

Pengaruh Pemberian *L-Arginine* terhadap Perbaikan Kerusakan Endotel Arteri Koroner pada Jantung Mencit (*Mus Musculus*) Model Preeklampsia

Alip Sudarmono, Indra Wiji Sari Dewi

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta

email : indrawsd@gmail.com

received 29 Nop 2020; accepted 19 Des 2021

Abstrak

Preeklampsia merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada ibu dan janin. Pada preeklampsia terjadi peningkatan produk lipoperoxidasi dan nitritoksida sintase (NOS), sementara antioksidan enzimatis (vitamin C dan E), superoksida dismutase (SOD) dan glutathione peroxidase (GPx) mengalami penurunan. Pemberian *L-arginine* bertindak melalui jalur sintase nitrat oksida dengan cara menghambat nitrit oksida sintase inhibitor sehingga produksi nitrit oksida akan meningkat dan dapat memberi dampak terjadinya vasodilatasi vaskuler serta memperbaiki hipoksia, diharapkan terjadi dilatasi vaskuler dengan ditemukannya nitrat oksida (NO) didalam endothelium plasenta, cakram korion dan pembuluh darah vili yang memiliki kontribusi pemeliharaan tonus pembuluh darah basal dan menurunkan kinerja vasokonstriktor seperti endotelin (ET-1) dan tromboksan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian *L-ARGININE* terhadap gambaran kerusakan endotel : ketebalan dan diameter arteri coroner pada jantung mencit (*Mus Musculus*) model preeklampsia. Penelitian ini merupakan studi eksperimental, menggunakan 30 mencit (*Mus Musculus*) bunting yang dibagi secara random dalam tiga kelompok, yaitu kelompok bunting normal, model preeklampsia dan model preeklampsia dengan pemberian *L-Arginine*. Mencit model preeklampsia dibuat dengan menyuntikan anti Qa2 10 ng ip pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-4 kebuntingan yang akan menghilangkan ekspresi Qa2 (homolog dengan HLA-G ibu hamil preeklampsia). Hasil penelitian menunjukkan rerata diameter arteri coroner mencit bunting normal 1098,12 μm dibandingkan rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia 821,58 μm . dengan nilai $p=0,004$ ($p<0,05$). Rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia 821,58 μm dibandingkan rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia dengan pemberian *L-Arginine* 991,27 μm . dengan nilai $p=0,019$ ($p<0,05$). Rerata diameter arteri coroner mencit bunting normal 1098,12 μm dibandingkan rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia dengan pemberian *L-Arginine* 991,27 μm . dengan nilai $p=0,326$ ($p>0,05$). Rerata ketebalan arteri coroner mencit bunting normal 178,13 μm dibandingkan rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia 235,29 μm . dengan nilai $p=0,009$ ($p<0,05$). Rerata ketebalan arteri coroner mencit bunting normal 178,13 μm dibandingkan rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia dengan pemberian *L-Arginine* 169,96 μm . dengan nilai $p=0,669$ ($p>0,05$). Rerata ketebalan arteri coroner mencit model preeklampsia 235,29 μm dibandingkan rerata diameter arteri coroner mencit model preeklampsia dengan pemberian *L-Arginine* 169,96 μm . dengan nilai $p=0,002$ ($p<0,05$).

Kata Kunci: *L-Arginine*, ketebalan dinding arteri coroner, preeklampsia

Abstract

Preeclampsia is one of the major causes of morbidity and mortality in the mother and fetus. The etiology of preeclampsia remains unknown. One theory about the existence of imbalancing between free radical production and antioxidant defense system due to placental ischemia leads to oxidative stress. Resulting in increasing product lipoperoxidation and nitric oxide synthase (NOS), while the enzymatic antioxidants (vitamin C and E), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) decreased. Administration of *L-arginine* act through nitric oxide synthase by inhibiting nitric oxide synthase inhibitors so that nitric oxide production will increase and may impact the occurrence of vasodilatation vascular and improve hypoxia, expecting dilatation of vascular by the discovery of nitric oxide (NO) in the endothelium. This study aimed to analyze the effect of *L-arginine* on endothelial damage picture: the thickness and diameter of the coronary arteries on the heart of mice (*Mus musculus*) model of preeclampsia. This is an experimental study, using 30 mice (*Mus Musculus*) pregnant divided randomly in three groups, the normal pregnant group, the preeclampsia model and the preeclampsia model with *L-Arginine* administration. Mice models of preeclampsia are made by injecting anti-Qa2 10 ng ip on day 1 to day 4 of pregnancy which will eliminate Qa2 expression (homologous with HLA-G pregnant women preeclampsia). The terminations were performed on the 16th day of pregnancy, the fetal weight of mice weighing, and observed changes in the histologic features of the coronary arteries in the thickness and diameter of the coronary arteries. Statistical analysis using histology of artery diameter using statistical test kruskall wallis, because the data in this study is not normally distributed. The continuation of the kruskall wallis test is if there is a significant difference then done with

Mann Whitney test. While on the histology of coronary artery wall thickness using one way anova statistical test because the data in this study is normally distributed. The continuation of one way anova test is if there is a significant difference then done with post hoc test t test. Mean coronary artery diameter of normal mice was 1098,12 μm compared to mean diameter of coronary artery of preeklampsia model 821,58 μm . With p value = 0,004 ($p < 0,05$). Mean diameter of coronary artery of preeklampsia model 821,58 μm compared to mean coronary artery diameter of preeklampsia model with L-Arginine 991,27 μm . With p value = 0,019 ($p < 0,05$). Mean coronary artery diameter of normal mice was 1098,12 μm compared to mean coronary artery diameter of preeklampsia mouse model with L-Arginine 991,27 μm . With a value of $p = 0.326$ ($p > 0.05$). The average of coronary artery thickness of normal pregnant mice was 178,13 μm compared to mean coronary artery diameter of preeklampsia mouse model 235,29 μm . With p value = 0,009 ($p < 0,05$). The average coronary artery thickness of 178,13 μm normal pregnant mice compared to mean coronary artery diameter of preeklampsia mouse model with L-Arginine 169,96 μm . With a value of $p = 0.669$ ($p > 0.05$). The average coronary artery thickness was 235,29 μm of preeklampsia model compared to mean coronary artery diameter of preeklampsia model with L-Arginine 169,96 μm . With p value = 0,002 ($p < 0,05$).

Keyword : L-Arginine, thickness arterial coronary's wall, preeklampsia

1. Pendahuluan

Preeklampsia adalah suatu kondisi heterogen yang dapat menantang untuk mendiagnosa, mengingat spektrumnya yang luas dan kurangnya tes diagnostik yang kuat. Fitur utama dari preeklampsia adalah onset baru hipertensi (didefinisikan sebagai tekanan darah sistolik ≥ 140 mm Hg atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mm Hg) dan proteinuria (300 mg atau lebih besar dalam spesimen 24 jam urin). Dengan penyajian klasik, wanita biasanya mengalami preeklampsia setelah 20 minggu kehamilan dan sebelum 48 jam setelah melahirkan¹.

Preeklampsia dan komplikasinya terkait telah menjadi salah satu penyebab utama morbiditas ibu dan janin dan kematian di dunia, menyebabkan hampir 40% dari kelahiran sebelum kehamilan 35 minggu. Selain itu, preeklampsia sangat terkait dengan peningkatan risiko kematian janin akibat penyakit kardiovaskular atau independen dari faktor risiko lain. Preeklampsia hadir di sekitar 5-10% dari semua wanita hamil di seluruh dunia dan meskipun jumlah sumber daya yang diinvestasikan dalam penelitian dan pengobatan dari penyakit ini cukup besar. Perkembangan penyakit ini masih hampir tidak dapat diprediksi dan dengan demikian menantang untuk melakukan pencegahan dan pengelolaan secara klinis².

Di negara berkembang dimana keterbatasan akses untuk mendapatkan penanganan kesehatan maternal yang memadai, angka kematian maternal dapat mencapai 15% jika dibandingkan dengan negara maju yang sekitar 0 - 1,8%³. Di Indonesia 30 - 40% kasus preeklampsia menjadi penyebab kematian ibu hamil dan 30 - 50% menjadi penyebab kematian perinatal. Di RSUD Dr. Moewardi Surakarta kematian ibu hamil yang disebabkan oleh preeklampsia yaitu 67,6% dari 37 kasus preeklampsia dari 1956 persalinan pada tahun 2008⁴.

Sebagian besar kasus preeklampsia terjadi pada wanita nulipara yang sehat, di antaranya kejadian preeklampsia mungkin setinggi 7,5%. Wanita multipara hamil dengan pasangan baru memiliki risiko preeklampsia yang sama seperti wanita nulipara, ini telah dianggap berasal dari faktor yang terkait dengan perubahan pasangan atau meningkatnya interval antar kehamilan. Selain itu, wanita dengan preeklampsia pada kehamilan sebelumnya terus memiliki risiko preeklampsia yang tinggi pada kehamilan berikutnya. Meskipun sebagian besar kasus preeklampsia terjadi tanpa adanya riwayat keluarga, kehadiran preeklampsia pada tingkat pertama relatif meningkat pada seorang wanita dengan preeklampsia berat dua sampai empat

kali lipat. Riwayat preeklampsia pada ibu atau nenek juga memberikan peningkatan risiko⁵.

Etiologi preeklampsia masih belum diketahui dan beberapa teori telah diusulkan untuk menjelaskan patofisiologi. Hipotesis terkini mengatakan bahwa plasenta berperan sebagai suatu patologi maternal. Teori yang banyak dianut yaitu adanya invasi tidak sempurna dari sel trofoblas arteri uterine, menghasilkan iskemia plasenta relatif, diikuti oleh pelepasan protein antiangiogenik dari plasenta yang berakhir pada disfungsi endotel. Jalur akhir ini, dan aktivasi kaskade koagulasi, sementara efek protein antiangiogenik yang juga memengaruhi mekanisme penyaringan ginjal bertanggung jawab terhadap onset awal proteinuria. Perubahan pada kadar protein angiogenik yang bersirkulasi dalam patogenesis preeklampsia telah dapat dideteksi di dalam darah ibu sebelum onset dari penyakit klinis muncul. Pengamatan ini penting dalam rangka untuk mengembangkan strategi pencegahan atau terapi intervensi. Tetapi, sebaik apa pun hipotesis ini, hal itu masih belum terbukti. Teori lain termasuk adanya perubahan regulasi volume darah selama kehamilan, kenaikan berlebihan pada cardiac output, autoantibodi terhadap reseptor angiotensin, defisiensi nutrisi, perubahan abnormal dari hormone atau protein pressor yang bersirkulasi, kelainan keseimbangan pro oksidan antioksidan, dan peningkatan keadaan inflamasi sistemik, semuanya masih dalam penyelidikan⁶.

Data epidemiologis menunjukkan bahwa wanita dengan preeklampsia memiliki peningkatan risiko hipertensi kronik dan penyakit kardiovaskular. Preeklampsia rekuren berhubungan dengan risiko penyakit kardiovaskular yang lebih besar lagi dan wanita yang menderita preeklampsia sebelum usia kehamilan 34 minggu, memiliki risiko kematian akibat kardiovaskuler sebesar 4 hingga 8 kali lebih besar dibandingkan dengan wanita yang kehamilannya normal. Secara keseluruhan, risiko penyakit kardiovaskular setelah preeklampsia meningkat 2 hingga 4 kali lipat. Korelasi kuat ini mendasari riwayat

preeklampsia sebagai faktor risiko untuk pencegahan penyakit kardiovaskular pada wanita⁷.

Salah satu teori mengenai adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan akibat iskemia plasenta, menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Proses peroksidasi lipid dianggap memiliki peranan penting didalamnya. Idealnya selama kehamilan normal, peningkatan produksi radikal bebas keseimbangannya selalu dijaga melalui produksi antioksidan yang cukup, namun pada preeklampsia terjadi peningkatan produksi radikal bebas berlebihan dan penurunan kadar antioksidan sehingga menyebabkan suatu keadaan stres oksidatif⁸.

Preeklampsia berhubungan dengan morbiditas dan mortalitas kardiovaskular, hiperinsulinemia, dan penyakit renal fase akhir. Data dari Child Health and Development Study menunjukkan bahwa pada penelitian kohort, dari 14.000 wanita dengan rata-rata follow up selama 37 tahun setelah kehamilan, preeklampsia dikaitkan dengan peningkatan risiko kardiovaskular sebesar 2 kali, sedangkan untuk preeklampsia berat dapat meningkat sampai 9 kali. Berdasarkan literatur, komplikasi kehamilan yaitu preeklampsia, yang terjadi pada 3-8% kehamilan yang memiliki hubungan terhadap penyakit kardiovaskular di kemudian hari⁹.

Pada preeklampsia, stres oksidatif dapat dibuktikan baik dalam plasenta dan dalam sirkulasi ibu. Plasenta pada preeklampsia menghasilkan jumlah yang lebih besar dari superoksida dan memiliki kapasitas kurang antioksidan dibandingkan dengan plasenta normal. Maternal serum dari kehamilan preeklampsia menunjukkan bukti modifikasi oksidatif protein dan lipoprotein partikel. Kadar antioksidan juga telah dilaporkan menurun pada wanita dengan preeklampsia. Pelepasan debris plasenta juga menyebabkan stres oksidatif tinggi dan disfungsi endotel pada preeklampsia. Kelainan plasenta dan iskemia uteroplasenta dapat menginduksi mikropartikel plasenta terlepas

dan masuk ke dalam sirkulasi darah ibu dan partikel-partikel ini dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan vasular. Konsisten dengan hal ini, wanita dengan preeklampsia mengalami peningkatan tingkat sirkulasi debris plasenta¹⁰.

Meskipun patofisiologi yang tepat dari preeklampsia masih belum diketahui, jelas bahwa ada plasentasi abnormal dan cacat invasi trofoblas mengakibatkan unit uteroplasenta berada di bawah perfusi. Hal ini berhubungan dengan kerusakan endotel dan produksi faktor vasoaktif, yang menyebabkan vasokonstriksi, akibatnya oksida nitrat disintesis dari asam amino *L-arginine* oleh enzim sintase oksida nitrat yang tergantung pada kalsium¹¹.

L-arginine telah disebutkan bahwa mempunyai peran jalur L-arginine-nitric oxide dalam preeklampsia. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa produksi Nitric Oxide meningkat pada kehamilan normal. Pada tikus, kadar cGMP (sebuah second messenger NO) plasma dan urin serta kadar nitrit atau nitrat urin, metabolit NO, akan meningkat selama kehamilan. Selain itu, ekspresi protein renal (iNO dan nNOS) masing-masing akan meningkat 31% dan 25%, pada tikus di pertengahan gestasi. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa NO memainkan peran penting dalam memperantarai hemodinamik sistemik dan vasodilatasi renal selama kehamilan. Gangguan respon dependen endotel telah dilaporkan pada pembuluh darah yang diisolasi dari wanita dengan preeklampsia. Hal ini menandakan bahwa gangguan produksi NO endotel dapat memainkan peran penting dalam memperantarai patofisiologi preeklampsia¹².

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa inhibisi produksi NO oleh inhibitor spesifik untuk NOS selama kehamilan pada tikus akan mengakibatkan peningkatan tekanan arterial yang nyata, penurunan GFR, proteinuria, IUGR, dan perlambatan peningkatan vasodilatasi renal pada pertengahan gestasi. Terlebih lagi, efek yang diperantarai oleh blokade NO ini bersifat

reversibel melalui pemberian *L-arginine*. Selain itu, pada preeklampsia telah diketahui adanya penurunan bioavailabilitas nitrit oksida kemungkinan diakibatkan dari akumulasi ADMA, adanya inhibitor endogen eNOS, akibat peningkatan aktivitas arginase endotel, defisiensi pada substrat *L-arginine*, defisiensi pada kofaktor yang dibutuhkan untuk aktivitas NOS dan terhadap peningkatan stres oksidatif bertanggung jawab dalam degradasi nitrit oksida yang cepat akibat reaktivitasnya yang tinggi dengan O₂ untuk membentuk peroksinitrit. Telah terbukti sebuah peran peningkatan stres oksidatif pada preeklampsia terjadi penurunan ekspresi enzim antioksidan dan peningkatan marker stres oksidatif, termasuk peningkatan karbonil protein dan peroksidasi lipid. Sebagai hasilnya, tampak ada penurunan kapasitas protektif antioksidan total pada wanita dengan preeklampsia¹².

L-arginine menurunkan angka kejadian preeklampsia, dan frekuensi preeklampsia pada kelompok ini sebesar 14.5%. Penurunan risiko pada kelompok *L-arginine* diestimasi sebesar 26%, dengan efikasi sebesar 74%. *L-arginine* menurunkan angka kejadian preeklampsia berat secara signifikan. Penemuan ini konsisten dengan laporan dari Vadillo et al. Pada penelitian Vadillo efek samping seperti sakit kepala dan palpitasi dilaporkan tetapi penelitian ini tidak ditemukan adanya efek samping seperti itu¹³.

2. Metode

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental pada hewan coba mencit betina *Mus musculus* bunting pada usia kebuntingan enam belas hari untuk mengetahui perbedaan histologi arteri coroner jantung mencit bunting normal, mencit bunting model preeklampsia dan mencit bunting model preeklampsia dan mendapat terapi *L-arginine*.

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk proses membuntingkan mencit dan membuat mencit bunting model preeklampsia serta memelihara mencit bunting sampai

dengan pengambilan sampel. Laboratorium patologi anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga melakukan pembuatan preparat block parafin dan pengamatan histologi sampel penelitian.

Penelitian pada hewan coba menggunakan organ jantung mencit yang memenuhi kriteria inklusi yaitu berasal dari mencit betina *Mus musculus* galur Swiss diperoleh dari pusat Veterinaria Farma Surabaya. Dalam penelitian ini diperoleh mencit betina umur 3 bulan, sehat, dengan berat badan 20-25 gram. Penelitian hewan coba ini berdasarkan pertimbangan bahwa mencit *Mus musculus* paling sering dipakai dalam penelitian biomedik, karena secara genetik mempunyai kemiripan dengan manusia serta mempunyai kemampuan beradaptasi hidup dalam lingkungan laboratorium.

Pengambilan sampel preparat dilakukan pada arteri coroner organ jantung mencit yang sebelumnya telah dibedah dan dilakukan blok parafin kemudian diberikan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Teknik atau cara pengambilan sampel adalah dengan membuntingkan 3 kelompok mencit, dari ketiga kelompok mencit bunting tersebut, kelompok pertama tanpa diberi perlakuan lagi, kelompok kedua mendapat perlakuan lagi menjadi mencit model preeklampsia, kelompok ketiga mendapat perlakuan menjadi model preeklampsia dan mendapat L-arginine. Pada hari ke-16 masa bunting mencit, dari ketiga kelompok dilakukan pembedahan dan diambil sampel jantung. Alasan pengambilan pada hari ke-16 adalah diasumsikan seperti kehamilan trimester kedua pada kehamilan manusia, dimana pada trimester kedua manifestasi preeklampsia muncul pada manusia.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *L-arginine*. Variabel tergantung adalah kerusakan arteri koroner, berupa perubahan vascular sedangkan Variabel terkontrol adalah jenis mencit (*Mus musculus*) jenis kelamin betina, berat badan 20-25 gram, jenis makanan dan minuman, kesehatan mencit, perawatan mencit, dan sanitasi kandang, temperatur dan

kelembaban kandang, waktu pemberian makan minum dan perlakuan semuanya dikondisikan sama.

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah sediaan organ jantung dalam hal ini arteri coroner mencit yang berasal dari mencit bunting betina *Mus musculus* galur Swiss, umur 3 bulan, sehat, dengan berat badan 20-25 gram sedangkan kriteria eksklusinya yaitu sediaan jaringan jantung dalam hal ini arteri coroner yang rusak dan tidak dapat diproses lebih lanjut serta berasal dari mencit yang meninggal selama penelitian.

Tahapan Penelitian

Melakukan sinkronisasi birahi yaitu mencit betina dewasa usia 3 bulan dengan berat badan 20-25 gram disuntik 5 IU hormon *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG), 48 jam kemudian disuntik 5 IU *Human Chorionic Gonadotropin* (hCG). Mencit betina tersebut dikawinkan secara monomating, yaitu satu persatu mencit betina yang sudah disinkronisasi birahi dimasukkan ke dalam kandang yang berisi satu mencit jantan umur 7 bulan berat \pm 60 gram. Diagnosis bunting didapatkan 17 jam setelah dikawinkan dan dievaluasi adanya vagina plug (sumbat yang menutupi vagina mencit dari serviks sampai vulva).

Pada hari ke-1 kehamilan, dari seluruh sampel yang ada dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu: K1 : terdiri dari mencit bunting normal (tanpa perlakuan)

K2 : terdiri dari mencit bunting model preeklampsia tanpa perlakuan

K3: terdiri dari mencit bunting model preeklampsia dengan perlakuan mendapat *L-arginine*.

Pada mencit kelompok K2 dan K3, pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-4 kehamilan diberikan perlakuan anti Qa-2 sebanyak 10 ng Intra Peritoneal (IP) agar menjadi model preeklampsia. Pada hari ke 7-15 kebuntingan mencit, pada kelompok K3 diberikan L-arginine 200 mg/ kgBB / hari per oral.

Pada hari ke-16 kehamilan mencit *Mus musculus* dimana pada manusia dianalogkan trimester dua pada kehamilan, dilakukan terminasi pada ketiga kelompok. Mencit kemudian dieutanasi menggunakan ketamin dan dilanjutkan dengan nekropsi. Setelah terbuka rongga dada, jantung diambil dan dimasukkan kedalam pot yang sudah berisi Netral Buffer Formalin 10%.

Pembuatan preparat histologi dilakukan dengan cara organ jantung difiksasi dengan menggunakan larutan Netral Buffer Formalin 10% kemudian dipotong dan dimasukkan ke dalam tempat specimen yang terbuat dari plastik. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi pada alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90% alkohol absolute I, absolute II masing-masing 2 jam. Lalu dilakukan penjernihan dengan *xylol* kemudian dicetak menggunakan paraffin sehingga sediaan tercetak di dalam blok-blok paraffin dandisimpan dalam lemari es. Blok-blok paraffin tersebut kemudian dipotong tipis setebal 5-6 μm menggunakan mikrotom. Hasil potongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Sediaan kemudian diangkat dan diletakkan dalam gelas objek untuk dilakukan pewarnaan *Hematoxylin dan Eosin* (HE). Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop cahaya *mixon eclip CY1* dengan pembesaran 400x. Parameter yang dinilai yaitu vascular remodeling (diameter) dan fibrosis (penebalan dinding) arteri coroner. Peneliti melakukan pengukuran vascular remodeling dan fibrosis arteri coroner dari setiap preparat blok paraffin. Setelah semua sampel diambil, hewan coba tersebut dimatikan dengan cara dislokasi servikalis dengan tujuan supaya mencit cepat matinya sehingga mencit tidak terlalu lama merasakan sakit.

Awal paragraf ditulis *indent*/jarak 5 mm dari tepi kiri. Naskah hasil penelitian disusun dalam 5 subjudul Pendahuluan, Metode, Hasil, Pembahasan dan Kesimpulan. Subjudul ditulis dengan huruf besar di awal kata dan diberi nomor dengan angka Arab. Ucapan Terima Kasih (apabila ada) diletakkan setelah

subjudul Kesimpulan dan sebelum Daftar Pustaka, yang ditulis dengan huruf besar di awal kata tanpa diberi nomor.

Naskah Tinjauan Pustaka disusun dalam 3 subjudul yaitu: Pendahuluan, Pembahasan dan Kesimpulan. Ucapan Terima Kasih (apabila ada) diletakkan setelah subjudul Kesimpulan dan sebelum Daftar Pustaka, yang ditulis dengan huruf besar di awal kata tanpa diberi nomor.

3. Hasil

Dari 30 *Mus musculus* betina, dibagi 3 kelompok ,mencit bunting normal (n=10), mencit model preeklampsia (n=10) dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine* (n=10).Semua kelompok *Mus musculus*betina bunting tampak sehat & beraktivitas normal sampai dilakukan pembedahan di hari ke 16 kebuntingan.

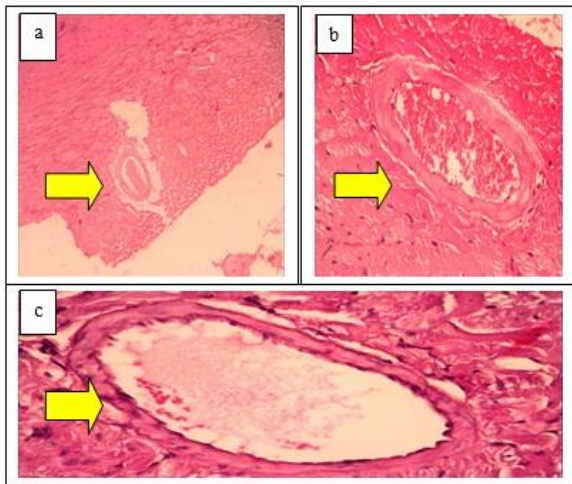
Pengambilan sampel dilakukan pada janin mencit yang diterminasi dari induk mencit dan jantung dari masing-masing mencit, dibuat preparat untuk mengamati gambaran histologi plasenta terutama diameter dan ketebalan dinding arteri coroner mencit bunting normal, mencit model preeklampsia tanpa terapi *L - Arginine*, dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L- Arginine*. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental analitik dengan sampel yang dibagi secara random. Data dianalisis dengan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan Post Hoc karena data berdistribusi normal pada ketebalan arteri coroner, sedangkan pada diameter arteri coroner dianalisis dengan uji *kruskall Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* karena data berdistribusi tidak normal.

Peneliti melakukan pengukuran diameter dan ketebalan dinding arteri coroner untuk kelompok mencit bunting normal, mencit model preeklampsia dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*

Pada tiap kelompok mencit, satu mencit melahirkan janin mencit dalam jumlah seimbang yaitu 8-10 janin mencit, namun terdapat satu mencit pada kelompok mencit

model preeklampsia yang mengalami 2 resorpsi janin, sehingga pada penelitian ini tidak ada perbedaan pada jumlah / rata-rata dari setiap kelompok penelitian. Fenotip janin mencit yang lahir dari tiap kelompok penelitian sama, dan tidak didapatkan gambaran kelainan pada janin mencit kecuali 2 janin mencit yang mengalami resorpsi, yang mungkin disebabkan karena kerusakan endotel yang berat.

Pada hasil pengamatan dibawah mikroskop terlihat bahwa di percabangan arteri coroner tampak diameter arteri coroner pada model preeklampsia lebih sempit dibandingkan dengan diameter arteri coroner pada mencit bunting normal dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*. Pada pengamatan ketebalan dinding arteri coroner tampak bahwa pada mencit model preeklampsia terlihat lebih tebal dibandingkan dengan pada mencit model preeklampsia terlihat lebih tebal dibandingkan dengan ketebalan arteri coroner pada mencit bunting normal dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*.



Gambar 2. Arteri coroner pada jantung mencit dengan pewarnaan HE, pembesaran 400x.

Pada gambar a) dari hasil pengamatan dibawah mikroskop terlihat bahwa di percabangan arteri coroner pada mencit bunting normal tampak gambaran arteri coroner dengan diameter yang luas dan dinding yang tipis.

Pada gambar b) dari hasil pengamatan dibawah mikroskop terlihat bahwa di percabangan arteri coroner pada mencit model preeklampsia tampak gambaran arteri coroner dengan diameter yang sempit dan dinding yang tebal dibandingkan dengan diameter dan ketebalan dinding arteri coroner pada mencit bunting normal.

Pada gambar c) dari hasil pengamatan dibawah mikroskop terlihat bahwa di percabangan arteri coroner pada mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine* tampak gambaran arteri coroner dengan diameter yang luas dan dinding yang tipis dibandingkan dengan diameter dan ketebalan dinding arteri coroner pada mencit model preeklampsia.

Penelitian ini mulai dilaksanakan di laboratorium in vitro dan patologi anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hewan coba didapat dari Pusat Veterina Surabaya, yaitu tiga puluh ekor *Mus musculus* jantan dan tiga puluh ekor *Mus musculus* betina sehat dengan karakteristik homogen dari segi usia, berat badan rata-rata dan belum pernah hamil sebelumnya, dilakukan randomisasi, labeling, sinkronisasi birahi dan perkawinan monomating (satu jantan dengan satu betina).

Dari 30 *Mus musculus* betina, dibagi 3 kelompok ,mencit bunting normal (n=10), mencit model preeklampsia (n=10) dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine* (n=10). Semua kelompok *Mus musculus* betina bunting tampak sehat & beraktivitas normal sampai dilakukan pembedahan di hari ke 16 kebuntingan.

Pengambilan sampel dilakukan pada janin mencit yang diterminasi dari induk mencit dan jantung dari masing-masing mencit, dibuat preparat untuk mengamati gambaran histologi plasenta terutama diameter dan ketebalan dinding arteri coroner mencit bunting normal, mencit model preeklampsia tanpa terapi *L - Arginine*, dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental analitik dengan sampel yang dibagi secara

random. Data dianalisis dengan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan Post Hoc karena data berdistribusi normal pada ketebalan arteri coroner, sedangkan pada diameter arteri coroner dianalisis dengan uji kruskall Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney karena data berdistribusi tidak normal.

Peneliti melakukan pengukuran diameter dan ketebalan dinding arteri coroner untuk kelompok mencit bunting normal, mencit model preeklampsia dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*

Pada tiap kelompok mencit, satu mencit melahirkan janin mencit dalam jumlah seimbang yaitu 8-10 janin mencit, namun terdapat satu mencit pada kelompok mencit model preeklampsia yang mengalami 2 resorpsi janin, sehingga pada penelitian ini tidak ada perbedaan pada jumlah / rata-rata dari setiap kelompok penelitian. Fenotip janin mencit yang lahir dari tiap kelompok penelitian sama, dan tidak didapatkan gambaran kelainan pada janin mencit kecuali 2 janin mencit yang mengalami resorpsi, yang mungkin disebabkan karena kerusakan endotel yang berat.

Pada hasil pengamatan dibawah mikroskop terlihat bahwa di percabangan arteri coroner tampak diameter arteri coroner pada model preeklampsia lebih sempit dibandingkan dengan diameter arteri coroner pada mencit bunting normal dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*. Pada pengamatan ketebalan dinding arteri coroner tampak bahwa pada mencit model preeklampsia terlihat lebih tebal dibandingkan dengan ketebalan arteri coroner pada mencit bunting normal dan mencit model preeklampsia dengan pemberian *L - Arginine*.

4. Pembahasan

Pada penelitian ini untuk mendapatkan sampel homogen dilakukan pemilihan *Mus musculus* secara random seragam, baik usia maupun berat badan kemudian dilakukan labeling, sinkronisasi birahi dan perkawinan monomating. Untuk mendiagnosis kebuntingan dilihat dihari pertama kebuntingan saat ditemukan copulary plug pada vagina *Mus musculus* betina yang dikawinkan.

Sebanyak 30 ekor *Mus musculus* bunting diikutsertakan pada penelitian ini. Segera setelah pembedahan diambil sampel janin mencit dari induk mencit begitu pula jantung mencit dibuat blok parafin dan dicari arteri coroner untuk diukur diameter dan ketebalan dindingnya.

Patogenesis peningkatan risiko penyakit kardiovaskular jauh setelah preeklampsia belum dipahami dengan baik. Faktor risiko penyakit kardiovaskular yang telah diketahui termasuk hipertensi, obesitas, dan diabetes mellitus juga berhubungan dengan peningkatan risiko preeklampsia selama kehamilan. Sebagai akibat dari beberapa faktor risiko ini, diduga bahwa terjadinya preeklampsia mengungkap kondisi dasar yang mungkin dapat berakibat pada penyakit kardiovaskular di waktu yang akan datang. Meski demikian kemungkinan lain adalah bahwa kerusakan vaskuler yang terjadi akibat preeklampsia berkontribusi langsung pada terjadinya penyakit kardiovaskular maternal di kemudian hari. Wanita dengan preeklampsia menunjukkan peningkatan respon tekanan darah terhadap angiotensin II yang menetap setelah persalinan mendukung adanya disfungsi vaskuler subklinis yang dapat menetap setelah preeklampsia. Peningkatan risiko penyakit kardiovaskular pada wanita dengan preeklampsia rekuren dan penurunan insidensi hipertensi pada saudara dari wanita dengan preeklampsia yang diperkirakan memiliki risiko penyakit kardiovaskular yang serupa dengan saudara mereka yang menderita

preeklampsia juga mendukung hipotesis ini^{7,14}.

Penyakit dan disfungsi vaskuler terjadi sebagai respons terhadap kerusakan endotel vaskuler yang mungkin diawali oleh paparan faktor risiko seperti hipertensi dan diabetes mellitus, kerusakan mekanis langsung selama prosedur vaskuler, dan penyebab lainnya. Endotel yang rusak menyebabkan thrombosis dan inflamasi vaskuler dan juga bekerja secara parakrin pada sel otot polos (Smooth Muscle Cells) untuk mengaktifasi proliferasi dan migrasi SMC yang berperan melawan remodeling vaskuler. Remodeling vaskuler merupakan proses dimana terjadi hiperplasia dan fibrosis vaskuler yang mengganggu fungsi pembuluh darah dengan cara menurunkan COMPLIANS dan menghambat aliran darah normal. Remodeling vaskuler yang berlebihan merupakan kejadian penting pada atherosclerosis dan juga berperan pada kondisi kegagalan terapi penyakit kardiovaskular. Peningkatan autoantibodi dalam sirkulasi terhadap reseptor angiotensin yang terjadi pada preeklampsia dapat berkontribusi terhadap risiko kardiovaskuler jangka panjang. Kemungkinan lain meliputi perubahan epigenetik pada vaskulatur yang terjadi akibat jejas vaskuler yang dapat berakibat pada kardiovaskular jangka panjang. Hasil ini mendukung pentingnya penelitian dasar di masa depan mengenai mekanisme yang mendasari kerusakan kardiovaskuler yang diinduksi preeklampsia⁷.

Bukti tidak langsung telah dikaitkan preeklampsia dengan bentuk lain dari hipertensi pada kehamilan dan plasentasi terkait risiko untuk penyakit kardiovaskular di kemudian hari. Meskipun kebanyakan studi telah menggunakan catatan rekam medis salah satunya menindaklanjuti klinis, kita membandingkan wanita dengan angiografi ditandai lesi koroner dengan pasien yang hanya menjalani skrining klinis untuk penyakit koroner, mengevaluasi kalsifikasi koroner merupakan prediktor penyakit arteri koroner¹⁵.

Sebuah studi yang sistematis tentang hubungan antara sejarah preeklampsia, seperti

yang didefinisikan oleh kriteria klinis diterima dan arteri koroner kalsifikasi pada wanita tanpa gejala belum dilakukan. Kalsifikasi arteri koroner akan lebih tinggi pada wanita dengan riwayat preeklampsia dan risiko kardiovaskular dapat terjadi pada kelompok wanita ini. Penelitian kohort prospektif pertama yang memanfaatkan peninjauan rekam medis untuk mengkonfirmasi diagnosis preeklampsia dengan kriteria klinis menunjukkan preeklampsia dikaitkan dengan peningkatan risiko kalsifikasi arteri koroner > 3 dekade setelah kehamilan pada wanita yang tidak memiliki riwayat penyakit kardiovaskuler. Hasil kami memperpanjang temuan penelitian sebelumnya dengan memvalidasi hubungan antara riwayat preeklampsia dan kalsifikasi arteri koroner serta mengkonfirmasi diagnosis preeklampsia berdasarkan kriteria klinis diterima. Hipertensi pada kehamilan dikaitkan dengan terjadinya peningkatan yang signifikan sekitar 57% risiko kalsifikasi arteri koroner dalam penelitian secara kohort di Belanda¹⁶.

5. Kesimpulan

Pemberian *L-arginine* mengurangi ketebalan dinding arteri koroner pada jantung mencit (*Mus Musculus*) dan memperluas diameter arteri koroner pada jantung mencit (*Mus Musculus*) model preeklampsia.

6. Daftar Pustaka

1. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2010;5:173–92.
2. Valenzuela FJ, Pérez-Sepúlveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of preeclampsia: the genetic component. *J Pregnancy.* 2012;2012.
3. Staff AC, Benton SJ, von Dadelszen P, Roberts JM, Taylor RN, Powers RW, et al. Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension.* 2013;61(5):932–42.
4. Sulistyowati S. The influence of low HLA-G protein expression on HSP-70 and VCAM-1 profile in preeclampsia. *Indones J Obstet Gynecol.* 2010;
5. Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology.* 2009;24(3):147–58.
6. Iversen L, Hannaford P. Pre-eclampsia and risk of cardiovascular disease in later life. Vol. 13, *Trends in Urology, Gynaecology & Sexual Health.* Wiley Online Library; 2008. p. 6–10.
7. Pruthi D, Khankin E V, Blanton RM, Aronovitz M, Burke SD, McCurley A, et al. Exposure to experimental preeclampsia in mice enhances the vascular response to future injury. *Hypertension.* 2015;65(4):863–70.
8. Sevin G, Yasa M, Akcay DY, Kirkali G, Kerry Z. Different responses of fluvastatin to cholesterol-induced oxidative modifications in rabbits: evidence for preventive effect against DNA damage. *Cell Biochem Funct.* 2013;31(4):325–32.
9. Chen CW, Jaffe IZ, Karumanchi SA. Pre-eclampsia and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2014;101(4):579–86.
10. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation.* 2011;123(24):2856–69.
11. Dorniak-Wall T, Grivell RM, Dekker GA, Hague W, Dodd JM. The role of L-arginine in the prevention and treatment of pre-eclampsia: a systematic review of randomised trials. *J Hum Hypertens.* 2014;28(4):230–5.
12. Elsa C, Anita I. Efecto de la apocinina sobre las alteraciones renales inducidas durante la preeclampsia experimental en rata/Effect of apocynin on renal alterations induced during experimental preeclampsia in the rat. *Arch Venez Farmacol y Ter.* 2014;33(4):80.
13. JUSUP SA. Perbaikan fungsi ginjal pada preeklampsia setelah pemberian L-Arginin per oral:: Kajian tentang Proteinuria, Hiperurisemia dan Endoteliosis Glomerular pada Rattus norvegicus Strain Water. Universitas Gadjah Mada; 2006.
14. Setiadi AP, Wibowo YI, Halim S V, Brata C, Presley B, Setiawan E. Tata Laksana Terapi Pasien dengan COVID-19: Sebuah Kajian Naratif. *Indones J Clin Pharm.* 2020;9(1):70–94.
15. Valdés G, Quezada F, Marchant E, von Schultendorff A, Morán S, Padilla O, et al. Association of remote hypertension in pregnancy with coronary artery disease: a case-control study. *Hypertension.* 2009;53(4):733–8.
16. White WM, Mielke MM, Araoz PA, Lahr BD, Bailey KR, Jayachandran M, et al. A history of preeclampsia is associated with a risk for coronary artery calcification 3 decades later. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(4):519-e1.