas pada kehamilan (Suatu hipotesis patogenesis preeklampsia). Makalah simposium dampak negatif radikal bebas pada organ tubuh dan manfaat antioksidan. Panitia Indonesia Emas dan Dies Natalis XLI Fakultas Kedokteran UNAIR. Surabaya: November 1995.
12. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222:222-35.
13. Lowe DT. Nitric Oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *NITRIC OXIDE: Biol Chem* 2000;4(4):441-58.
14. Pridjian G, Puschett JB. Preeclampsia. Part 2: Experimental and genetic considerations. *Obstet Gynecol Surv* 2002;57:619-34.
15. Suryohusodo P. Oksidan, anti oksidan, dan radikal bebas. Dalam: Makalah symposium dampak negatif radikal bebas pada organ tubuh dan manfaat antioksidan. Panitia Indonesia Emas dan Dies Natalis XLI Fakultas Kedokteran UNAIR. Surabaya: November 1995.
16. Wiknjosastro GH. Radikal bebas dan proses inflamasi pada preeklampsia. PIT XIII POGI Malang; 2002.
17. Adam S. The antioxidant vitamins. Available from: URL: <http://www.i2k.~suzanne/vitamineandc.htm#c>.
18. Chappel LC, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, LEE R, Hunt BJ, et al. Effect of antioxidants on the occurrence of preeclampsia in women at increased risk: a randomized trial. *Lancet* 1999; 354:810-15.
19. Chalid MT, Patellongi IJ, Rambulangi J. Efek pemberian suplemen alfa tokoferol terhadap aktivitas radikal bebas pada penderita preeklampsia. Makalah Pertemuan Ilmiah Berkala XI Fakultas Kedokteran UNHAS; 1998.
20. Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ, Briley A, Hunt BJ, Charnock-Jones S, et al. Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:777-84.

21. Orpana AK, Avela K, Ranta V, Viinikka L, Ylikorkala O. The calcium-dependent nitric oxide production of human vascular endothelial cells in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1056-60.
22. Delacretaz E, de Quay N, Weber B. Differential nitric oxide synthase in human platelets during pregnancy and preeclampsia. *Clin Sci* 1995;88:607-10.
23. Wang Y, Gu Y, Zhang Y, Lewis DF. Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia and decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with increased permeability in endothelial cells from preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(3):817-24.
24. Heller R, Unbehaun A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 2001; 276(1): 40-7.
25. Hornig B, Arakawa N, Kohler C, Drexler H. Vitamin C improves endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1998;97(4):363-8.
26. Motoyama T, Kawana H, Kugiyama K. Vitamin E administration improves impairment of endothelium-dependent vasodilatation in patients with coronary spastic angina. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:1672-9.
27. Kugiyama K, Motoyama T, Doi H. Improvement of endothelial vasomotor dysfunction by treatment with α -tocopherol in patients with high remnant lipoprotein levels. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:1512-8.
28. Desideri G, Marinucci MC, Tomassoni G, Masci PG, Sartucci A, Ferri C. Vitamin C supplementation reduces plasma vascular cell adhesion molecule and von Willebrand factor levels and increases NO concentration in hypercholesterolemic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 87(6):2940-45.
29. Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, National High Blood Pressure Education Program. 2000 July. NIH Publication No. 00-3029.
30. Hadisaputro H. Prediksi dan pencegahan preeklamsia-eklamsia. Dalam: Naskah lengkap simposium kemajuan obstetrik 4. Rujukan dan kemajuan terkini di bidang

- obstetrik. POGI cabang Semarang. Bag/SMF Obstetri ginekologi FK Undip/RS dr. Kariadi Semarang, 2003: h. 65-77.
31. Angsar MD. Hypertension in pregnancy. Proposal for clinical practice guide-line in Indonesia. Maternal-Fetal Study Group Indonesian Society of Obstetrics and Gynecology; 2005.
 32. Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carillo J, et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med* 2001;344:867-72.
 33. Matijevic R, Johnston T. In vivo assesment of failed trophoblastic invasion of the spiral arteries in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 1999;106:78-82.
 34. Solomon CG, Seely EW. Preeclampsia-Searching for the cause. *N Engl J Med* 2004;350(7):641-2.
 35. Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet* 2000;356:1260-65.
 36. Gulmezoglu AM, Hofmeys GJ, Oosthuisen MJ. Antioxidants in treatment of severe preeclampsia: an explanatory randomized controlled trial. *Br J Obstet Gynecol* 1997;104:689-96.
 37. Raijmakers MT, Zuzterzeel PM, Roes EM, Steegers EA, Mulder TP, Peters WH. Oxidized and free whole blood thiols in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2001;97:272-6.
 38. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Ed. 24. Jakarta: EGC; 1997.
 39. Gonzalez-Quintero VH, Smarkusky LP, Jimenez JJ, Mauro LM, Wenche , Hortsman LL, et al. Elevated plasma endothelial microparticles: preeclampsia versus gestational hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1418-24.
 40. Silver RM, Schwintzer B, MCGregor JA. Interleukin-6 levels in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancies: preeclampsia, small for gestasional age fetus, and premature labor. *Am J Obstet Gynecol* 1999;169:1101-5.
 41. Redman CWG, sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnant. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:975-80.

42. Modulation of vascular tone by nitric oxide and endothelin 1 in myometrial resistance arteries from pregnant women at term. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182:87-93.
43. Kublickiene KR, Lindblom B, Kruger K, Nisell H. Preeclampsia: Evidence for impaired shear stress-mediated nitric oxide release in uterine circulation. *Am J Obstet Gynecol* 2000 ;183:160-6.
44. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329(27):2002-12.
45. Noris M, Todeschini M, Cassis P, Pasta F, Cappellini A, Bonazzola S, et al. L-Arginine Depletion in Preeclampsia Orients Nitric Oxide Synthase Toward Oxidant Species. *Hypertension* 2004;43:614.
46. Zhang C, Williams MA, King IB, Dashow EE, Sorensen TK, Frederick IO, Thompson ML, Luthy DA. Vitamin C and the risk of preeclampsia--results from dietary questionnaire and plasma assay. *Epidemiology* 2002 Jul;13(4):409-16.
47. Kharb S. Vitamin E and C in Preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000;93:37-9.
48. Granville L, Fink B, Dikalov S. Recovery of activity of endothelial nitric oxide synthase under condition of oxidative stress: role of tetrahydrobiopterin. *The Sure Program.* Atlanta: 2003.
49. Yoneyama Y, Suzuki S, Sawa R, Miura A, Doi D, Otsubo Y, et al. Plasma nitric oxide levels and the expression of P-selectin on platelets in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:676-80.
50. Bisseling TM, Roes EM, Raijmakers MT, Steegers EAP, Peters WHM, Smits P. N-acetylcysteine restores nitric oxide-mediated effects in the fetoplacental circulation of preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:328-33.
51. Ranta V, Viinikka L, Halmesmaki E, Ylikorkala O. Nitric oxide production with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1999;93:442-5.
52. Anna RD, Baviera G, Corrado F, Crisafulli A, Ientile R, Buemi M, et al. Neurokinin B and nitric oxide plasma levels in pre-eclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1046-50.

53. Smarason AK, Allman KG, Young D, Redman CWG. Elevated levels of serum nitrate, a stable end product of nitric oxide, in women with pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynecol* 1997;104:538-43.
54. Di Iorio R, Marinoni E, Coacci F, La Torre R, Cosmi EV. Amniotic fluid nitric oxide and uteroplacental blood flow in pregnancy complicated by intrauterine growth retardation. *Br J Obstet Gynecol* 1997;104:1134-9.
55. Tyurin VA, Liu SX, Tyurin YY, Sussman NB, Hubel CA. Elevated levels of S-Nitrosoalbumin in preeclampsia plasma. *Circ Res* 2001;88:1210.
56. Roggensack AM, Zhang Y, Davidge ST. Evidence for peroxynitrite formation in the vasculature of women with preeclampsia. *Hypertension* 1999;33:83-89.
57. Hajjar IM, George V, Sasse EA, Kocher MS. A randomized, double-blind, controlled trial of vitamin C in the management of hypertension and lipids. *Am J Ther* 2002; 9(4):289-93.
58. Johnston CS, Cox SK. Plasma-Saturating intakes of vitamin C confer maximal antioxidant protection to plasma. *J Am Coll Nutr* 2001;20(6):623-7.
59. Pressman EK, Cavanaugh JL, Mingione m, Norkus EP, Woods JR. Effects of maternal antioxidant supplementaion on maternal and fetalantioxidant levels: A randomized, double-blind study. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:1729-5.
60. Lavoisier AL. Chemical and physiological properties of vitamins. In: Combs GF, editor. *The vitamins. Fundamental aspects in nutrition and health*. 2nd ed. London: Academic press; 1998. p. 191-263.
61. Horvath PJ. Vitamins as therapeutic agents. In: Smith CM, Reynard AM. Editors. *Textbook of pharmacology*. W.B.Saunders Company. Philadelphia; 1992. p.1067-78.
62. Carr AC, Zhu B, Frei B. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E). *Circ Res* 2000;87:349.
63. Papas AM. How safe is vitamin E? In: *The vitamin E factor: The miraculous antioxidant for the prevention and treatment of heart disease, cancer and aging*. 1st ed. New York: Harper Perennial; 1999. p 312-20.
64. Das UN. Folic acid says NO to vascular diseases. *Nutrition* 2003;19:686-92.

65. d'Uscio LV, Milstien S, Richardson D, Smith L, Katusic ZS. Long-term vitamin C treatment increases vascular tetrahydrobiopterin levels and nitric oxide synthase activity. *Circ Res* 2003;92:88-95.
66. Heller R, Unbehauen A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem* 2001 Jan 5; 276(1):40-7.
67. Roberts JM, Balk JL, Bodnar LM, Belizan JM, Bergel E, Martinez A. Nutrient involvement in preeclampsia. *J Nutr* 2003; 133 Suppl 1:1684-92.
68. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42:1206-52.

Lampiran 1. SURAT PERSETUJUAN PENELITIAN
(INFORMED CONSENT)

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :

Umur :

Alamat :

Nomor rekam medik :

Setelah mendapat penjelasan dan keterangan mengenai penelitian ini yang berjudul :
EFEK PEMBERIAN KOMBINASI VITAMIN E DAN VITAMIN C TERHADAP
KADAR NITRIC OXIDE PADA PREEKLAMPSIA

dengan proses penelitian yang meliputi :

- Pengambilan darah vena sebanyak 3 cc yang ditampung dalam *vacutainer* untuk dilakukan pemeriksaan kadar NO serum sebelum intervensi.
- Meminum obat yang diberikan sesuai dengan petunjuk yang diberikan selama 8 minggu.
- Pada akhir minggu ke-8 dilakukan pengambilan darah vena kembali untuk mengetahui kadar NO serum setelah intervensi.

menyatakan dengan secara sukarela menyetujui diikutsertakan dalam penelitian ini dan bersedia untuk mengikuti prosedur penelitian yang telah ditetapkan.

Persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Semarang,

Yang menyetujui

()

Lampiran 2.

STATUS PENELITIAN

PENELITIAN EFEK VITAMIN C DAN E TERHADAP KADAR NO PADA PRE EKLAMPSIA

1. a. Tanggal diperiksa I kali	: □□.□□.□□	b. Tgl diperiksa II :	□□.□□.□□	
2. No CM	: □□□□□□			
3. Nama	:			
4. Umur	: □□ th			
5. Kawin	: □ kali			
6. Pekerjaan Suami	:			
Pekerjaan Penderita	:			
7. Agama	:			
8. Pendidikan	:			
9. Alamat	:			
10. Kehamilan ke	:			□
11. Abortus (berapa kali)	: (0) untuk tidak pernah			□
12. Persalinan prematur (berapa kali) :	(0) untuk tidak pernah			□
13. Berapa kali ANC :	(0) untuk tidak pernah			□
14. ANC :	1).Bidan 2).Dokter umum 3).SPOG			□
15. Riwayat hipertensi pada keluarga :	1).Ada 2).Tidak ada 3).Tidak tahu			□
16. Riwayat tekanan darah tinggi pada kehamilan sebelumnya :	1).Ada 2).Tidak ada			□
17. Berat badan	: □□□ kg			
18. Tinggi badan	: □□□ cm			
19. Tekanan darah sistolik	I: □□□ mmHg	II: □□□ mmHg		
20. Tekanan darah diastolik	I: □□□ mmHg	II: □□□ mmHg		
21. Umur kehamilan saat ini:.....	Minggu			□□
22. Proteinuria	: 1).Positif 2).Negatif			□
23. Pemberian obat selama hamil berhubungan dengan PE :	1).Tidak 2).Ya (nama obat dosis..... Dan lama			□
24. Pemberian obat anti hipertensi :	1). Ada, sebutkan..... (nama obat,dosis,lama) 2). Tidak			□
25. Efek samping pemberian :	1). Ada, sebutkan..... 2). Tidak			□
26. Kepatuhan penderita	1). Ya 2). Tidak, sebutkan.....			□
27. Efek samping vitamin	1).Ada, sebutkan..... (2) Tidak			□
28.Lain-lain				

Pengumpul Data :

1. Nama : Tempat : Tanggal :

6. Taoge kc. Hijau	1 gelas	70							
7. Terong	1 sdm	30							
8. Kangkung	3/4 gls	75							
9. Kc. Buncis	1 sdm	20							
10. Kc. Panjang	1 sdm	10							
11. Labu siam	1 sdm	20							
12. Wortel	1 sdm	10							
13. Daun singkong	1 sdm	25							
14. Bayam	1 sdm	5							

V. Buah-buahan dan Gula

Nama makanan	Ukuran Rumah Tangga	Berat (g)	Frekuensi dan berat						Rata-rata	
		 x /hari	gram x /mgg	gram x /bln	gram	 x /mgg
1. Blimbing	1 bh bsr	125								
2. Blewah	1 ptg sdg	70								
3. Jambu air	2 bh bsr	110								
4. Jambu biji	1 bh bsr	100								
5. Jeruk manis	2 bh sdg	100								
6. Kedondong	2 bh sdg	150								
7. Mangga	1/2 bh bsr	50								
8. Nangka masak	3 bj sdg	50								
9. Nenas	1/4 bh sdg	75								
10. Pepaya	1 ptg bsr	100								
11. Pisang Ambon	1 bh kcl	75								
12. Pisang kepok	1 bh	50								
13. Pisang susu	2 bh	100								
14. Rambutan	8 bh	75								
15. Semangka	2 ptg sdg	150								
16. Gula	1 sdm	10								
17. Madu	1 sdm	15								
18. Sirup	1 sdm	10								
VI. Susu										
1. Susu skim cair	1 gls	200								

2. Susu sapi	1 gls	200								
3. Tepung susu penuh	6 sdm	30								
VII. Minyak dan Lemak										
Nama makanan	Ukuran Rumah Tangga	Berat (gram)	Frekuensi dan berat						Rata-rata	
		 x /hari	gram x /mgg	gram x /bln	gram	x /mgg
1. Santan	1/4 gls	50								
2. Kelapa	1 ptg kcl	15								
3. Minyak kelapa	1 sdt teh	5								
VIII. Makanan Jajanan										
1.										
2.										
3.										
4.										
5.										

B. Konsumsi suplemen/vitamin :

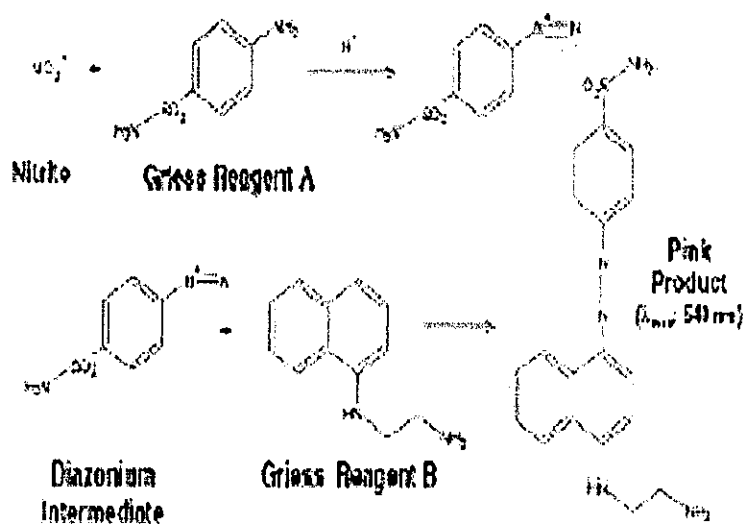
1. Selama sebulan terakhir minum suplemen/vitamin :

1. Tidak 2. Ya, sebutkan, _____ 3. Bila ya, berapa kali seminggu kali.

Lampiran 4.

PRINSIP PEMERIKSAAN

Pemeriksaan ini berdasarkan pada reaksi Griess. Nitrit bereaksi dengan *diazotizing reagent sulfanilamide* dalam media asam untuk membentuk garam diazonium, dan bereaksi dengan *coupling reagen N-naphthylethylenediamine*. Hasilnya akan terbentuk zat azo berwarna pink yang stabil, dan dilakukan pembacaan pada gelombang 540 nm, sesuai dengan kadar nitrit yang terkandung dalam sampel. Kadar *nitric oxide* total diperoleh dengan sebelumnya mereduksi nitrat dalam sampel menjadi nitrit dengan kadmium yang dilapisi tembaga, baru setelah itu dilakukan pemeriksaan kadar nitrit dengan reagen Griess.



Lampiran 5.**PROSEDUR PEMERIKSAAN NO**

Prosedur pemeriksaan terbagi menjadi beberapa tahap :

Persiapan larutan standar

Larutan standar dibuat sesuai diagram berikut:

Tabung	Volume (μL) 100 μM Nitrit (botol I)	Volume (μL) dH_2O	Konsentrasi akhir Nitrit standar
1	0	1000	0
2	200	800	20
3	400	600	40
4	600	400	60
5	800	200	80
6	1000	0	100

Persiapan sampel

1. Masukkan 120 μL sampel atau standar ke dalam tabung *microcentrifuge* (Eppendorf).
2. Tambahkan 120 μL larutan ZnSO_4 , campur.
3. Tambahkan 150 μL larutan NaOH , campur, diamkan selama 10 menit.
4. *Centrifuge* pada 3.000-10.000 g selama 5 menit.
5. Ambil supernatan sebanyak 250 μL .

Persiapan reagen (*Cd-Cu reducer*)

1. Hitung jumlah total pellet kadmium yang diperlukan, sesuai dengan jumlah sampel dan standar. Hanya dibutuhkan satu pellet untuk setiap sampel atau standar. Masukkan jumlah keseluruhan pellet ke dalam botol transparan.

2. Tambahkan 200 μL larutan H_2SO_4 untuk setiap pellet, cuci dan buang cairan sebanyak mungkin.
3. Tambahkan dH_2O dengan volume yang sama, cuci dan buang cairan sebanyak mungkin.
4. Tambahkan 200 μL larutan CuSO_4 untuk setiap pellet, cuci dan buang cairan sebanyak mungkin.
5. Tambahkan dH_2O dengan volume yang sama, cuci dan buang cairan sebanyak mungkin.
6. Tambahkan 200 μL *Reduction Buffer*, cuci dan buang cairan sebanyak mungkin.
7. Pindahkan 1 pellet ke dalam eppendorf untuk setiap larutan sampel atau standar yang telah dipersiapkan.

Protokol pemeriksaan nitrat dan nitrit

1. Masukkan 100 μL sampel atau standar dan 100 μL *Reduction Buffer* pada eppendorf yang telah diisi satu pellet Cd-Cu. Goyang secara cepat selama 20-25 menit.
2. Ambil supernatan untuk dilakukan *Griess assay*
3. Masukkan 100 μL sampel atau standar yang telah direduksi ke dalam setiap sumuran.
4. Tambahkan 50 μL Griess Reagen A pada setiap sumuran.
5. Segera tambahkan 50 μL Griess Reagen B pada setiap sumuran.
6. Inkubasi pada suhu kamar selama 20 menit.
7. Pembacaan absorbansi (vs DH_2O) dengan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 540 nm.