

DISERTASI

**ANALISIS POLA PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM
GLUKOSA-6-FOSFAT DEHIDROGENASE (G6PD), KADAR eNOS, DAN
F2-ISOPROSTAN PADA PASIEN PREEKLAMPSIA DI SURABAYA**



LINA LUKITASARI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

DISERTASI

**ANALISIS POLA PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM
GLUKOSA-6-FOSFAT DEHIDROGENASE (G6PD), KADAR eNOS, DAN
F2-ISOPROSTAN PADA PASIEN PREEKLAMPSIA DI SURABAYA**

LINA LUKITASARI

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2020

ii

**ANALISIS POLA PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM
GLUKOSA-6-FOSFAT DEHIDROGENASE (G6PD), KADAR eNOS, DAN
F2-ISOPROSTAN PADA PASIEN PREEKLAMPSIA DI SURABAYA**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor
pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
dan dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Akhir Tahap 1 (Tertutup)
Pada Hari: Kamis
Tanggal: 2 Juli 2020
Pukul: 10.00-12.00 WIB**

Oleh:

**LINA LUKITASARI
NIM. 011417017332**

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

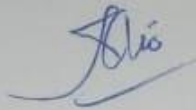
DISERTASI

ANALISIS POLA PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM
GLUKOSA-6-FOSFAT DEHIDROGENASE (G6PD), KADAR eNOS, DAN
F2-ISOPROSTAN PADA PASIEN PREEKLAMPSIA DI SURABAYA

Ujian Tertutup yang telah disetujui
pada tanggal 27 April 2020

Oleh

Promotor



Prof. Dr. Suhartati, dr., M.S.
NIP. 194701171977032001

Ko Promotor



Dr. Aditiawarman, dr., Sp. OG(K)
NIP. 195811011986101002

**Disertasi ini telah diuji dan dinilai
oleh panitia penguji Ujian Akhir Tahap 1 (Tertutup)
Pada tanggal 27 April 2020**

Panitia penguji:

- Ketua : 1. Prof. Dr. Aryati, dr., M.S., Sp.PK(K)
- Anggota : 2. Prof. Dr. Suhartati, dr., M.S.
3. Dr. Aditiawarman, dr., Sp.OG(K)
4. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
5. Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., M.S.
6. Prof. Indah S. Tantular, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.ParK
7. Dr. Seonarnatalina Melaniani, Ir., M.Kes.

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Disertasi
Nomor: 146/UN3.1.1/HK.04/2020
Tanggal 27 April 2020**

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrohmanirrohiim. Alhamdulillah Robbil “Alamin, segala puji bagi Allah SWT, atas segala rahmat, karunia dan hidayahNya sehingga disertasi ini dapat terselesaikan. Tidak lupa sholawat serta salam saya sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW.

Disertasi ini dapat selesai tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan, saran, koreksi dari Promotor, Ko Promotor dan Tim Penguji. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, saya ingin mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

Prof. Dr. Suhartati, dr., MS sebagai pembimbing akademik dan promotor saya, yang telah membimbing dengan tulus ikhlas, penuh pengertian, perhatian, dan kesabaran, memberikan semangat, motivasi, arahan dan wawasan serta berdiskusi mengenai berbagai hambatan dalam masa studi saya. Saya menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya dan mohon maaf atas kekurangan saya.

Dr. Adityawarman, dr., Sp.OG(K) sebagai Ko Promotor yang dengan penuh kesabaran dan pengertian memberikan saya bimbingan dengan tulus ikhlas, penuh pengertian, perhatian, dan kesabaran, semangat, motivasi, arahan dan wawasan serta berdiskusi mengenai berbagai hambatan dalam masa studi saya. Saya menghaturkan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya dan mohon maaf atas kekurangan saya.

Dengan selesainya disertasi ini perkenankanlah pula saya menghaturkan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

Kementrian Riset, teknologi, dan Pendidikan Tinggi, c.q. Direktorat Negeri Pendidikan Tinggi atas Beasiswa Pendidikan Pascasarjana Dalam Negeri (BPPDN) yang diberikan kepada saya untuk menuntut ilmu sampai jenjang Doktoral ini, juga Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) yang menyediakan dana hibah Penelitian Disertasi Doktor (PDD) di tahun 2019 yang sangat membantu penelitian saya.

Prof. Dr. M. Nasih, SE, MT, Ak., selaku Rektor Universitas Airlangga dan Prof. Dr. H Fasichul Lisan, Apt., selaku mantan Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang telah diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Soetojo, dr., SpU(K), selaku Dekan dan Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., SpPD, KEMD, FINASIM, selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, atas kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada Program Studi Ilmu Kedokteran jenjang doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Prof. Dr. H. Joewono Soeroso, dr., MSc., SpPD-KR, selaku Koordinator Program Studi (KPS) periode 2015-sekarang dan Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., SpA(K) selaku KPS periode 2011-2015., SpJP., FIHA, selaku mantan Koordinator Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas dan dukungan kepada saya selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada

Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Tim Penguji Materi Prakualifikasi, Kualifikasi, proposal dan kelayakan Prof. Dr. Suhartati, dr., MS, Dr. Adityawarman, dr., SpOG(K), Prof. Dr. Ery Gumilar, dr., SpOG (K), Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., Msi., Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K), Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr, M.S., Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES., Prof. Indah S. Tantular, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.ParK., Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes, Dr. Seonarnatalina Melaniani, Ir., M.Kes.

Dr. Gwenny Ichsan Prabowo, dr., M.Kes selaku Ketua Departemen Biokimia periode 2018-sekarang, Sekretaris Departemen, Dr. Ema Qurnianingsih, dr. M.Si periode 2018-sekarang, Sudarno, dr., M.Kes, selaku Ketua Departemen Biokimia periode 2014-2018, Edhi Rianto, dr., MS (alm) selaku Ketua Departemen Biokimia periode 2010-2014 serta seluruh staf dan jajarannya yang telah memfasilitasi dan memberi dukungan kepada saya selama menjalani dan menyelesaikan pendidikan Doktor pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Para dosen MKPD Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang sangat saya hormati Prof. Dr. Aryati, dr., MS., Sp.PK(K), Prof. Indah S. Tantular, dr., M.Kes., Ph.D., Sp.ParK., Prof. Dr. Budi Pikir, dr., SpJP(K), yang telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penelitian saya.

Para dosen Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang sangat saya hormati: Prof. Dr. Harjanto J M, dr., AIF (alm), Prof. Dr. Suhartono Taat Putra, dr., MS, Prof. Retno Handajani, dr., MS., PhD, Prof. Soetjipto, dr., MS., PhD, Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS, Prof. Dr. Indri Safitri Mukono, dr., MS, Prof. Dr. Suhartati, dr., MS, Prof. Purnomo Suryohudoyo, dr., SpBK, Prof. Dr. I Ketut Sudiana, Drs., MSi, Prof. Dr. Aryati, dr., MS., SpPK(K), Prof. Dr. M Zainuddin, Apt, Widodo JP, dr., MS., MPH., DrPH, Dr. Florentina Sustini, dr., MS, Dr Soenaryo, dr., MS., M.Sc, Dr Hj. Susilowati Andajani, dr., MS, Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes, Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes, Dr. Ali Rohman., MSi, Prof. Dr. Ni Nyoman Tripuspaningsih, Dra., MSi, Prof. Dr. Afaf Baktir., MS, Siti Pariani, dr., MS, M.Sc., PhD, Toetik Koesbardiati, Dra, PhD, Dr. Gondo Mastutik, drh., M.Kes, yang telah memberikan pengetahuan yang sangat bermanfaat bagi penelitian saya.

Seluruh staf dan karyawan pada Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga atas segala kerjasama dan bantuan yang telah diberikan kepada saya selama menempuh pendidikan.

Saya juga ingin mengucapkan terimakasih kepada senior serta rekan-rekan Biokimia FK Unair.

Ucapan terima kasih yang tulus juga saya sampaikan kepada Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD M. Soewandhi Surabaya atas masukan dan saran yang diberikan untuk pelaksanaan penelitian di SMF Ilmu Obstetri dan Ginekologi RSUD. M. Soewandhi Surabaya, Poli Kesehatan Ibu dan Anak Puskesmas Jagir Surabaya.

Ucapan terima kasih yang tulus juga saya sampaikan kepada semua responden penelitian saya dan keluarganya atas kerelaan dan kesediaannya untuk berpartisipasi dalam penelitian ini.

Saya juga ingin mengucapkan terimakasih kepada seluruh teman seperjuangan peserta Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga angkatan 2014/2015 atas segala keakraban, kerja sama, kekompakan dan saling memotivasi, memberi semangat serta saling memberi masukan dalam menempuh pendidikan S3. Khususnya Dr. St. Khaerunnisa, M.Si dan Dr. Tri Hartini Yuliawati, dr., M.Ked sebagai sahabat dalam memberi dukungan moril dan spiritual.

Rasa terimakasih dan hormat juga saya tujukan untuk kedua orangtua saya, Bapak H. Rahardjo dan Ibu Hj. Nafsiyah yan telah dengan sabar dan mendoakan sehingga mampu mencapai tahap ini.

Rasa terimakasih dan penghargaan juga saya sampaikan kepada suami saya tercinta, H. Shobri M. Syafiie, Lc, yang telah yang telah memberi izin kepada saya untuk mengikuti pendidikan doktor, memberi semangat, dukungan, dan doa dalam menyelesaikan disertasi ini. Salam sayang untuk anakku Faiz Ahmad Shobrina dan Faizah Elzahra Shobrina yang memberi kebahagiaan, izin kepada ibu untuk mengikuti pendidikan doktor, dukungan dan doanya.

Ucapan terima kasih dan rasa hormat yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada ayah mertua saya, Bapak H. M. Syafiie dan Ibu Hj. Khadijah yang telah memberikan dukungan moril dan spriritual selama saya menempuh pendidikan ini.

Ucapan terima kasih dan rasa hormat yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada kakak saya, Dr. Lilik Herawati, dr., M.Kes, dan adik saya, Lila Tri Harjana, dr., Sp.An, beserta kakak ipar, Dr. Wahyu Wibowo, S.Si., M.Si, dan adik ipar, Palupi Susetyorini, dr., M.Si, yang telah memberikan dukungan, doa dan kasih sayang serta kekompakan selama ini. Serta keponakan saya, Fatih Ahmad Mujaab Wibowo (alm.), Niswatin Fahma Wibowo, Fachri Ahmad Mujaab Wibowo, Rahmaniya Ardhiyati Harjana, Rahmandiyo Adli Harjana, terima kasih atas kekompakaannya dan kerukunannya. Kepada kakakku Dr. Lilik Herawati, dr., M.Kes, terimakasih telah menjadi kakak yang membantu saya dalam menyelesaikan disertasi ini. Salam hormat untuk keluarga besar Syafiie di Bekasi.

Kepada semua pihak yang belum dapat disebutkan satu persatu, saya mohon maaf yang sebesar-besarnya. Untuk itu saya mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan semoga Tuhan senantiasa melimpahkan berkat pada semua pihak yang telah ikut terlibat memberikan dorongan, semangat, dan doa restu selama saya menempuh pendidikan dari awal sampai selesainya disertasi ini.

Akhirnya, semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat dalam pengembangan Ilmu pengetahuan dan semoga Tuhan melimpahkan berkat dan karuniaNya kepada kita semua.

Aamiin,

Penulis

RINGKASAN

**ANALISIS POLA PERUBAHAN AKTIVITAS ENZIM
GLUKOSA-6-FOSFAT DEHIDROGENASE (G6PD), KADAR eNOS, DAN
F2-ISOPROSTAN PADA PASIEN PREEKLAMPSIA DI SURABAYA****Lina Lukitasari, Suhartati, Aditiawarman**

Sel menghasilkan oksidan sebagai konsekuensi dari produksi adenosin trifosfat (ATP) oleh mitokondria yang berpotensi merusak protein, lipid atau DNA. Akibatnya, di dalam tubuh kita selalu berada di bawah kondisi oksidatif oleh *reactive oxygen species* (ROS). Namun, kondisi ini diseimbangkan oleh antioksidan. Stres oksidatif (SO), ketidakseimbangan redoks pada kondisi tertentu, misalnya pada komplikasi kehamilan preeklampsia dapat terjadi.

Enzim glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD) adalah enzim yang berperan dalam meredam stres oksidatif sebagai bentuk proteksi sel melalui produksi NADPH (nikotinamid adenine difosfat tereduksi) intraselular dalam jalur pentosa fosfat, sumber utama pereduksi dalam lipid dan kofaktor penting untuk produksi NO dalam sel endotel. Peran NADPH adalah mereduksi glutathione teroksidasi (GSSG) ke glutathione tereduksi (GSH) yang akan mencegah terjadinya oksidasi oleh hidrogen peroksida (H_2O_2) dan anion superoksida ($\cdot O_2^-$) terhadap lipid dan kofaktor BH_4 untuk produksi NO dengan enzim eNOS sebagai katalisatornya. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pola perubahan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS dan F2-isoprostan pada PE.

Jenis penelitian ini adalah observasi analitik dengan desain penelitian *case control* dengan pendekatan secara *cross sectional study*, yaitu 70 pasien PE dan 70 non-PE. Kriteria inklusi adalah pasien hamil dengan usia kehamilan ≥ 20 minggu, tekanan darah tinggi dan proteinuria untuk kelompok PE dan usia kehamilan ≥ 20 minggu, tekanan darah normal tanpa proteinuria untuk kelompok non-PE. *Informed consent* dilakukan di setiap pengambilan data. Pengambilan data dengan wawancara dan rekam medis untuk usia partisipan, usia kehamilan, jumlah pernikahan, jumlah kehamilan, suku, kadar Hb dan proteinuria. Pemeriksaan fisik untuk data IMT dan tekanan darah dilakukan dengan metode standar. Pengukuran aktivitas G6PD dengan metode spektrofotometri, kadar eNOS dan F2-isoprostan dengan metode ELISA. Uji normalitas data dianalisis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*, uji beda dianalisis dengan uji t 2 sampel bebas untuk data terdistribusi normal atau *Mann Whitney* untuk data tidak terdistribusi normal. Selain itu dilakukan regresi linier untuk melihat pemodelan pola perubahan pada enzim G6PD, eNOS, dan F2-isoprostan pada PE. Semua data dianalisis dengan *software SPSS*.

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ($p \geq 0,05$) pada usia partisipan, jumlah pernikahan, jumlah kehamilan, dan kadar Hb antara kelompok PE dan non-PE. Karakteristik lain yaitu suku, usia kehamilan, IMT, tekanan darah, dan proteinuria ada perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p < 0,05$). Pola perubahan aktivitas enzim G6PD dan kadar eNOS lebih meningkat bermakna ($p < 0,05$) pada PE. Sedangkan pola perubahan kadar F2-isoprostan menunjukkan penurunan kadar yang tidak bermakna pada PE ($p \geq 0,05$).

Berdasarkan aktivitas enzim G6PD, didapatkan pola perubahan kadar eNOS yang tidak bermakna ($p \geq 0,05$), tetapi rerata kadar eNOS cenderung meningkat. Sedangkan aktivitas enzim G6PD terhadap kadar F2-isoprostan terdapat pola penurunan kadar F2-isoprostan yang bermakna ($p < 0,05$).

Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat pola peningkatan aktivitas enzim G6PD, peningkatan kadar eNOS pada PE. Berdasarkan aktivitas G6PD, didapatkan pola kadar F2-isoprostan yang menurun dan kadar eNOS tetap namun cenderung meningkat. Pola perubahan tersebut dapat merupakan mekanisme kompensasi untuk proteksi ROS pada saat periode kehamilan. Namun, diperlukan penelitian lanjutan untuk lebih memperjelas mekanisme yang terlibat dengan memeriksa variabel yang lain.

SUMMARY**ANALYSIS OF ALTERATION PATTERN OF
GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD)
ENZYME ACTIVITY, eNOS, AND F2-ISOPROSTANE LEVELS
IN PREECLAMPSIA PATIENTS IN SURABAYA****Lina Lukitasari, Suhartati, Aditiawarman**

Cells produce oxidants as an outcome of the production of adenosine triphosphate (ATP) by mitochondria which has the potential to damage proteins, lipids or DNA. As a result, our bodies are always under oxidative conditions by reactive oxygen species (ROS). However, this condition is balanced by antioxidants. Oxidative stress (SO), redox imbalance in certain conditions, for example in pregnancy complications preeclampsia develop.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) is an enzyme that have a role in reducing oxidative stress as a form of cell protection through the production of NADPH (nicotinamide adenine diphosphate reduced) intracellular in the pentose phosphate pathway. The role of NADPH is to reduce oxidized glutathione (GSSG) to reduced glutathione (GSH) which prevent oxidation by hydrogen peroxide (H_2O_2) and superoxide anion ($.O_2^-$) against lipids and BH_4 cofactors for NO production with the enzyme eNOS as a catalyst. This study aims to analyze the pattern of alteration in G6PD enzyme activity, eNOS and F2-isoprostane levels in PE.

This study was analytic observation with a case control research design with a cross sectional study approach. The participant divided to 70 PE patients and 70 non-PE patients. Inclusion criteria were pregnant patients with gestational age ≥ 20 weeks, high blood pressure and proteinuria for the PE group and gestational age ≥ 20 weeks, normal blood pressure without proteinuria for the non-PE group. Informed consent was carried out in each data collecting. Data collection by interview and medical record for participant's age, gestational age, number of marriages, number of pregnancies, ethnicity, hemoglobin levels and proteinuria. Physical examination for BMI and blood pressure was done by standard methods. Measurement of G6PD activity, F2-isoprostane levels, and eNOS levels by ELISA method. The data normality test was analyzed by the Kolmogorov-Smirnov test, the difference test was analyzed by the t-test 2 free samples for normally distributed data or Mann Whitney for normal non-distributed data. Linear regression was performed to see the modeling of alteration patterns in G6PD enzyme, eNOS, and F2-isoprostane in PE. Meanwhile, to analyze the G6PD enzyme activity patterns to the eNOS and F2-isoprostane changes patterns, ROC was conducted to determine the cut off. All data were analyzed with SPSS software.

The results of this study showed no significant difference ($p \geq 0.05$) in participants' age, number of marriages, number of pregnancies, and hemoglobin levels between the PE and non-PE groups. Other characteristics such as ethnicity, gestational age, BMI, blood pressure, and proteinuria were significant differences between groups ($p < 0.05$). The pattern of alteration in G6PD enzyme activity and eNOS levels increased significantly ($p < 0.05$) in PE. While the pattern of alteration

in F2-isoprostane levels showed a non-significant decrease in levels of PE ($p \geq 0.05$). Based on the activity of the G6PD enzyme, a pattern of alteration in eNOS levels was not found to be significant ($p > 0.05$), but the mean levels of eNOS tended to increase. While the activity of the G6PD enzyme against F2-isoprostane levels was a significant pattern of decreasing F2-isoprostane levels ($p < 0.05$).

The conclusion of this study is there is a pattern of increased activity of the G6PD enzyme, increase levels of eNOS in PE. Based on G6PD activity, the pattern of F2-isoprostane levels decrease and eNOS levels remain but tend to increase. This pattern of change is a compensatory mechanism for ROS protection during the pregnancy period. However, further research is needed to figure out the underlying mechanism with other variables.