



SALINAN

**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
NOMOR 232/UN3.1.1/HK.04/2020**

TENTANG

**PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN
ATAS NAMA LINA LUKITASARI, dr.,M.Si**

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,

- Menimbang : a. bahwa ujian disertasi tahap I Jenjang Doktor telah dilaksanakan, selanjutnya mahasiswa yang dinyatakan lulus dari ujian tahap I tersebut berhak mengikuti ujian tahap II yang disebut Ujian Doktor Terbuka;
- b. bahwa nama-nama Penyanggah Ujian Doktor Terbuka yang tercantum dalam lampiran Keputusan ini dinyatakan memenuhi syarat dan bersedia untuk ditetapkan sebagai penyanggah Ujian Doktor Terbuka;
- c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tentang Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran.
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4586);
3. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
4. Undang-Undang Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 06, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5494);

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

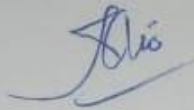
DISERTASI

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.

ABSTRAK

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

Lina Lukitasari, Suhartati, Aditiawarman

Latar Belakang: Preeklampsia (PE) merupakan kegagalan plasenta dalam kehamilan akibat ROS yang tinggi. Kadar ROS yang tinggi, menimbulkan stress oksidatif, menyebabkan gangguan keseimbangan redoks dalam tubuh. G6PD adalah enzim penghasil NADPH untuk meredam ROS. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pola perubahan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS dan F2-isoprostan pada pasien PE di Surabaya.

Metode: Sebanyak 140 ibu hamil dibagi menjadi kelompok PE (n=70) dan non-PE (n=70). Data usia partisipan, usia kehamilan, jumlah pernikahan, jumlah kehamilan, suku, IMT, kadar Hb, tekanan darah dan proteinuria untuk mengetahui faktor risiko. Pengukuran aktivitas G6PD dengan spektrofotometri, kadar eNOS, dan F2-isoprostan dengan ELISA.

Hasil: Tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok ($p \geq 0,05$) pada usia, jumlah pernikahan, jumlah kehamilan, dan kadar Hb. Sedangkan 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 ($p > 0,05$). 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: Terdapat pola peningkatan aktivitas enzim G6PD dan kadar eNOS pada PE. Berdasarkan aktivitas G6PD, didapatkan pola kadar F2-isoprostan menurun dan kadar eNOS tetap, namun cenderung meningkat. Pola perubahan tersebut adalah mekanisme kompensasi untuk proteksi ROS pada saat periode kehamilan. Namun, diperlukan penelitian lanjutan untuk memperjelas mekanisme dengan memeriksa variabel yang lain.

Kata kunci: Glukosa-6-fosfat dehidrogenase, preeklampsia, stres oksidatif, eNOS, F2-isoprostan.

ABSTRACT

**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

Background: The study aims to analyze the pattern of alteration in G6PD enzyme activity, eNOS, and F2-isoprostane levels in preeclampsia (PE).

Methods: There was 140 pregnant women were divided into PE groups (n=70) and non-PE (n=70). Participants' age, gestational age, number of marriages, number of pregnancies, ethnicity, BMI, hemoglobin levels, blood pressure, and proteinuria was collected to determine risk factors for pregnant women. Measurement of G6PD activity, F2-isoprostane and eNOS levels with ELISA.

Results: The study showed no significant difference ($p \geq 0.05$) in participants' age, number of marriages, number of pregnancies, and hemoglobin levels between groups. While ethnicity, gestational age, BMI, blood pressure, and proteinuria were significant differences between groups ($p < 0.05$). There was an increase pattern of G6PD enzyme activity and eNOS levels significantly ($p < 0.05$) in PE. However, the decrease pattern of F2-isoprostane levels was not significant ($p \geq 0.05$). Based on the activity of the G6PD enzyme, an increase pattern of eNOS levels was not 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 decreasing pattern of F2-isoprostane levels ($p < 0.05$).

Conclusion: There is an increase pattern of G6PD enzyme activity and eNOS level. Based on G6PD activity, the pattern of F2-isoprostane levels was decrease and eNOS levels was 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.

Keywords: Glucose-6-phosphate dehydrogenase, preeclampsia, oxidative stress, eNOS, F2-isoprostane

DAFTAR ISI

SAMPUL DEPAN	i
SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PRASYARATAN GELAR	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
RINGKASAN	ix
SUMMARY	xi
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR ARTI, LAMBANG, SINGKATAN, DAN ISTILAH	xx
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat teoritis	4
1.4.2 Manfaat praktis/klinis	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Preeklampsia	5
2.2 Stres Oksidatif	6
2.3 Disfungsi Endotel	8
2.4 <i>Reactive Oxygen Species</i>	9
2.5 Enzim Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase	11
2.6 Antioksidan	13
2.7 Pemeriksaan G6PD	15
2.7.1 Kualitatif dengan <i>formazan ring test</i>	15
2.7.2 Kuantitatif	15
2.8 Pemeriksaan Biomarker Disfungsi Endotel, eNOS	17
2.9 Pemeriksaan Biomarker ROS, F2-isoprostan	18
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL	21
3.1 Kerangka Konseptual	21
3.2 Hipotesis Penelitian	23
BAB 4. METODE PENELITIAN	24
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	24
4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan teknik Pengambilan Sampel	24
4.2.1 Populasi	24
4.2.2 Sampel	26
4.2.3 Besar sampel	26
4.2.4 Teknik pengambilan sampel	27

4.3 Variabel Penelitian	27
4.3.1 Variabel bebas (<i>independent</i>)	27
4.3.2 Variabel tergantung (<i>dependent</i>)	28
4.3.3 Definisi operasional variable penelitian	28
4.4 Bahan dan Alat Penelitian	29
4.4.1 Bahan penelitian	29
4.4.2 Alat penelitian	30
4.5 Pelaksanaan Penelitian	31
4.5.1 Pengambilan data klinis	31
4.5.2 Pengambilan darah	31
4.5.3 Pemisahan dan pengambilan plasma EDTA darah	31
4.5.4 Pemeriksaan aktivitas G6PD	31
4.5.5 Pemeriksaan kadar eNOS	31
4.5.6 Pemeriksaan kadar F2-isoprostan	32
4.6 Analisis Data	32
4.7 Kerangka Operasional Penelitian	33
4.8 Lokasi dan Waktu Penelitian	34
4.9 Laik Etik	34
BAB 5. HASIL PENELITIAN	35
5.1 Karakteristik Partisipan	36
5.1.1 Karakteristik umum partisipan	36
5.1.2 Karakteristik klinis partisipan	37
5.2 Analisis Data Penelitian	38
5.2.1 Pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE	38
5.2.2 Pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE	40
5.2.3 Pola perubahan kadar F2-isoprostan pada pasien PE	42
5.2.4 Pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE	43
BAB 6. PEMBAHASAN.....	45
6.1 Karakteristik Partisipan	45
6.1.1 Karakteristik umum partisipan	45
6.1.2 Karakteristik klinis partisipan	47
6.2 Pola Perubahan Aktivitas Enzim G6PD, Kadar eNOS, dan F2-isoprostan pada Pasien PE	48
6.2.1 Pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE	48
6.2.2 Pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE	49
6.2.3 Pola perubahan kadar F2-isoprostan pada pasien PE	50
6.2.4 Pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE	51
6.3 Temuan Baru	52
6.4 Keterbatasan Penelitian	52
BAB 7. PENUTUP	53
7.1 Kesimpulan	53
7.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kriteria diagnosis PE	6
Tabel 2.2	Komposisi gel formazan untuk 20 mL	15
Tabel 4.1	Definisi operasional variabel penelitian	28
Tabel 5.1	Karakteristik umum kelompok pasien PE dan non-PE	37
Tabel 5.2	Karakteristik klinik kelompok pasien PE dan non-PE ...	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Plasentasi normal dan plasentasi abnormal	8
Gambar 2.2	NADPH diproduksi oleh jalur pentosa fosfat dengan G6PD sebagai katalisator	13
Gambar 2.3	Alur pembentukan isoprostan (IsoP) melalui oksidasi asam arakidonat (AAO) yang diinduksi oleh radikal bebas	20
Gambar 3.1	Kerangka konseptual penelitian	21
Gambar 4.1	Bagan rancangan penelitian	24
Gambar 4.2	Kerangka operasional penelitian	33
Gambar 5.1	Rerata aktivitas enzim G6PD pada kelompok PE dan non-PE	39
Gambar 5.2	Pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada kelompok PE dan non-PE	40
Gambar 5.3	Rerata kadar eNOS pada kelompok PE dan non-PE ..	41
Gambar 5.4	Pola perubahan kadar eNOS pada kelompok PE dan non-PE	41
Gambar 5.5	Rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok PE dan non-PE	42
Gambar 5.6	Pola peningkatan kadar eNOS berdasarkan aktivitas enzim G6PD	43
Gambar 5.7	Pola penurunan kadar F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	1.	Laik Etik	59
Lampiran	2.	Lembar informasi untuk subjek penelitian	60
Lampiran	3.	Pemeriksaan Aktivitas Enzim G6PD	69
Lampiran	4.	Pemeriksaan Kadar eNOS	73
Lampiran	5.	Pemeriksaan Kadar F2-isoprostan	80
Lampiran	6.	Alat <i>microplate reader</i> atau <i>ELISA reader</i>	86
Lampiran	7.	Publikasi	87
Lampiran	8.	Statistik	88

DAFTAR ARTI, LAMBANG, SINGKATAN, DAN ISTILAH

A	: Adenin
ATP	: Adenin Tri <i>Phosphate</i>
BH ₂	: Dihidrobiopetrin
BH ₄	: Tetrahidrobiopetrin
C	: Sistein
CAT	: Katalase
CIO ⁻	: Anion hipoklorit
CNSHA	: <i>Chronic Non-Spherocytic Haemolytic Anemia</i>
CI	: <i>Confident interval</i>
CTB	: <i>Cynciothrophoblast</i>
EDRF	: <i>Endhotelial-Derivied Relaxing Factor</i>
EDTA	: <i>Etylene diamine tetracetic acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
eNOS	: <i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
G	: Guanin
GR	: <i>Glutathione Reductase</i>
G6P	: <i>Glucose-6-Phosphate</i>
G6PD	: <i>Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase</i>
GSH	: Glutation tereduksi
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
GSSG	: Glutation teroksidasi
HELLP	: <i>Haemolysisi, elevated liver enzyme, lowered platellet syndrome</i>
HIF-1	: <i>Hipoksia Induced Factor-1</i>
HT	: Hipertensi
H ₂ O ₂	: Hidrogen peroksida
H ₂ O	: Air
IMT	: Indeks Massa Tubuh
IUGR	: <i>Intra Uterine Growth Ristriction</i>
Kb	: Kilo base pair
kDa	: Kilo Dalton
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>

mRNA	: RNA <i>massanger</i>
NAD ⁺	: Nikotinamid adenin dinukleotida teroksidasi
NADH	: Nikotinamid adenin dinukleotida tereduksi
NADP ⁺	: Nikotinamid adenin dinukleotida fosfat teroksidasi
NADPH	: Nikotinamid adenin dinukleotida fosfat tereduksi
NO	: <i>Nitric oxyde</i>
Nt atau nt	: Nukleotida
NTT	: Nusa Tenggara Timur
•O ₂ ⁻	: Anion superoksida
•OOH	: Radikal peroksil
•OH	: Radikal hidroksil
¹ O ₂	: Oksigen singlet
ONOO ⁻	: <i>Peroxynitrite</i>
Pb	: Pasangan bassa
PCR	: <i>Polimerase Chain Reaction</i>
PE	: Preeklampsia
PEB	: Preeklampsia klinis Berat
PG	: Prostaglandin
6PGA	: <i>6-Phospho Glukonate</i>
PIGF	: <i>Placenta Growth Factor</i>
PI3K	: <i>P13 Kinase</i>
Pp	: Proporsi prevalensi
RSUP	: Rumah Sakit Umum Propinsi
RSUD	: Rumah Sakit Umum Daerah
RNS	: <i>Reactive nitrogen species</i>
ROS	: <i>Reactive oxygen species</i>
sFlt-1	: Reseptor <i>soluble portion of The frm-like tyrosine kinase</i>
SO	: Stres Oksidatif
SOD	: Superoksida Dismutase
STB	: <i>Syncyptrophoblast</i>
T	: Timin
TBA	: <i>Thiobarbituric acid</i>
TGF-β1	: <i>Transforming growth factor/ tumor growth factor- β1</i>
UK	: Usia kehamilan
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tubuh kita memerlukan oksigen untuk metabolisme. Ketika sel menggunakan oksigen untuk menghasilkan energi, oksidan dihasilkan sebagai konsekuensi dari produksi adenosin trifosfat (ATP) oleh mitokondria melalui proses fosforilasi oksidatif dan berpotensi merusak molekul biologis, baik itu protein, lipid atau DNA. Akibatnya, di dalam tubuh kita selalu berada di bawah kondisi oksidatif oleh *reactive oxygen species* (ROS) (Birben *et al.* 2012). Oleh karena itu, sistem pertahanan antioksidan diperlukan untuk menjaga keseimbangan redoks tubuh. Namun, keseimbangan ini dapat terganggu, mengarah ke stres oksidatif (SO) pada kondisi tertentu, misalnya pada komplikasi kehamilan preeklampsia (Al-gubory, Fowler, dan Garrel, 2010; Matsubara *et al.*, 2015). Hal ini dikuatkan oleh Leopold *et al.* (2003) yang menyatakan enzim Glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD) sebagai sumber utama NADPH, berperan sebagai enzim antioksidan, dimana ekspresi lebih enzim G6PD di sel endotel vaskuler dapat menurunkan akumulasi ROS dan meningkatkan kadar nitrit oksida (NO) pada *bovine aortic endothelial cell* yang diberi gen G6PD *adenoviral-mediated*.

Kehamilan normal adalah serangkaian peristiwa kompleks di plasenta dan membutuhkan regulasi dalam invasi, *differentiation*, dan proliferasi sel trofoblas. Kondisi ini sangat penting karena setiap perubahan memiliki konsekuensi kesehatan ibu dan janin. Awal kehamilan, secara fisiologis, sel trofoblas terpapar

dengan kondisi kadar O_2 rendah sehingga berfungsinya plasenta untuk memenuhi kebutuhan hasil konseptus (Semenza 2011). Selanjutnya, peningkatan laju metabolisme diperlukan untuk memastikan pertumbuhan dan perkembangan janin yang memadai disertai dengan peningkatan SO di jaringan plasenta, tetapi juga dengan peningkatan kadar enzim antioksidan untuk menjaga keseimbangan oksidatif (Marseglia *et al.*, 2014).

Peningkatan oksidan dan radikal bebas, seperti ROS dan H_2O_2 secara sistemik, dapat mengganggu kehamilan dan merusak lipid yang akan menghasilkan senyawa F2-isoprostan akibat peroksidasi lipid, penanda terjadinya SO (Staff, Halvorsen, and Ranheim, 1999). Selain itu, ROS dalam *cytotrophoblast* mengaktifkan sinyal molekul P13K (P13-Kinase)/ras/Akt/MAPK, yang berperan dalam ketahanan, pertumbuhan, proliferasi dan motilitas sel. Kondisi ini berhubungan dengan faktor *redox transcriptional*, mengganggu ekspresi *redox gene*, sehingga terjadi hambatan ekspresi *massanger ribo nucleic acid endothelial cell nitric oxyde syntase* (mRNA eNOS) dan aktivitas eNOS (Cai & Harrison, 2000; Münzel, Gori, Bruno, dan Taddei, 2010). Penurunan aktivitas eNOS mengakibatkan penurunan bioavailabilitas NO (Harrison, 1997). Stres oksidatif yang berat mengakibatkan CTB gagal melakukan *remodeling* (Staff, Halvorsen, and Ranheim, 1999; Cai dan Harrison, 2000; Münzel, Gori, Bruno, dan Taddei, 2010) sehingga dapat menimbulkan komplikasi kehamilan seperti preeklampsia (PE), *Intrauterine Fetal Death*, dan *Intrauterine Growth Restriction*.

Glukose-6-Fosfat Dehidrogenase adalah enzim yang berperan dalam meredam ROS, penyebab SO, sebagai bentuk proteksi sel. Glukose-6-Fosfat

Dehidrogenase adalah enzim untuk penyedia koenzim nikotinamid adenine difosfat tereduksi (NADPH) intraselular melalui jalur pentosa fosfat. Dalam sistem proteksi sel, NADPH akan memberikan elektronnya untuk mereduksi *glutathione* teroksidasi (GSSG) menjadi *glutathione* tereduksi (GSH) yang dikatalisis oleh enzim *glutathione reductase* (GR). Selanjutnya GSH akan mereduksi H_2O_2 menjadi H_2O yang dikatalisis oleh enzim *glutathione peroxydase* (GPx). Selain itu, produksi NADPH oleh aktivitas enzim G6PD pada sel endotel vaskuler meningkatkan aktivitas eNOS dengan menurunkan akumulasi ROS sehingga meningkatkan bioavailabilitas NO dengan enzim eNOS sebagai katalisatornya (Berg, Tymoczko dan Stryer, 2008; Cox dan Nelson, 2008; Murray, *et al.*, 2015).

Oleh karena itu, berdasarkan uraian di atas, dilakukan penelitian untuk menganalisis pola perubahan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS, dan kadar F2-isoprostan pada kehamilan dengan preeklampsia (PE).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini berdasarkan hal tersebut di atas antara lain:

1. Apakah terdapat pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE?
2. Apakah terdapat pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE?
3. Apakah terdapat pola perubahan kadar F-2 isoprostan pada pasien PE?
4. Apakah terdapat pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis pola perubahan aktivitas enzim G6PD, disfungsi endotel, dan stres oksidatif pada pasien PE.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE.
2. Membuktikan pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE.
3. Membuktikan pola perubahan kadar F-2 isoprostan pada pasien PE.
4. Membuktikan terdapat pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang perubahan pola perubahan aktivitas G6PD (antioksidan endogen), eNOS (fungsi endotel) dan F2-isoprosotan (stress oksidatif) pada pasien PE.

1.4.2 Manfaat praktis/klinis

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan bagi klinisi dalam menjaga keseimbangan redoks dengan peningkatan aktivitas enzim G6PD melalui kecukupan asupan glukosa.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan bagi masyarakat tentang peran penting G6PD pada kehamilan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Preeklampsia

Preeklampsia (PE) didefinisikan kehamilan dengan hipertensi (tekanan sistolik \geq 140 mmHg, tekanan diastolik \geq 90 mmHg) yang berkembang setelah usia kehamilan 20 minggu disertai dengan salah satu atau lebih dari *new onset* proteinuri, disfungsi organ maternal dan disfungsi uteroplasental (*International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*, 2014).

Hipertensi pada kehamilan merupakan sistem risiko penyebab kematian maternal di dunia, sekitar 10% ibu hamil menderita hipertensi, dan didapatkan komplikasi PE sekitar 2-8% kehamilan (Duley, 2009). Ibu hamil yang didiagnosis menderita hipertensi umumnya tidak menunjukkan gejala klinis karena *outcome* memberikan hasil yang sistem sama pada ibu hamil dengan tekanan darah normal. Ibu hamil dengan diagnosis PE klinis berat akan menimbulkan keluhan sakit kepala, nyeri di ulu hati, dan gangguan penglihatan. Bahaya PE lainnya adalah dapat menimbulkan komplikasi bagi ibu, seperti gejala gangguan liver, ginjal, otak, dan sistem pembekuan darah (sindrom). Selain itu, PE juga dapat menyebabkan risiko pada tumbuh kembang janin (Roberts, *et al.*, 2012). Secara keseluruhan, kematian maternal akibat PE dan eklamsi sekitar 10-15% tetapi sebagian besar disebabkan eklamsi. Kematian perinatal juga didapatkan tinggi pada PE dan eklamsi. Meskipun begitu, PE masih dapat di terapi dan sering menunjukkan kesembuhan (Duley 2009).

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis PE (*Internastional Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*, 2014).

Hipertensi yang berkembang setelah usia kehamilan 20 minggu disertai dengan salah satu atau lebih dari *new onset* kondisi di bawah ini:

1. Proteinuri	
2. Disfungsi organ maternal	<ul style="list-style-type: none"> • Insufisiensi ginjal (kreatinin $\geq 90 \mu\text{mol/L}$), • <i>Liver involvement</i> (kenaikan kadar transaminase dan/atau nyeri hebat di abdomen kuadran atas kanan atau epigastrium , • Komplikasi neurologi (seperti eklampsia, gangguan status mental, kebutaan, stroke, atau hiperrefleksia bersamaan dengan kejang klonus, sakit kepala berat disertai hiperrefleksia, <i>persistent visual scotomata</i>, • Komplikasi hematologi (trombositopeni, DIC (<i>diseminated intravascular coagulation</i>), hemolisis.
3. Disfungsi Uteroplasental	Tumbuh kembang janin terhambat

Banyak faktor maternal yang dapat mempengaruhi gangguan PE, seperti genetik, perilaku, atau lingkungan. Faktor predisposisi PE sering didapatkan pada wanita dengan riwayat HT, turunan HT atau penyakit kronis seperti penyakit gangguan *autoimmune*, gangguan ginjal, dan diabetes, peningkatan resistensi insulin, ras kulit hitam. Faktor usia juga berhubungan dengan PE, yaitu wanita yang lebih muda dari 20 tahun lebih rentan berkembang menjadi PE. Jumlah kehamilan primigravida lebih berisiko daripada multipara terkena PE, tetapi akan kebalikannya apabila wanita multipara tersebut memiliki pasangan yang berbeda. Selain itu, jumlah kehamilan, rentang kelahiran, lebih besar dari 10 tahun, berisiko menjadi PE pada wanita multipara (Jasovic-siveska dan Jasovic, 2011; Elvira *et al.*, 2015; Krishnadath *et al.*, 2016; Kumari, Dash, dan Singh, 2016).

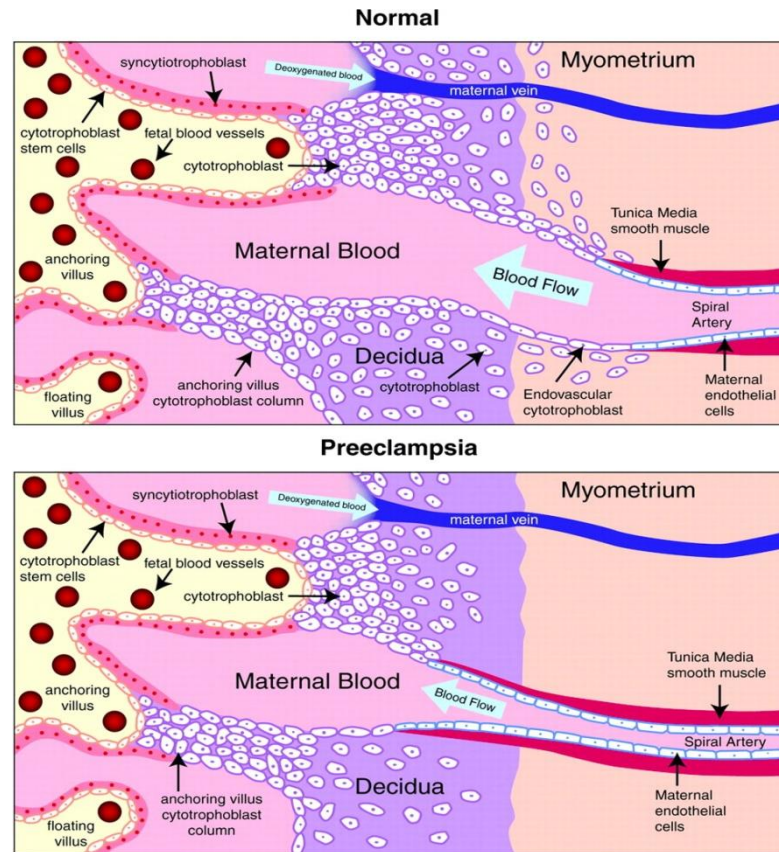
2.2 Stres Oksidatif dan Preeklampsia

Preeklampsia adalah gangguan multifaktorial pada kehamilan yang menyebabkan pentingnya penyelamatan hidup pada ibu hamil, sehingga PE sering

disebut *disease of theories* yang sampai sekarang etiopatofisiologi PE masih menjadi teka-teki.

Stres oksidatif akibat peningkatan produksi radikal bebas atau defisiensi bahan antioksidan sehingga terjadi gangguan keseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan.

Stres oksidatif pada plasenta menyebabkan perubahan arteri spiral maternal terganggu dan mempengaruhi perfusi plasenta. Pada awal kehamilan normal, arteri spiral maternal akan mengalami remodelling, sel *extravillous cytotrophoblast* akan berpenetrasi sampai ke myometrium dan membuat tonus A. spiral menjadi lentur untuk dapat menerima aliran darah yang besar dan cepat dari sirkulasi ibu. Sedangkan pada PE, hal tersebut terjadi minimal sehingga terjadi trauma iskemia-reperfusi plasenta (gambar 2.1). Trauma tersebut mengakibatkan terbentuknya radikal bebas (RB) (G J Burton *et al.*, 2009). Banyak penelitian yang terbaru menyebutkan PE disebabkan perfusi plasenta buruk akibat SO, yang kemudian dihubungkan dengan disfungsi endotel.



Gambar 2.1 Plasentasi normal dan plasentasi abnormal (Lam, Lim, dan Karumanchi, 2005).

2.3 Disfungsi Endotel

Mesoderm adalah lapisan sel tengah, antara ekoderm dan endoderm, yang tumbuh dan berdeferensiasi untuk fungsi suportif sel, seperti jaringan ikat, sel darah, pembuluh darah, otot, ginjal, dan beberapa struktur tipe sel.

Hampir seluruh jaringan memerlukan darah, dan *supply* darah tergantung sel endotel, yang melapisi permukaan dalam rongga pembuluh darah. Sel endotel mempunyai kapasitas besar dalam jumlah dan pengaturan untuk *adaptable life-support system* dengan cara migrasi sel endotel ke berbagai regio tubuh (*extending*) dan *remodelling* jaringan pembuluh darah. Sel dalam kondisi kekurangan oksigen akan meningkatkan kadar *hypoxia-inducible factor 1* (HIF-1),

yang kemudian mestimulus produksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sehingga sel endotel berproliferasi dan menginvasi daerah yang mengalami hipoksia untuk menyediakan pembuluh darah baru (Alberts, *et al.*, 2015). Akibat hipoksia, VEGF gagal melakukan vaskularisasi plasenta, yaitu gagal *remodelling: cytotrophoblast* gagal berdiferensiasi menjadi endotel dan invasi superfisial ke arteri spiralis. Vaskularisasi plasenta yang gagal menimbulkan iskemik plasenta yang akan melepaskan *soluble frms like tyrosine 1* (sFlt-1) (Maynard *et al.*, 2003). sehingga menghambat mRNA eNOS, yang bertanggung jawab pada transkripsi eNOS gagal, sehingga NO rendah. Kadar NO yang rendah inilah yang menandai terjadinya disfungsi endotel (Virdi, *et al.*, 2013).

Endotelial NOS adalah enzim NOS yang disekresikan oleh sel endotel. Aktivitas eNOS merubah L-arginin menjadi NO dengan bantuan kofaktor allosterik yaitu BH₄ apabila kadar BH₄ dalam kadar optimal. Kadar BH₄ dalam kondisi optimal maka aliran elektron mengalir dari proses oksidasi ke reduktasi, Apabila terjadi defisiensi BH₄ maka terjadi produksi ROS. Selian itu, ROS dapat mendegradasi BH₄ sehingga terjadi *downregulatin* dari eNOS (Stoes E, Kastelein J, 1997).

2.4 Reactive Superoxide Species

Oksidan adalah atom atau moleku penerima elektron. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak mempunyai pasangan elektron di orbital atom terluar sehingga radikal bebas mempunyai kecenderungan untuk mengambil elektron dari atom atau molekul lain supaya dapat membentuk elektron yang berpasangan sehingga radikal bebas atau oksidan baru terbentuk. Penumpukkan

oksidan dan radikal bebas menyebabkan ketidak seimbangan antioksidan untuk meredam (stres oksidatif) sehingga munculkan kerusakan sel (Soetjipto dan Nugroho, 2015).

Sel eukariotik menggunakan oksigen untuk memproduksi energi ATP dan . Pada metabolisme aerob, ROS dihasilkan sekitar 2-5%. ROS adalah oksidan endogen yang berasal dari oksigen. Yang termasuk dalam ROS adalah anion superoksida ($\cdot\text{O}_2^-$), radikal peroksil ($\cdot\text{OOH}$), hydrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), anion hipoklorit (ClO^-), dan oksigen singlet ($^1\text{O}_2$). *Reactive oxygen species* terbentuk pada saat oksigen mengalami reduksi membentuk H_2O , dimana reaksinya melibatkan transfer 4 (empat) elektron. Dari reaksi pembentukan ROS tersebut di atas nampak bahwa $\cdot\text{O}_2^-$ dan H_2O_2 merupakan ROS yang pertama kali dibentuk, dan dari keduanya akan dihasilkan ROS yang lain (Murray *et al.*, 2018).

Reactive Superoxide Species juga telah diketahui sebagai *second* (2^{nd}) *messenger* pada sinyal intraseluler. Peningkatan ROS akan mengaktifkan sinyal ROS, antara lain *mitogen activated protein kinase* (MAPK), PI3-kinase/AKT *pathway*, dan inflamasi-NF-KB yang memberikan mekanisme tubuh. Salah satu sinyal yaitu P13K/*pathway* AKT yang berperan penting dalam pertahanan, pertumbuhan, proliferasi, dan motilitas sel. Sinyal ini dapat diaktifkan pada kadar ROS sedang, tetapi sinyal ini akan terhambat jika ROS menetap dan mengarah ke apoptosis (Leslie 2006).

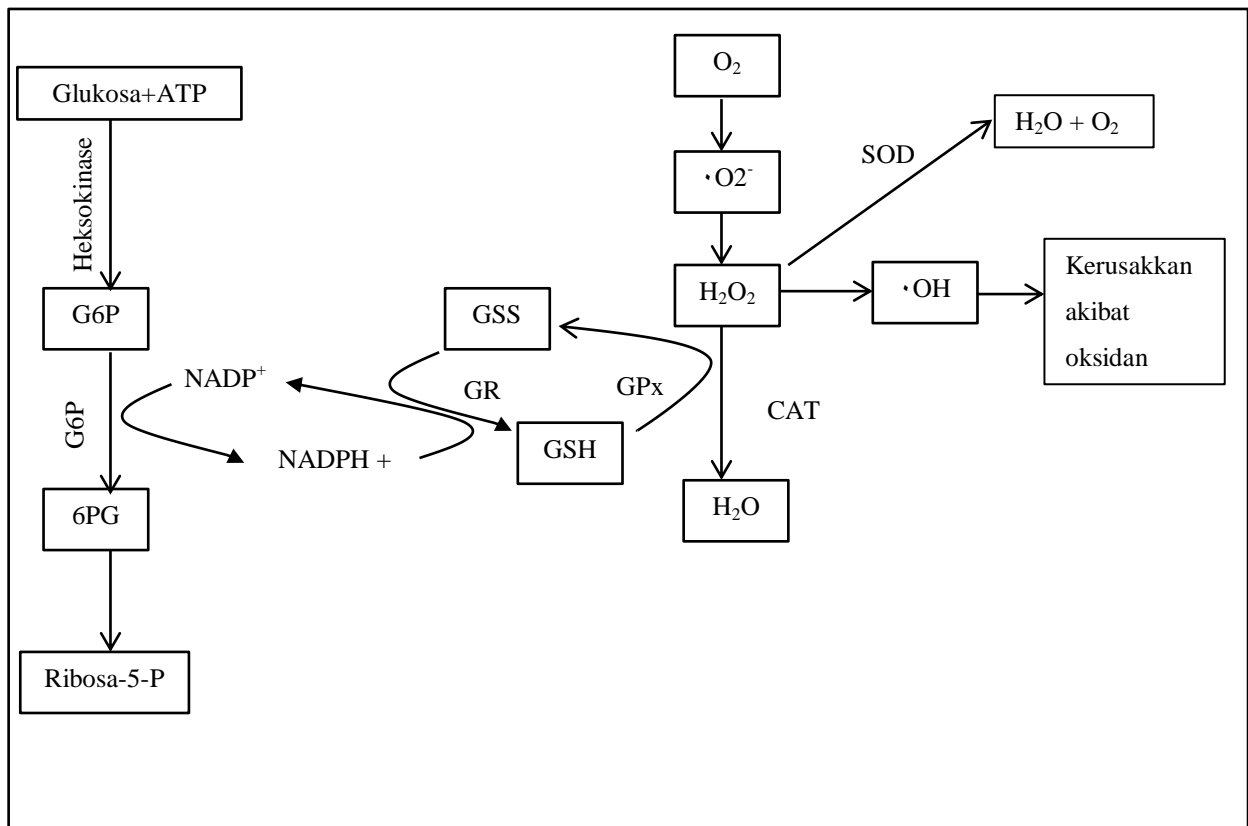
2.5 Enzim Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase

Bentuk monomer G6PD terdiri dari 515 asam amino, dengan berat molekul 59 kDa (kilo Dalton). G6PD yang aktif berbentuk tetramer atau dimer pada kondisi *pH-dependent equilibrium*. Setiap monomer G6PD terdiri dari 2 *domain* yang terikat oleh α -*helix*: N-terminal (asam amino ke 27-200) dan β + α *domain*. Pada tiap sub unit tetramer didapatkan molekul NADP^+ *binding site* (koenzim *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*) (Cappelini dan Fiorelli, 2008). Stabilitas G6PD kuarterner sangat penting dalam aktivitas normal. *Binding site* koenzim ini diperkirakan terletak pada ekson 10 urutan asam amino ke 386 dan 387 (lisin dan arginin), sedangkan tempat mengikat substrat glukosa-6-fosfat (G6P) terletak pada ekson 6 dengan urutan asam amino (lisin) ke 205 (Vulliamy *et al.*, 1998; Mehta *et al.*, 2000; Au *et al.*, 2000).

Glukosa-6-fosfat dehidrogenase adalah enzim yang tersebar di seluruh sel dengan kadar yang berbeda dan terdapat di dalam sitoplasma karena enzim jalur pentose fosfat terjadi di sitoplasma dan G6PD bekerja pada tahap pertama jalur pentosa fosfat pada jalur oksidasi. Jalur pentose fosfat ada 2 fase yaitu fase oksidasi dan non-oksidasi. Fase oksidasi terjadi oksidasi glukosa yang tidak menghasilkan energi *adenosine tri phosphate* (ATP) tetapi membentuk koenzim NADPH untuk sintesis asam lemak, steroid, dan mereduksi glutation aktivitas antioksidan (fase oksidatif *irreversible*), dan fase kedua adalah tahap non-oksidasi yaitu pembentukkan ribosa untuk membentuk nukleotida purin dan asam nukleat (DNA dan RNA) (fase non-oksidatif) dan hasil akhir katabolisme nukleotida purin adalah asam urat (Murray *et al.*, 2018).

Pada fase oksidatif *irreversible*, G6PD mengkatalisis reaksi G6P dan NADP^+ menjadi 6-fosfoglukonat (6PGA) dan menghasilkan NADPH, koenzim yang berfungsi sebagai pendonor hidrogen pada berbagai jalur biosintetik (sintesis asam lemak, kolesterol, dan hormon steroid) dan penting untuk melindungi sel dari stres oksidatif. Peran NADPH menyebabkan sel dapat menjaga keseimbangan antara oksidan dan anti oksidan adalah dengan cara NADPH sebagai koenzim pada reaksi yang dikatalisis enzim glutathion reduktase untuk mereduksi GSSG menjadi GSH. *Reduced glutathione* dapat meredam hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dengan bantuan enzim GPx (gambar 2.3) (Cox & Nelson, 2008; Murray, *et al.*, 2015). Dalam hal ini, sistem glutathion, katalase (CAT) dan superoksida dismutase (SOD) bekerja bersama untuk menjaga kadar ROS dan turunannya (Nordberg dan Arner, 2001).

Mekanisme regulasi G6PD secara umum dilakukan dengan cara: 1) pengaturan kadar molekul G6PD: kadar molekul G6PD bervariasi di dalam sel terjadi akibat perbedaan laju dan proses transkripsi serta stabilitas mRNA; 2) pengaturan aktivitas G6PD: aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, suhu, dan senyawa lain (metabolit G6P, NADP, dan NADPH) (Suhartati, 2006).



Gambar 2.2 NADPH diproduksi oleh jalur pentose fosfat dengan G6PD sebagai katalisator. Peran NADPH dalam melindungi sel terhadap ROS dan turunannya, GR (*Glutathione reductase*) (Koleksi Pribadi).

2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai sifat sebagai elektron donor. Antioksidan menghambat oksidan secara enzimatik dan non-enzimatik. Garis pertahanan pertama terhadap ROS terdiri dari enzim antioksidan seperti superoksida diemutase, glutathione peroksidase, dan katalase. Garis pertahanan kedua terhadap ROS yaitu Senyawa dengan berat molekul rendah, seperti vitamin C dan E, α tokoferol, β -karoten, asam lipoat, ubiquinone, karotenoid, asam askorbat, asam urat, dan glutathione (Birben *et al.*, 2012).

Superoksida adalah ROS primer yang dihasilkan dari berbagai sumber, maka peredaman superoksida oleh SOD sangat penting keberadaannya di setiap sel.

Katalase memiliki *site* (tempat) pengikatan allosterik untuk NADPH yang mempertahankan enzim dalam bentuk yang paling aktif (bentuk tetramerik) dan melindunginya terhadap toksisitas hidrogen peroksida. Superoksida dismutase tidak secara langsung menggunakan NADPH tetapi tindakan SOD adalah mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida yang kemudian membutuhkan reduksi baik oleh sistem glutathione atau katalase untuk mengubah hidrogen peroksida menjadi lebih sedikit tidak beracun (Graham J Burton dan Jauniaux, 2011).

Beta-karoten, E dan C terkenal sebagai beberapa antioksidan pemutus rantai (tahap propagasi). Reaksi peroksidasi lipid secara kuantitatif merupakan reaksi rantai yang sangat penting yang terjadi dalam sel. Hanya antioksidan yang bersifat lipofilik, yaitu beta-karotenvitamin E, yang dapat menghentikan reaksi peroksidasi lipid tersebut berlanjut. Beta-karoten bereaksi dengan radikal lipid, dan membentuk radikal beta-karotenil yang efek merusak selnya berkurang. Tokoferol (ToCH atau vitamin E) dapat bereaksi dengan radikal lipid, dan membentuk radikal tokoferil yang relatif stabil sehingga efek merusaknya berkurang. Tetapi suatu radikal, harus tetap dilakukan inaktivasi dengan cara: 1) radikal tokoferil melakukan perubahan intramolekuler menjadi Tokoquinon (TocQ); 2) radikal tokoferil bergerak menuju permukaan membran sel, dan kemudian bereaksi dengan vitamin C (Asam Askorbat) menjadi radikal askorbil, dan 3) radikal tokoferil dapat juga bereaksi dengan Sistein atau GSH, membentuk Sistin atau GSSG. Tetapi vitamin E hanya bekerja pada kondisi tekanan O_2 relatif tinggi. Selanjutnya, radikal Askorbil secara spontan akan diinaktivasi melalui reaksi dismutase menjadi asam dehidroaskorbat (Soetjipto dan Nugroho, 2015).

2.7 Pemeriksaan G6PD

2.7.1 Kualitatif dengan *formazan ring test*

Formazan ring test yang dikembangkan Nishiyama merupakan metode yang terbukti *reliable*, tidak mahal dan sederhana serta non-traumatik untuk mendeteksi defisiensi G6PD secara kualitatif. Pada pemeriksaan ini, dibutuhkan 1-2 tetes darah yang diperoleh dari tusuk jari atau *heel*. Tetesan darah tersebut ditetaskan pada kertas *filter* yang kemudian dikeringkan di suhu ruang dan di simpan dalam refrigerator. Kertas *filter* dipotong dengan ukuran diameter 4 mm, kemudian diaplikasikan ke dalam gel formazan lalu diinkubasi 5 jam pada suhu 37°C. Hasil dari *formazan ring test* adalah cincin biru dengan ukuran diameter 7x7 mm jika terjadi defisiensi G6PD dengan kadar G6PD $77\mu\text{U G6PD}/10^{10}$ eritrosit (8x8 mm, normal) (Suryantoro, 1996).

Tabel 2.2 Komposisi gel formazan untuk 20 mL (Suryantoro, 1996).

Nama Bahan	Jumlah
G6PD, Na ₂ (Nacalai Co)	25 mg
B NaDP (Oriental yeast Co)	5 mg
Agar (Dosindo Co)	150 mg
MTT (Nacalai Co)	5 mg
MS (Wakko Chem)	5 mg
0,1 TrisHCl-0,01 M MgCl ₂ (pH 6,5)	

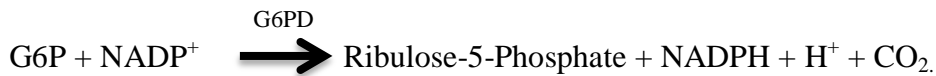
2.7.2 Kuantitatif

Pemeriksaan aktivitas G6PD (kuantitatif) menggunakan metode system fotometrik sinar ultraviolet panjang gelombang 340 nm.

Glukosa-6-fosfat dehidrogenase mengkatalisis tahap pertama dari jalur pentosa fosfat, mengoksidasi G6P menjadi 6PGA dan mereduksi NADP⁺ (bentuk teroksidasi) menjadi NADPH (bentuk tereduksi).

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate yang direduksi oleh G6PD menghasilkan G6P. Pembentukan NADPH sesuai dengan aktivitas G6PD dan

diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 340 nm. (DIALAB Production und Vertrieb von chemisch, 2018).



Aktivitas G6PD dilaporkan dalam jumlah sel darah merah atau gram hemoglobin, kadar sel darah merah atau hemoglobin harus ditentukan terlebih dahulu sebelum pemeriksaan G6PD. (DIALAB Production und Vertrieb von chemisch, 2018).

Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase *kit* assay dari DIALAB mempunyai sensitivitas aktivitas G6PD 0,4 U/g Hb dan spesifikasi pemeriksaan ini bersifat spesifik. Setiap pembentukan NADPH nonspesifik karena oksidasi substrat lain oleh enzim endogen akan dihambat oleh *maleimida* dalam sistem pereaksi dan mencegah pembentukan NADPH tambahan yang mungkin terjadi melalui oksidasi 6-fosfoglukonat yang dihasilkan pada reaksi awal dan membentuk NADPH kedua oleh eritrosit 6-fosfoglukonat dehidrogenase (6-PGDH), yang akan dapat merancu, dihambat dengan *maleimide*, penghambat 6-PGDH (DIALAB Production und Vertrieb von chemisch, 2018). Tetapi spesifitas pemeriksaan aktivitas G6PD dapat mengalami bias apabila:

- Senyawa tembaga 100µmol/L yang dapat menghambat G6PD dan ion sulfat 0,005 mol/L dapat menurunkan aktivitas G6PD,
- Retikulosit mempunyai kadar G6PD lebih tinggi daripada *mature red cells*, sehingga tidak boleh dilakukan pemeriksaan G6PD setelah terjadi hemolisis berat.

Prosedur ini distandarisasi berdasarkan absorptivitas milimolar NADPH, yaitu 6,22 pada 340 nm. Konversi oksidatif G6P oleh G6PD menyebabkan pengurangan NADP menjadi NADPH secara ekuivalen molar. Pengukuran laju peningkatan absorbansi (ΔA) pada 340 nm berfungsi untuk menghitung aktivitas enzimatik (*DIALAB Production und Vertrieb von chemisch*, 2018).

Satuan dari pemeriksaan aktivitas G6PD adalah Satu Unit Internasional (U) adalah jumlah aktivitas G6PDH yang akan mengubah 1 mikromol substrat per menit di bawah kondisi yang ditentukan dalam sisipan ini. Sensitivitas pemeriksaan ini adalah dengan asumsi batas sensitivitas untuk mewakili perubahan absorbansi pada 340 nm 0,001 per menit, aktivitas G6PD 0,4 U/g Hb atau 11 U/ 10^{12} RBC (*red blood cell*) dapat dideteksi dengan menggunakan prosedur ini (dengan asumsi kadar hemoglobin 12,0 g/dL dan sel darah merah $4,5 \times 10^6 / \text{mm}^3$) (*DIALAB Production und Vertrieb von chemisch*, 2018).

2.8 Pemeriksaan Biomarker Disfungsi Endotel, eNOS

Pemeriksaan eNOS menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) *kit* dari RayBiotech yang mengandung antibodi spesifik untuk *human* eNOS. Pemeriksaan eNOS dengan menggunakan ELISA *kit* dari *Aviscera Bioscience* merupakan *quantitative sandwich* ELISA. Sumur di *plate* di *pre-coated* dengan antibodi spesifik, *immobilized antibody*, pada sampel dan standart. Setelah dicuci, ditambahkan *biotinylated anti-human eNOS antibody*. Kemudian di cuci kembali, setelah itu ditambahkan *HRP-conjugated streptavidin* ke dalam setiap sumur. Setelah dicuci, selanjutnya dilakukan penambahan larutan substart

untuk menimbulkan warna biru ke kuning dan diukur dengan panjang gelombang 450 nm. Dibuat standart kurva, dan kadar eNOS ditentukan (RayBiotech, 2017).

2.9 Pemeriksaan Biomarker Stres Oksidatif, F2-isoprostan

Isoprostan merupakan *prostaglandine (PG) F2-like compounds* yang dibentuk oleh radikal bebas secara *in vivo* (non-enzimatik) yang mengkatalisis asam arakhidonat dan senyawa ini mempunyai beberapa isomer pada cincin prostan dari prostaglandin, maka disebutlah F2-isoprostan. Senyawa intermediate dalam jalur isoprostan adalah *H2-line compounds* yang akan direduksi menjadi F2-isoprostan dan senyawa isoprostan yang lain, seperti E2-, D2-, A2-, J2-isoprostan, isotromboksan, dan isoketal (gambar 2.5) (Paolo, Barnes, dan II, 2004).

Dalam mendeteksi stres oksidatif selama ini yang sering digunakan adalah MDA (*malondialdehyde*), tetapi MDA gagal untuk memenuhi persyaratan sebagai marker stres oksidatif dengan alasan sebagai berikut:

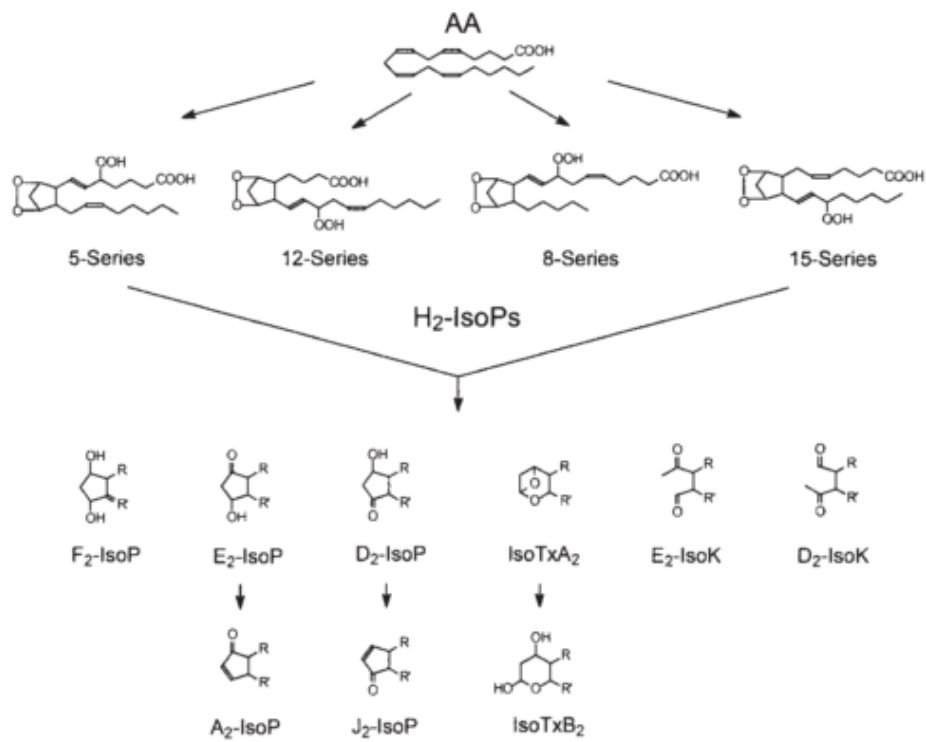
1. Adanya variasi yang tinggi dan tidak jelas untuk pembenarannya (*justified*) secara metode analitik,
2. Stabilitas, reaksi dengan TBA (*thiobarbituric acid*) dan bahan biokimia lain dalam sampel, *cross-reactivity* terhadap aldehid dan komponen lain dengan TBA menunjukkan bahwa penentuan dengan menggunakan metode spektrofotometer sederhana tidak dapat memberikan data analisis valid untuk penelitian, khususnya dihubungkan dengan klinik,
3. Biomarker yang tidak spesifik untuk PE dan kadar MDA dapat dipengaruhi oleh kondisi patologi yang lain, seperti infeksi *Helicobacter pylori*,

4. Pengukuran MDA dengan menggunakan TBA selama proses derivatisasi pada suhu tinggi di suasana asam memberikan hasil kadar MDA yang tidak sebenarnya dalam sampel biologi (Maryam, Khalil, dan Abolghasem, 2016).

Pemeriksaan F2-isoprostan memiliki keunggulan karena F2-isoprostan memiliki spesifitas tinggi, bersifat stabil, ada pada berbagai cairan dan jaringan tubuh sehingga merupakan biomarker *gold standard* untuk mendeteksi tingkat stres oksidatif (Paolo, Barnes, dan II, 2004). F2-isoprostan didapatkan meningkat pada pasien prekelampsia dan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa adanya indikasi stres oksidatif sebelum onset PE (Wang, *et al.*, 2011).

Pemeriksaan F2-isoprostan menggunakan ELISA kit dari *elabscience*[®] yaitu pemeriksaan kuantitatif *in vitro a competitive immunoenzymatic* & *isoprostan* untuk serum, urin, plasma, sel, dan jaringan.

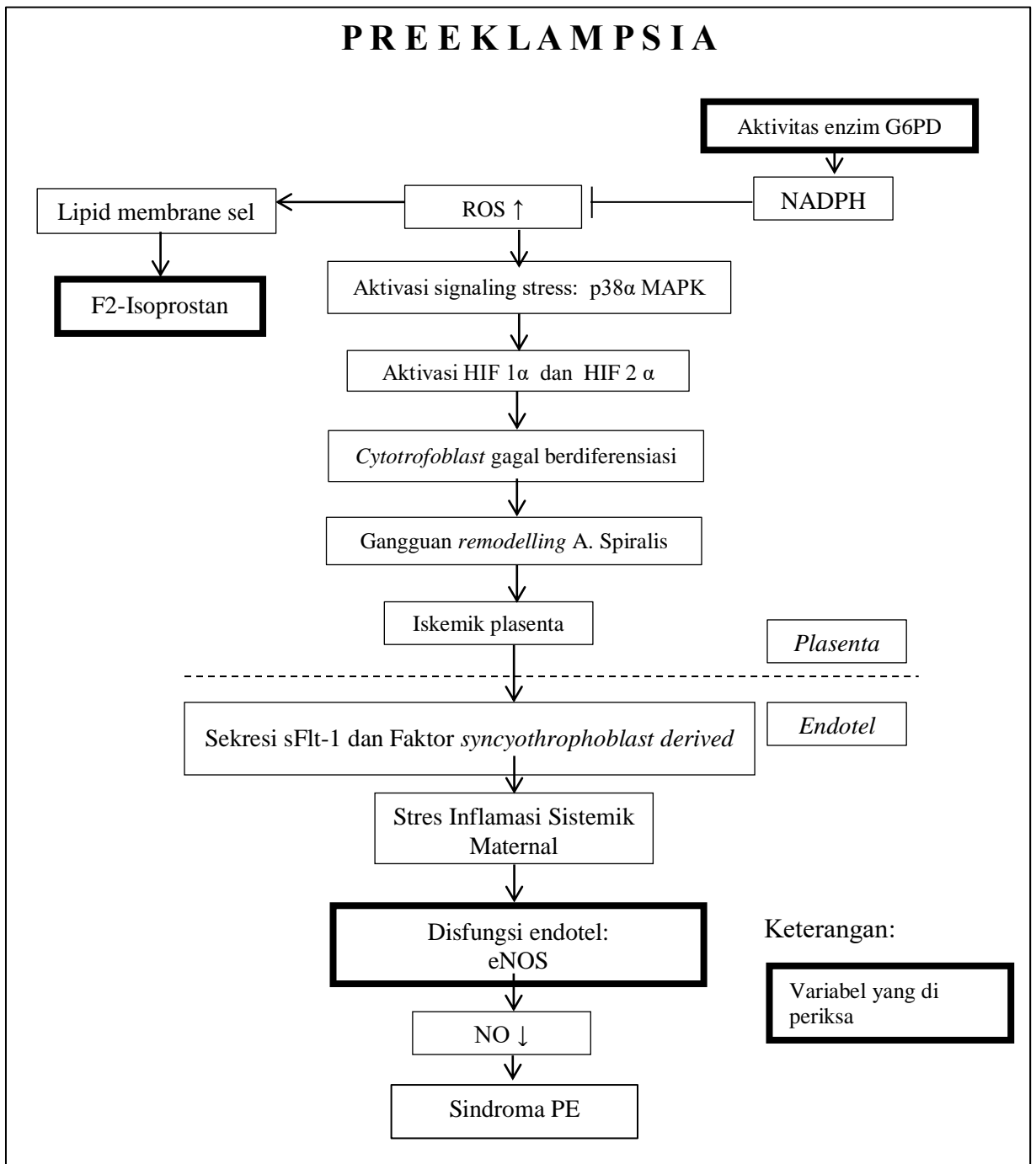
Sumuran dilapisi dengan *capture polyclonal antibody* yang akan terikat oleh F2-isoprostan yang terdapat dalam sampel atau standart. Selanjutnya HRP *conjugated polyclonal antibody* akan mengikat F2-isoprostan yang ditangkap oleh *capture polyclonal antibody*. Setelah itu dilakukan proses inkubasi dan pencucian untuk membuang sampel yang tidak terikat pada ikatan diatas. Setelah pencucian dilanjutkan dengan penambahan *substrat solution* yang akan berikatan dengan *HRP conjugated polyclonal antibody*. Produk yang dihasilkan adalah sesuai proporsi jumlah F2-isoprostan yang terdapat pada sampel. Reaksi diakhiri dengan menambahkan asam dan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm. Dibuat standart kurva untuk 7 standart, dan kadar F2-isoprostan ditentukan (*Elabscience Botechnology*, 2018).



Gambar 2.3 Alur pembentukan isomer isoprostan (IsoP) melalui oksidasi asam arakidonat (AAO yang diinduksi oleh radikal bebas (Paolo, Barnes, dan II, 2004).

BAB 3
KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian

Preeklampsia (PE) adalah kegagalan plasenta pada kehamilan akibat peningkatan kadar *reactive oxygen species* (ROS) yang tinggi. Kadar ROS yang tinggi, mengakibatkan stress oksidatif, menyebabkan gangguan keseimbangan redoks dalam tubuh. *Reactive oxygen species* tinggi dapat masuk ke villi plasenta, khususnya *cytotrophoblast* (CTB), untuk mengaktifkan stress sinyal (p38 α MAPK) dan selanjutnya mengaktifkan faktor transkripsi hipoksia yaitu HIF 1 α dan 2 α , akan menyebabkan kerusakan vaskularisasi plasenta. Kerusakan vaskularisasi plasenta merupakan kegagalan *remodelling* arteri spiralis, yang bermakna CTB yang gagal berdiferensiasi menjadi endotel dan hanya menginvasi superfisial arteri spiralis maternalis. Kerusakan vaskularisasi plasenta mengakibatkan iskemik plasenta, yang memproduksi sFlt-1 dan faktor-faktor *syncytiotrophoblast* (STB) *derived*. Hal ini menimbulkan inflamasi sistemik maternal yang akan menyebabkan kerusakan sel endotel. Rusaknya sel endotel mengakibatkan enzim eNOS menjadi rendah. Aktivitas enzim eNOS rendah maka kadar NO akan rendah. Kadar NO rendah menandakan disfungsi endotel plasenta mengakibatkan gejala klinis PE semakin jelas, antara lain tekanan darah yang tinggi dan proteinuria. Selain itu, peningkatan ROS mengakibatkan peroksidasi lipid membran sel sehingga terbentuk F2-isoprostan.

Glukosa-6-fosfat dehydrogenase (G6PD) merupakan enzim yang mengkatalisis pembentukan NADPH yang berfungsi meredam ROS secara endogen. Pada PE, ROS meningkat maka aktivitas G6PD diperlukan untuk memproduksi NADPH agar dapat meredam peningkatan ROS.

3.2 Hipotesis Penelitian

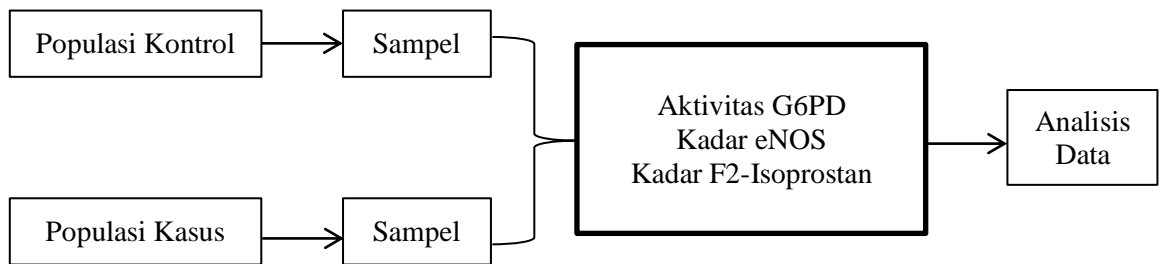
1. Terdapat pola perubahan aktivitas enzim G6PD berupa perbedaan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE dan non-PE.
2. Terdapat pola perubahan kadar eNOS berupa perbedaan kadar eNOS pada pasien PE dan non-PE.
3. Terdapat pola perubahan kadar F2-isoprostan berupa perbedaan kadar F2-isoprostan pada pasien PE dan non-PE.
4. Terdapat pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berupa hubungan pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada PE.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observasional analitik untuk menganalisis pola perubahan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS, dan F2-isoprostan pada pasien PE dan non-PE di Surabaya. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *case control study*.



Gambar 4.1 Bagan Rancangan Penelitian

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi kasus yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien PE yang berobat jalan di Unit Rawat Jalan SMF Ilmu Kebidanan dan Ginekologi di RSUD. M. Soewandhi Surabaya. Pasien kontrol pada penelitian ini adalah pasien non-PE yang berobat jalan di Puskesmas Jagir Surabaya.

4.2.1.1 Kriteria inklusi kelompok kasus

1. Pasien yang datang ke Unit Rawat Jalan SMF Ilmu Kebidanan dan Ginekologi RSUD. M. Soewandhi Surabaya dan di diagnosis PE dengan usia kehamilan \geq 20 minggu oleh dokter spesialis obstetrik dan ginekologi yang bertugas,
2. Bersedia ikut dalam penelitian ini dan menand
3. Menandatangani *inform consent* bagi yang telah berusia \geq 21 tahun (kriteria dewasa menurut hukum) dan untuk partisipan dengan usia $<$ 21 tahun akan di dampingi oleh orang tua/ wali dan yang menandatangani *inform consent* adalah orang tua/ wali,

4.2.1.2 Kriteria inklusi kelompok kontrol

1. Pasien hamil yang datang ke Poli Hamil dan KIA (Kesehatan Ibu dan Anak) Puskesmas Jagir Surabaya dan di diagnosis non-PE dengan usia kehamilan \geq 20 minggu oleh dokter spesialis obstetrik dan ginekologi yang bertugas,
2. Bersedia ikut dalam penelitian ini dan menandatangani *inform consent* bagi yang telah berusia \geq 21 tahun (kriteria dewasa menurut hukum) dan untuk partisipan dengan usia $<$ 21 tahun akan di dampingi oleh orang tua/ wali dan yang menandatangani *inform consent* adalah orang tua/ wali.

4.2.1.3 Kriteria eksklusi kelompok kasus

1. Terjadi kerusakan sampel: hemolisis
2. Rekam medis: didapatkan riwayat penyalahgunaan narkoba, penyakit sel darah merah, seperti malaria, thalasemia,
3. Mengundurkan diri dari penelitian.

4.2.1.4 kriteria eksklusi kelompok kontrol

- 1 Terjadi kerusakan sampel: hemolisis

- 2 Rekam medis: didapatkan riwayat penyalahgunaan narkoba, penyakit sel darah merah, seperti malaria, thalasemia,
- 3 Mengundurkan diri dari penelitian.

4.2.2 Sampel

Sampel kasus yang digunakan dalam penelitian ini adalah semua pasien yang di diagnosis dengan PE dengan usia kehamilan ≥ 20 minggu yang datang di SMF Ilmu Kebidanan dan Ginekologi RS dan Puskesmas Surabaya yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sampai sejumlah n (besar sampel) tertentu (periode September 2018-Juli 2019).

Sampel kontrol pada penelitian ini adalah pasien non-PE yang datang di SMF Ilmu Kebidanan dan Ginekologi RS dan Puskesmas Surabaya yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sampai sejumlah n (besar sampel) tertentu (periode Mei-Juli 2019).

4.2.3 Besar sampel

Pengukuran besar sampel menggunakan rumus aplikasi Lemeshow, *et al.*, 1990 sebagai berikut:

$$n = \frac{2\sigma^2(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Keterangan:

- N : Besar sampel minimal = 70
- Σ : Standar deviasi populasi partisipan PE = 38 (Binte faruky et al. 2009)
- $Z_{1-\beta}$: Nilai distribusi normal baku (table Z) pada β tertentu = 1,28
- $Z_{1-\alpha/2}$: Nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada α tertentu = 1,96

- 1- β : Kekuatan uji 95%
- μ_1 : Rerata populasi 1 = 270,73 (Binte faruky *et al.*, 2009)
- μ_2 : Rerata populasi 1 = 245,48 (Binte faruky *et al.*, 2009)

Berdasarkan hasil perhitungan besar sampel dan setelah ditambah koreksi 10% didapatkan besar sampel minimal adalah 66 orang perkelompok.

4.2.4 Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel adalah dipilih secara acak dan yang memenuhi kriteria inklusi akan diambil dalam penelitian ini sampai jumlah sampel terpenuhi. Hal yang sama dilakukan pada kelompok kontrol.

Pengambilan sampel darah dilakukan setelah mendapatkan surat kelaikan etik penelitian dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. *Informed consent* dijelaskan dan ditandatangani oleh pasien sebelum sampel diambil.

Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung *venoject* 6 mL dengan antikoagulan EDTA, kemudian sampel darah dibagi menjadi 3 untuk pemeriksaan (1) enzim G6PD, (2) eNOS, dan (3) F2-isoprostan. Pemeriksaan aktivitas enzim G6PD segera dilakukan. Pemeriksaan kadar eNOS dan F2-isoprostan akan dikumpulkan dan disimpan dalam tabung ependorf pada suhu minus 80°C sampai pemeriksaan dilakukan.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas (*independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah PE dan non-PE.

4.3.2 Variabel tergantung (*dependent*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini terdiri dari aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS, dan kadar F2-isoprostan.

4.3.3 Definisi operasional variabel penelitian

Tabel 4.1 Definisi operasional variabel penelitian

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Pengukuran	Satuan	Skala Data
1.	Pasien PE	Pasien hamil yang datang ke poli hami dan UGD RS dan PKM Jagir di Surabaya	Pasien hamil dengan PE dan UK ≥ 20 minggu yang didiagnosis oleh dokter spesialis obstetric dan ginekologi.	Ya/Tidak	Nominal
2.	Pasien non-PE	Pasien hamil yang datang ke poli hami dan UGD RS dan PKM Jagir di Surabaya	Pasien hamil normal dan UK ≥ 20 minggu yang didiagnosis oleh dokter spesialis obstetric dan ginekologi.	Ya/Tidak	Nominal
3.	Aktivitas enzim G6PD plasma EDTA	Pengukuran aktivitas enzim G6PD dikaitkan dengan gram hemoglobin.	Sampel plasma EDTA digunakan dalam pemeriksaan ini. Pemeriksaan aktivitas enzim G6PD dilakukan dengan metode spektrofotometri. Asumsi batas sensitivitas untuk mewakili perubahan absorbansi pada 340 nm 0,001 per menit, aktivitas enzim G6PD 0,4 U/g Hb atau 10,8 U/10 ¹² RBC (dengan asumsi kadar hemoglobin 12,0 g/dL dan sel darah merah 4,5 x 10 ⁶ /mm ³). Satuan Internasional Unit (U) adalah kadar aktivitas G6PD untuk merubah 1 μ mol (mikromol) substrat per menit, yaitu NADP direduksi oleh G6PD menjadi NADPH dengan ΔA per menit, dalam suhu 30°C ($\Delta A=0,028$). Sensitivitas 0,4 U/gHb. Rentang normal aktivitas G6PD 4,8-12,5 U/gHb. (DIALAB <i>Production und Vertrieb von chemisch</i> , 2018).	U/g Hb	Rasio
4.	Kadar eNOS	Produk berwarna	Sampel plasma digunakan dalam pemeriksaan ini.	ng/mL	Rasio

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Pengukuran	Satuan	Skala Data
5.	plasma EDTA Kadar F2-isoprostan plasma EDTA	dihasilkan sesuai proporsi jumlah eNOS yang terdapat pada plasma. Kadar F2-isoprostan yang terdapat dalam plasma.	Pemeriksaan kadar eNOS dilakukan dengan metode ELISA (memakai <i>ELISA reader</i>) dengan absorbansi spektrofotometer 450 nm. Sensitivitas <i>Human eNOS</i> adalah 0,4 ng/mL. katalog #: ELH-ENOS (RayBiotech, 2017). Sampel plasma digunakan dalam pemeriksaan ini. Pemeriksaan kadar F2-isoprostan dilakukan dengan metode ELISA (memakai <i>ELISA reader</i>) dengan absorbansi spektrofotometer 450 nm. Sensitivitas 9,38 pg/mL. Rentang deteksi 15,63-1000 pg/mL. Nomor katalog E-EL-0041 (Elabscience, 2017).	pg/mL	Rasio

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan penelitian

4.4.1.1 Bahan untuk pengambilan sampel darah

Bahan untuk pengambilan sampel darah antara lain *whole blood* 4 mL, kapas alkohol 70% dan EDTA (*ethylenediamine tetraacetic acid*).

4.4.1.2 Bahan untuk pemeriksaan aktivitas enzim G6PD

Bahan untuk pemeriksaan aktivitas enzim G6PD adalah plasma EDTA 1 mL dan reagen kuantitatif disgnostik in vitro untuk G6PD darah manusia dengan sistem spektrometri (*DIALAB Production und Vertrieb von chemisch*, 2018).

4.4.1.3 Bahan untuk pemeriksaa kadar eNOS

Bahan yang di pakai untuk pengukuran kadar eNOS antara lain plasma EDTA 1 mL dan eNOS *human assay kit ELISA* katalog # ELH-ENOS (*RayBiotech*, 2017).

4.4.1.4 Bahan untuk pemeriksaan kadar F2-isoprostan

Bahan yang di pakai untuk pengukuran kadar F2-isoprostan antara lain plasma EDTA 1 mL dan isoprostan *assay kit ELISA* nomor katalog E-EL-0041 (*Elabscience Botechnology*, 2018).

4.4.2 Alat penelitian

4.4.2.1 Alat untuk pengambilan sampel darah dan pemisahan plasma EDTA

Alat untuk pengambilan sampel darah antara lain *vacu tainer* dengan EDTA.

Alat yang diperlukan untuk pemisahan plasma EDTA dari sampel darah antara lain mikropipet, *blue tips*, tabung *eppendorf*, dan *HB-1 180T centrifuge 8 hole*.

4.4.2.2 Alat untuk pemeriksaan aktivitas enzim G6PD

Alat yang dipakai untuk pemeriksaan aktivitas enzim G6PD antara lain spektrofotometer yang mempunyai panjang gelombang 340 nm, kuvet yang bisa untuk panjang gelombang 340 nm untuk mikropipet, *blue*, *yellow*, dan *white tip*, inkubator. Serta alat untuk menentukan kadar hemoglobin.

4.4.2.3 Alat untuk pemeriksaan ELISA untuk kadar eNOS dan F2-isoprostan

Alat yang di pakai untuk pengukuran kadar eNOS antara lain *microplate reader: iMark (Bio Rad)* ukuran standart, *auto Mini washer: AMW-8 (biotech)*, *multi channel pipet: Nichipet 7000 (Nichiryo)*, *shaker: KR-3N (Kagayaki)*, inkubator: *Isuzu 2-2195*, vorteks: *Genie-2*, *mini Centrifuge milipore*, dan tabung *eppendorf*.

4.5 Pelaksanaan Penelitian

4.5.1 Pengambilan data klinis

Penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari komisi kelaikan etik penelitian. Informasi tentang penelitian diberikan pada keluarga subjek penelitian yang telah didiagnosis PE dan non-PE. Pasien atau anggota keluarga memberikan ijin pasien untuk diikuti sertakan pada penelitian ini setelah mendapatkan informasi yang berkaitan dengan penelitian ini dengan menandatangani pernyataan persetujuan (*inform consent*).

Data klinis diperoleh dengan pengisian kuesioner, yaitu bekerja sama dengan dokter yang bertugas.

4.5.2 Pengambilan darah

Pengambilan darah dilakukan melalui vena cubiti sebanyak 4 mL, dimasukkan ke dalam vacutainer yang mengandung anti koagulan EDTA untuk dilakukan pemeriksaan aktivitas G6PD, kadar eNOS dan F2-isoprostan.

4.5.3 Pemisahan dan pengambilan plasma EDTA darah

Darah sampel yang diperoleh didiamkan selama 30 menit, kemudian dipisahkan dengan sentrifuge kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

4.5.4 Pemeriksaan aktivitas enzim G6PD

Pemeriksaan aktivitas enzim G6PD antara lain plasma EDTA 1 mL menggunakan metode sistem spektrofotometrik.

4.5.5 Pemeriksaan kadar eNOS

Pemeriksaan kadar eNOS antara lain plasma EDTA 1 mL menggunakan eNOS *human assay kit* ELISA.

4.5.6 Pemeriksaan kadar F2-isoprostan

Pemeriksaan kadar F2-isoprostan antara lain plasma EDTA 1 mL menggunakan isoprostan *assay kit* ELISA.

4.6 Analisis Data

Hasil penelitian ini akan menghasilkan skala pengukuran sebagai berikut yaitu data nominal yang sederajat (suku), ordinal yang bertingkat (PE manifestasi ringan dan berat dan BMI), dan data numerik (usia, usia kehamilan, tekanan darah, kadar proteinuria, haemoglobin, enzim G6PD, eNOS, dan F2-isoprostan).

Analisis deskriptif dilakukan untuk menunjukkan karakteristik partisipan, seperti rerata usia partisipan, usia kehamilan, jumlah pernikahan, jumlah perkawinan, suku, IMT, tekanan darah, proteinuria, dan Hb dalam bentuk grafik atau tabel, rerata dan simpang baku.

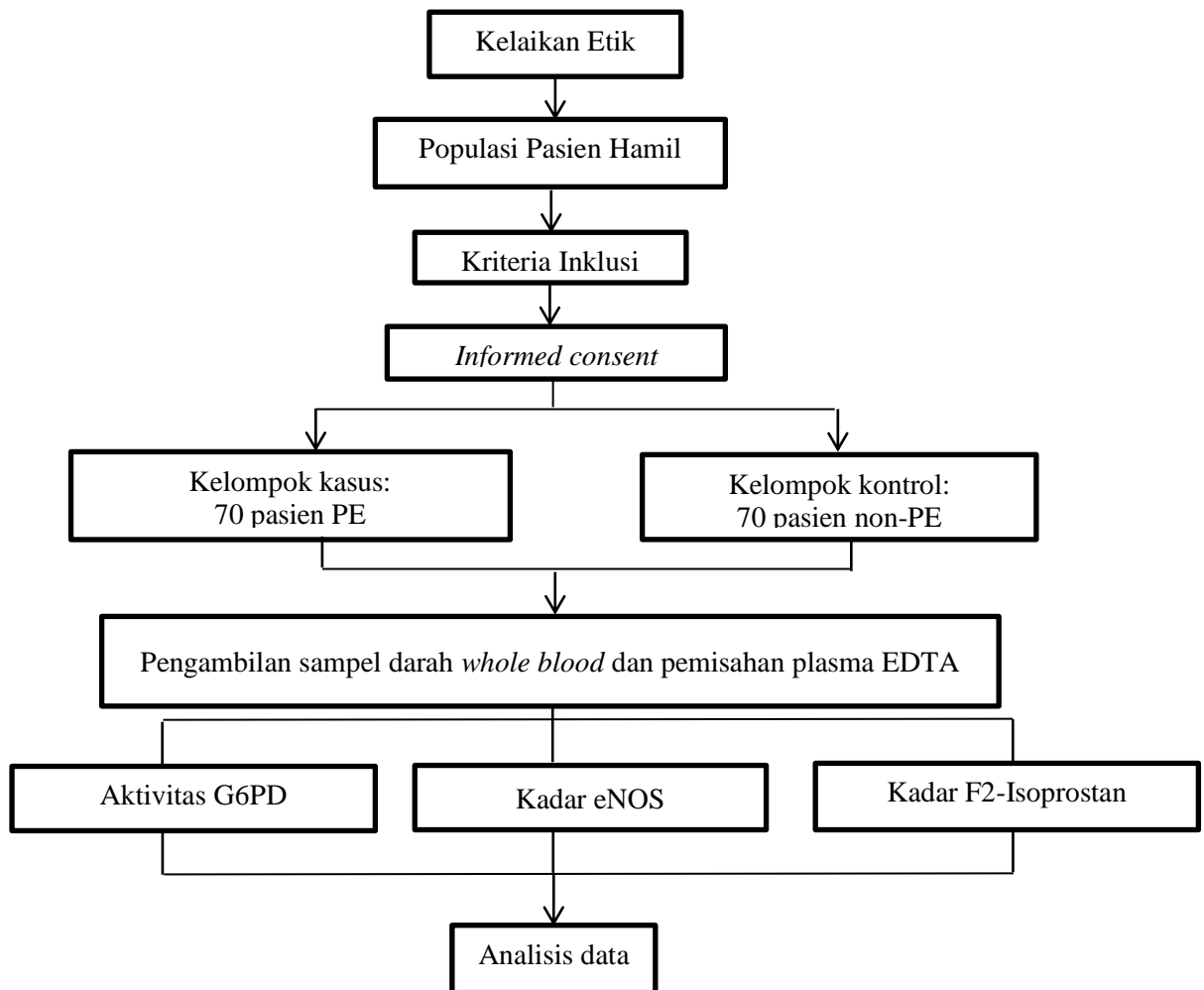
Analisis inferensial dilakukan dengan menggunakan beberapa uji data antara lain:

1. Uji normalitas untuk menguji apakah data terdistribusi normal dengan melakukan uji normalitas *Kolmogorov-smimov*,
2. Uji homogenitas untuk menguji apakah data berasal dari sampel dengan populasi yang homogeny dengan melakukan uji homogenitas *Levene*,
3. Uji beda antar variable dalam 2 kelompok. Penelitian ini adalah penelitian komparasi dengan jumlah pengamatan 1 kali (*post test only*) dan dua kelompok tidak berpasangan, dan skala data numerik untuk parameter aktivitas G6PD dan eNOS serta kadar F2-isoprostan maka analisis data statistik menggunakan uji

komparatif yaitu uji t-test jika data terdistribusi normal atau menggunakan *Mann Whitney test* jika data terdistribusi tidak normal.

4. Regresi linier dilakukan untuk mengetahui pemodelan hubungan perubahan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS, dan F2-isoprostan pada pasien PE, serta untuk mengetahui hubungan pola perubahan antar variabel.

4.7 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.2 Kerangka operasional penelitian

4.8 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilaksanakan di SMF Ilmu Kebidanan dan Ginekologi di RSUD. M. Soewandhi Surabaya dan Puskesmas Jagir Surabaya pada bulan Maret – Agustus 2019. Pemeriksaan aktivitas G6PD di Laboratorium Klinik Komersial Kedungdoro (lab. KD) dan eNOS serta F2-isoprostan di Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga.

4.9 Laik Etik

Penelitian ini sudah dinyatakan Laik Etik oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dengan pemberian Keterangan Kelaikan Etik No. 94/EC/KEPK/FKUA/2019 tertanggal 18 Maret 2019.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini sudah dinyatakan Laik Etik oleh Komite Etik Penelitian Kedokteran (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dengan pemberian Keterangan Kelaikan Etik No. 94/EC/KEPK/FKUA/2019 tertanggal 18 Maret 2019.

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis tentang apakah terdapat pola perubahan aktivitas G6PD, kadar eNOS dan kadar F2-isoprostan pada pasien PE dibandingkan dengan non-PE di Surabaya. Selain itu juga untuk menganalisis pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas G6PD pada pasien PE. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *case control study*. Penelitian dilakukan pada ibu hamil dan diperoleh 140 partisipan yang terbagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok PE sebanyak 70 partisipan yang didiagnosis PE dengan usia kehamilan ≤ 20 minggu yang datang ke poli PE atau UGD RSUD Dr. M. Soewandhi yang kemudian dirujuk ke VK RSUD M. Soewandhi Surabaya dan kelompok non-PE sebanyak 70 partisipan yang didiagnosis non-PE dengan usia kehamilan ≤ 20 minggu yang datang ke poli KIA PKM Jagir Surabaya.

Sebelum dilakukan analisis statistik, besar sample pada kelompok PE disamakan dengan besar sampel pada kelompok non-PE. Sebanyak 4 sampel dikeluarkan dari kelompok PE dengan cara acak dengan bantuan *software* SPSS.

Pemeriksaan sampel dilakukan dengan pemeriksaan plasma EDTA aktivitas G6PD metode spektrofotometri, kadar eNOS dan F2-isoprostan metode ELISA. Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis sesuai tujuan penelitian dan

disajikan dalam tabel grafik dan gambar dengan syarat signifikansi ditetapkan sebesar $p < 0,05$.

5.1 Karakteristik Partisipan

Data penelitian hasil uji normalitas *Komogorov-Smimov* karakteristik umum dan klinis berdistribusi tidak normal ($p < 0,05$), kecuali Indeks Massa Tubuh (IMT) ($p > 0,05$) (lampiran 8).

5.1.1 Karakteristik umum partisipan

Pada partisipan atau subjek penelitian dilakukan pendataan dengan wawancara langsung dan mencatat data rekam medis partisipan berupa karakteristik demografi antara lain usia, suku partisipan, kehamilan ke- (jumlah kehamilan) dan jumlah pernikahan. Berdasarkan data yang telah dikumpulkan, dilakukan analisis data dan distribusi karakteristik umum partisipan seperti pada tabel 5.1.

Pada hasil penelitian tentang karakteristik umum partisipan didapatkan rerata usia partisipan adalah $29,55 \pm 6,58$ tahun. Suku yang paling banyak dalam pengumpulan data penelitian ini adalah Suku Jawa, selanjutnya adalah Suku Madura, Sunda, dan Nusa tenggara Timur (NTT). Jumlah pernikahan paling banyak didapatkan satu kali. Jumlah kehamilan terbanyak pada non-PE yaitu G2.

Uji beda menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada usia partisipan, jumlah kehamilan dan jumlah pernikahan antara kelompok PE dan non-PE ($p > 0,05$) (tabel 5.1). Sedangkan uji beda menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antar kelompok untuk suku ($p < 0,05$) (tabel 5.1).

Tabel 5.1 Karakteristik umum kelompok pasien PE dan non-PE

Karakteristik Umum	non-PE (n=70)	PE (n=70)	p
Umur partisipan (tahun)	28,69±5,91	30,41±7,13	0,141 [^]
Suku			0,042 ^{^^*}
Jawa	67 (96%)	60 (86%)	
Madura	2 (3%)	9 (13%)	
Sunda	1 (1%)	0	
NTT	0	1 (1%)	
Kehamilan ke-			0,323 ^{^^}
G1	19 (27%)	19 (27%)	
G2	29 (41%)	24 (34%)	
G3	17 (24%)	15 (21%)	
G>3	5 (7%)	12 (17%)	
Jumlah pernikahan			0,560 ^{^^}
Jumlah nikah 1 kali	65 (93%)	5 (7%)	
Jumlah nikah > 1 kali	62 (89%)	8 (11%)	

[^] Uji Mann-Whitney, ^{^^} Uji Chi-square, *berbeda bermakna antar kelompok

5.1.2 Karakteristik klinis partisipan

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan klinis yang diperoleh dari rekam medis dan wawancara langsung yaitu pengumpulan data mengenai IMT (indeks massa tubuh), usia kehamilan, serta pemeriksaan fisik dan laboratorium yaitu tekanan darah, proteinuria dan kadar Hb pada kelompok PE dan non-PE. Diskripsi data dari penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5.2.

Klasifikasi IMT berdasarkan IMT yang tercantum pada rekam medis RSUD M. Soewandhi dan rerata IMT pada seluruh partisipan pada penelitian adalah $28,36 \pm 5,46 \text{ kg/m}^2$. Rerata usia kehamilan adalah $33,1 \pm 5,9$ minggu. Klasifikasi tekanan darah didasarkan pada ESC/ESH *Guidelines of management arterial hypertension (Ministry of Health of Ukraine Kharkiv National Medical University study of arterial pulse and blood pressure, 2017)* dan rerata *pulse pressure* adalah $50,2 \pm 15,58 \text{ mmHg}$.

Definisi anemia adalah apabila kadar Hb ≤ 12 g/dL dan normal apabila kadar Hb 12-16 d/dL) (Laboratorium Kedungdoro). Hasil penelitian didapatkan rerata kadar Hb adalah $11,2 \pm 1,41$ g/dL.

Hasil uji beda menunjukkan ada perbedaan bermakna pada IMT, usia kehamilan, tekanan darah, *pulse pressure*, dan proteinuri antara kelompok PE dan non-PE ($p < 0,05$). Sedangkan uji beda menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok untuk kadar Hb dan klasifikasi Hb ($p > 0,05$) (tabel 5.1).

Tabel 5.2 Karakteristik klinis kelompok pasien PE dan non-PE

Karakteristik klinis	non-PE	PE	p
IMT (kg/m ²)	26,29 \pm 4,89	30,43 \pm 5,23	0,000 ^{^*}
Usia Kehamilan (minggu)	29,3 \pm 5,4	37 \pm 3,3	0,000 ^{^*}
Tekanan darah sistol (mmHg)	109,4 \pm 6,8	155,1 \pm 18,3	0,000 ^{^*}
Tekanan darah diastol (mmHg)	70,4 \pm 6,5	93,8 \pm 10,2	0,000 ^{^*}
Proteinuria			0,000 ^{^*}
	Normal	70 (100%)	0
	1	0	32 (46%)
	+2	0	22 (31%)
	$\geq +3$	0	16 (23%)
Kadar Hb (g/dL)	11,3 \pm 1,1	11,1 \pm 1,7	0,822 [^]
Klasifikasi Hb			0,608 ^{^^}
	Normal	38 (54%)	42 (60%)
	Anemia	32 (46%)	28 (40%)

[^]*independent t-test*, ^{^^}*Mann whitney test*, ^{^^^}*Chi-squrae*, ^{*}*perbedaan bermakna antar kelompok*

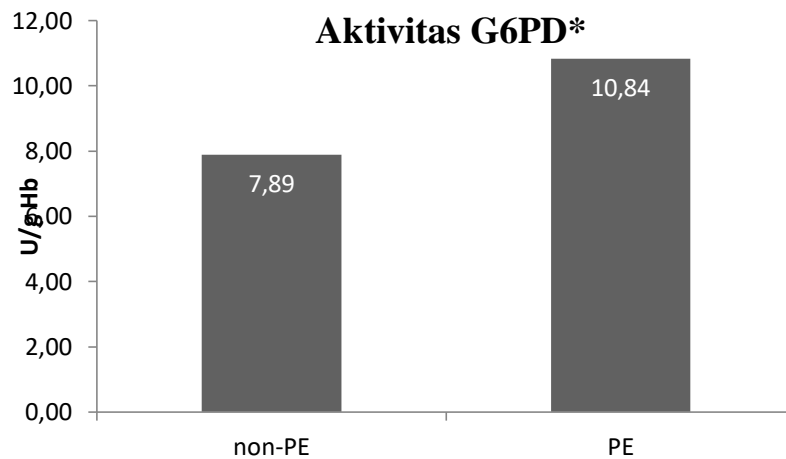
5.2 Analisis Data

Pada penelitian ini dilakukan uji beda untuk membuktikan terdapat pola perubahan aktivitas G6PD, kadar eNOS, dan F2-isoprostan pada kelompok pasien PE dan non-PE.

5.2.1 Pola Perubahan aktivitas enzim G6PD pada Pasien PE

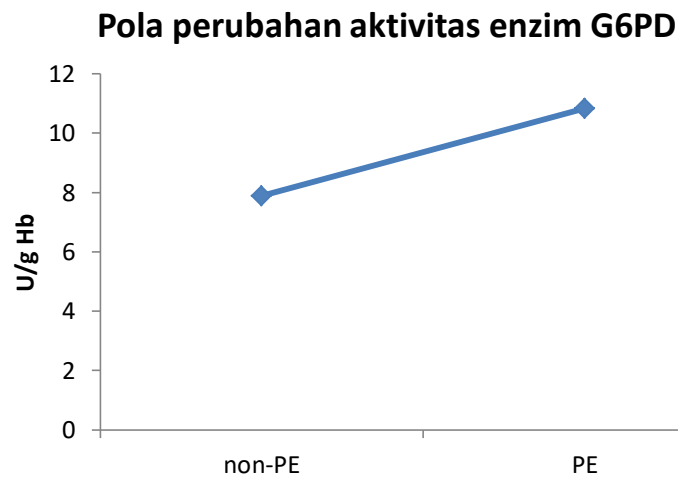
Rerata aktivitas G6PD pada seluruh partisipan adalah $9,4 \pm 3,23$ U/gHb (lampiran 8). Sedangkan rerata pada tiap kelompok terdapat pada gambar 5.1 dan

menunjukkan bahwa aktivitas G6PD pada kelompok PE lebih tinggi daripada kelompok non-PE. Dilakukan uji beda *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan aktivitas G6PD yang bermakna antara kelompok PE dengan non-PE ($p=0,000$) (tabel 5.3) (lampiran 8). Selain ini berdasarkan klasifikasi aktivitas enzim G6PD, didapatkan pada pasien PE terdapat 23 orang yang mempunyai aktivitas G6PD tinggi, sedangkan pasien non-PE tidak ada.



Gambar 5.1 Rerata aktivitas enzim G6PD pada kelompok PE dan non-PE.
* $p=0,000$ berbeda bermakna antar kelompok (uji *Mann Whitney*).

Berdasarkan rerata aktivitas G6PD pada kelompok PE dan non-PE yang berbeda bermakna, didapatkan pola perubahan aktivitas G6PD seperti pada gambar 5.2.



Gambar 5.2 Pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada kelompok PE dan non-PE. Peningkatan aktivitas G6PD sebesar 2,944 U/gHb pada PE.

Selain itu juga dilakukan uji statistik regresi linier *dummy* untuk melihat pemodelan pola aktivitas G6PD pada PE, sebagai berikut:

$$y = c + bx$$

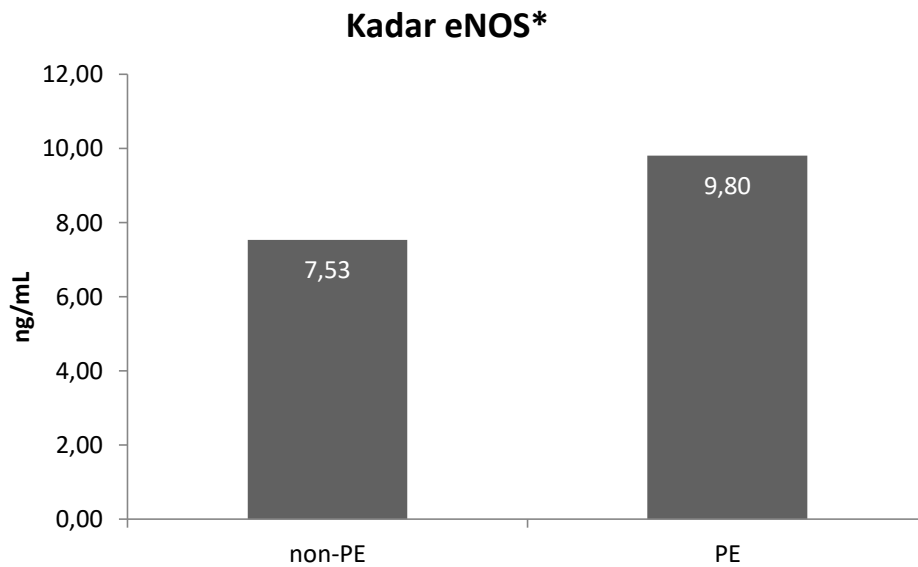
y = aktivitas G6PD ; c = konstanta ; b = koefisien regresi ; x = kelompok, 0 adalah non-PE, 1 adalah PE. Didapatkan persamaan berikut ini:

$$[\text{G6PD}] = 7,89 + (2,94 \times [\text{kelompok}])$$

Hal tersebut dapat diasumsikan bahwa, berdasarkan hasil regresi linier, didapatkan pada pasien hamil dengan PE terdapat peningkatan aktivitas G6PD sebesar 2,94 U/gHb daripada non-PE (lampiran 8).

5.2.2 Pola Perubahan kadar eNOS pada pasien PE

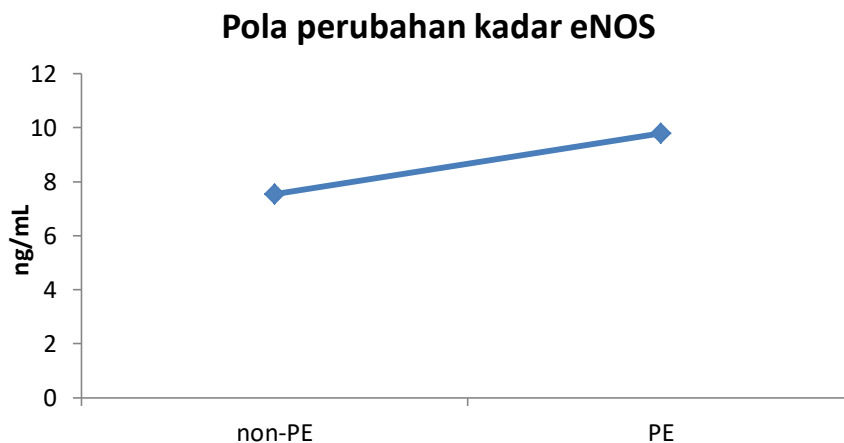
Rerata kadar eNOS pada seluruh partisipan adalah $8,67 \pm 3,58$ ng/mL. Gambar 5.3. menunjukkan rerata kadar eNOS pada kelompok PE lebih tinggi daripada kelompok non-PE. Uji komparasi *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan kadar eNOS yang bermakna antar kelompok ($p=0,004$) (lampiran 8).



Gambar 5.3 Rerata kadar eNOS pada kelompok PE dan non-PE.

* $p=0,004$ berbeda bermakna antar kelompok (uji *Mann whitney*).

Pada gambar 5.4, diilustrasikan pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE dan non-PE yang didasarkan pada rerata kadar eNOS yang berbeda bermakna.



Gambar 5.4 Pola perubahan kadar eNOS pada kelompok pasien PE dan non-PE.

Peningkatan kadar eNOS sebesar 2,265ng/mL pada PE.

Untuk melihat pemodelan dari pola perubahan eNOS, dilakukan pula uji statistik regresi linier *dummy* sebagai berikut:

$$y = c + bx$$

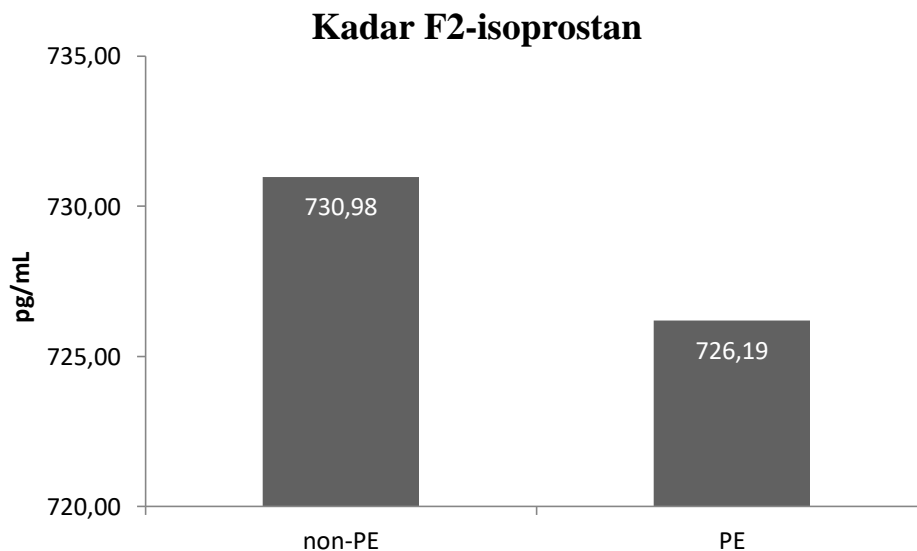
y = kadar eNOS ; c = konstanta ; b = koefisien regresi ; x = kelompok, 0 adalah non-PE, 1 adalah PE. Didapatkan persamaan berikut ini:

$$[\text{eNOS}] = 7,53 + (2,27 \times [\text{kelompok}])$$

Diasumsikan bahwa pada pasien hamil dengan PE akan didapatkan peningkatan kadar eNOS sebesar 2,27 ng/mL daripada non-PE (lampiran 8).

5.2.3 Pola Perubahan kadar F2-isoprostan pada pasien PE

Rerata kadar F2-isoprostan pada seluruh partisipan adalah $728,58 \pm 78,24$ pg/mL (lampiran 8). Gambar 5.5 menunjukkan bahwa rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok PE lebih rendah daripada kelompok non-PE. Dilakukan uji komparasi *Mann-Whitney* menunjukkan tidak adanya perbedaan kadar F2-isoprostan yang bermakna antara kelompok PE dan non-PE (gambar 5.5) (lampiran 8).



Gambar 5.5 Rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok PE dan non-PE. $p=0,396$ tidak berbeda bermakna antar kelompok (uji *Mann whitney*)

Rerata kadar F2-isoprostan tidak memberikan perbedaan bermakna antar kelompok, meski demikian rerata kelompok PE lebih rendah. Sedangkan pola

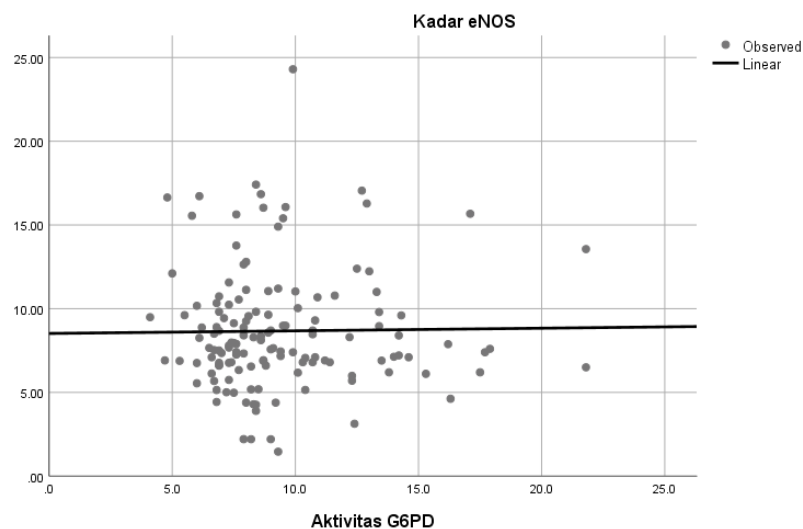
perubahannya belum dapat dikatakan ada penurunan karena hasil uji statistic tidak bermakna.

Perubahan kadar F2-isoprostan yang tidak bermakna, tidak perlu dilakukan pemodelan seperti pada aktivitas enzim G6PD dan kadar eNOS.

5.2.4 Pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE

Untuk menganalisis pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD dilakukan uji regresi linier (lampiran 8).

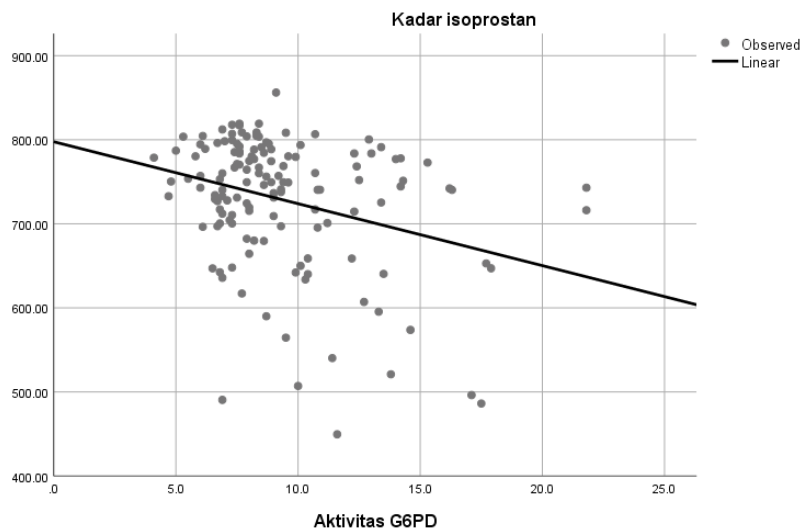
Hasil pola perubahan untuk kadar eNOS menunjukkan hubungan yang tidak bermakna, namun dari rerata kadar, didapatkan ada kecenderungan peningkatan kadar eNOS ketika aktivitas enzim G6PD juga meningkat. Pada gambar 5.6 berikut adalah kurva tren kadar eNOS berdasarkan aktivitas enzim G6PD, yang menunjukkan garis dengan sedikit peningkatan.



Gambar 5.6 Pola peningkatan kadar eNOS berdasarkan aktivitas enzim G6PD.

Hasil *p value* ($p=0,868$) yang tidak bermakna pada kadar eNOS berdasarkan aktivitas enzim G6PD, artinya pemodelan perubahan kadar eNOS tidak diperlukan.

Untuk pola perubahan kadar F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD didapatkan hasil hubungan yang bermakna ($p=0,000$). Pola tersebut dapat dilihat pada gambar 5.7.



Gambar 5.7 Pola penurunan kadar F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD.

Pemodelan kadar F-2 isoprostan berdasarkan aktivitas G6PD adalah sebagai berikut:

$$y = c + bx$$

y = kadar F2-isoprostan ; c = konstanta ; b = koefisien regresi ; x = aktivitas G6PD. Didapatkan persamaan berikut ini:

$$[\text{Isoprostan}] = 797,59 - (7,37 \times [\text{G6PD}])$$

Berdasarkan hasil uji regresi linier dengan kurva pada gambar 5.7, diketahui bahwa terdapat pola penurunan kadar F2-isoprostan berdasarkan aktivitas G6PD, artinya jika G6PD meningkat, kadar F2-isoprostan menurun (hubungan terbalik).

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan menganalisis pola perubahan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS dan F2-isoprostan pada PE.

Metode yang digunakan adalah dengan mengumpulkan sampel data ibu hamil dengan PE dan non-PE di Surabaya. Jumlah sampel yang diperoleh adalah 140 partisipan yang terbagi dalam 2 kelompok yaitu kelompok PE dan non-PE dengan usia kehamilan ≤ 20 minggu.

Pemeriksaan sampel plasma-EDTA dilakukan untuk pemeriksaan aktivitas enzim G6PD, kadar eNOS dan F2-isoprostan, serta data rekam medis pasien (usia, suku, riwayat penyakit, riwayat persalinan, IMT, banyaknya pernikahan, usia kehamilan, tekanan darah, proteinuria dan kadar haemoglobin). Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis sesuai tujuan penelitian dan disajikan dalam tabel grafik dan gambar dengan syarat signifikansi ditetapkan sebesar $p < 0,05$.

6.1 Karakteristik Partisipan

6.1.1 Karakteristik umum partisipan

Pada penelitian ini dilakukan pencatatan data dan wawancara langsung tentang data umum 140 partisipan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan usia partisipan yang bermakna antara PE dan non-PE. Hal tersebut menunjukkan bahwa usia ibu hamil adalah bukan faktor risiko ibu hamil untuk berkembang menjadi PE. Hal ini sesuai dengan peneliti lain yang mengatakan usia dalam kelompok penelitiannya

tidak berbeda berdasarkan usia ibu hamil, tetapi lebih ke persentase wanita nulipara lebih tinggi secara bermakna yang mengalami PE (Jasovic-siveska dan Jasovic, 2011, Kartika *et al.* 2017). Hasil ini berbeda dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa usia ibu hamil adalah faktor risiko PE dengan klinis berat yaitu insiden PE pada ibu hamil yang berusia kurang dari 20 tahun lebih dari 3 kali lipat dibandingkan dengan wanita berusia 20-35 tahun. (Kumari, Dash, dan Singh, 2016).

Suku dalam kelompok penelitian ini menunjukkan berbeda bermakna antara PE dan non-PE. Hal ini serupa dengan hasil penelitian, bahwa sebagian besar suku dalam penelitian ini adalah Suku Jawa dan menurut Krishnadath, *et al.* (2016) di Negara Suriname yang menyatakan bahwa perkiraan prevalensi hipertensi (>25%) tertinggi ditemukan pada etnis Creoles, Hindustani, dan Jawa yang dihubungkan dengan demografis, gaya hidup, dan faktor risiko antropometri.

Hasil penelitan jumlah kehamilan didapatkan tidak berbeda bermakna antara PE dan non-PE. Hasil tersebut serupa dengan penelitian Nurnaningtyas L.A, Karyono S.K, dan Dina Dewi S.L.I. (2013) yaitu ibu hamil multipara dan primipara memiliki kemungkinan yang sama untuk terjadi PE berat. Hal tersebut disebabkan stress psikologis yang dialami.

Identifikasi jumlah pernikahan disini dimaksudkan adanya pergantian suami sebagai pendonor sperma. Jumlah pernikahan pada penelitian ini menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna antara PE dan non-PE. Hal tersebut berarti perubahan pasangan tidak menyebabkan PE. Penelitian ini didukung oleh penelitian lain yang menyatakan bahwa adanya pasangan yang berganti menyebabkan adanya pengenalan antigen, pembentukan kembali adaptasi

imun ibu dan toleransi terhadap antigen ayah baru (Zhang dan Patel, 2007) serta interval kelahiran (Basso O, Christensen K, Olsen J, *et al.*, 2001; Skjærven R, Wilcox AJ dan Lie RT, 2002 dalam Zhang dan Patel, 2007).

6.1.2 Karakteristik klinis partisipan

Karakteristik klinis pada penelitian ini akan dibahas tentang IMT, usia kehamilan, tekanan darah, proteinuria, dan kadar Hb.

Indeks Massa Tubuh menunjukkan hasil yang berbeda bermakna antara PE dan non-PE. Penemuan serupa tentang hubungan IMT dengan PE juga dilaporkan bahwa terjadi peningkatan berat badan pada wanita PE tetapi mungkin akibat edema (Binte faruky *et al.*, 2009, Kartika *et al.*, 2017).

Usia kehamilan menunjukkan hasil yang berbeda bermakna antara PE dan non-PE. Rerata usia kehamilan pada PE $37 \pm 3,3$ minggu, lebih lama dari non-PE. Hal ini dapat menyebabkan akumulasi ROS menjelang akhir kehamilan sehingga mengarah pada PE, namun volume antioksidan meningkat untuk menjaga keseimbangan oksidatif (Williamson *et al.*, 2017), yaitu adanya peningkatan aktivitas enzim G6PD.

Hasil pemeriksaan tekanan darah dan proteinuria menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara PE dan non-PE. Hal tersebut sesuai kriteria klasik diagnosis PE (*Internastional Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*, 2014).

Kadar Hb pada penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara PE dan non-PE. Kadar Hb pada dua kelompok tersebut menunjukkan adanya anemia ringan. Hal tersebut disebabkan sel darah merah dalam sistem peredaran darah, terus menerus terpapar ROS yang dihasilkan oleh ibu hamil.

Kumpulan ROS yang tidak dinetralkan akan menyebabkan degradasi heme akibat kondisi hipoksia dalam sirkulasi menyebabkan anemia dengan penurunan deformabilitas sel darah merah dan peningkatan degradasi heme yang signifikan (Mohanty, 2013).

6.2 Pola Perubahan Aktivitas Enzim G6PD, Kadar eNOS, dan F2-Isoprostan Pada PE

6.2.1 Pola perubahan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE

Rerata aktivitas enzim G6PD pada pasien PE lebih tinggi daripada non-PE. Perbedaan tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik. Hal tersebut artinya ada pengaruh PE terhadap aktivitas enzim G6PD.

Pengaruh PE terhadap peningkatan aktivitas enzim G6PD menunjukkan adanya peningkatan ROS dalam tubuh dan tentunya mekanisme sistem pertahanan, antioksidan, yang meningkat. Hal tersebut dapat disebabkan sumber utama ROS selama kehamilan adalah organ sentral yang mengatur kondisi ini, yaitu plasenta (Graham J Burton dan Jauniaux, 2011). Ketika stres oksidatif melampaui pertahanan antioksidan dalam plasenta, kerusakan oksidatif dapat merambat ke jaringan dista karena sel darah yang bersirkulasi dapat mengalami oksidasi ketika melewati plasenta iskemik pada pasien PE dan mengakibatkan merambatnya stres oksidatif ke jaringan distal (Borrego *et al.*, 2006). Namun, peningkatan stres oksidatif diimbangi oleh peningkatan antioksidan (Rani *et al.*, 2010). Peran enzim G6PD dalam menghasilkan koenzim NADPH sangat penting untuk melindungi sel dari stres oksidatif melalui sistem *glutathione* dan enzim katalase (CAT). *Reactive oxygen Species* diredam melalui NADPH yang

mendonorkan hidrogennya sehingga GSSG dapat dikatalisis oleh enzim *glutathione reductase* menjadi GSH. *Glutathione* yang tereduksi mendonorkan hidrogennya ke H_2O_2 yang dikatalisis oleh enzim *glutathione peroxidase*, menjadi senyawa yang tidak bersifat oksidan yaitu H_2O (Cox dan Nelson, 2008; Murray, *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, aktivitas enzim G6PD meningkat pada pasien PE menunjukkan mekanisme perlindungan pada pasien sejak awal kehamilan dengan kenaikan aktivitas enzim G6PD (Leopold *et al.*, 2003; Afzal-ahmed *et al.* 2007; Salvador-pascual, Flores, dan Vin, 2016).

Selain sistem *glutathione*, sistem antioksidan utama yang lain berperan, seperti katalase dan superoksida dismutases (SOD) membutuhkan NADPH perlu dievaluasi. Namun tidak dievaluasi pada penelitian ini. Oleh karena itu, evaluasi aktivitas katalase dan SOD sangat diperlukan untuk mendukung penelitian ini karena ada kemungkinan bahwa ekspresi lebih enzim G6PD secara langsung meningkatkan aktivitas katalase dengan menyediakan NADPH untuk terikat pada alosterik *site* dan. SOD mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida yang kemudian membutuhkan reduksi oleh sistem *glutathione* atau katalase untuk mengubah hidrogen peroksida menjadi lebih sedikit tidak beracun, walaupun SOD tidak secara langsung menggunakan NADPH (Z. Zhang *et al.*, 2012).

6.2.2 Pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE

Rerata kadar eNOS pada pasien PE lebih tinggi daripada non-PE dan perbedaan tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian pengaruh PE terhadap aktivitas enzim G6PD. Menurut Leopold *et al.*, 2003b menyatakan transfer gen *Adenoviral-mediated gene transferred of G6PD* pada aorta kelinci menyebabkan

ekspresi enzim G6PD yang berlebihan dalam sel endotel vaskular menurunkan akumulasi ROS sebagai respons terhadap stres oksidatif eksogen dan endogen serta meningkatkan kadar bioavailabilitas NO. Hal ini dikarenakan, enzim G6PD adalah sumber utama NADPH di endotelium vaskular. Peran NADPH juga mengatur aktivitas enzim yang membutuhkan NADPH sebagai kofaktor, termasuk eNOS. NADPH mengikat langsung ke domain reduktase dari eNOS (Jian Zhang *et al.*, 2001) dan diperlukan untuk mempertahankan tetrahydrobiopterin (BH₄) melalui sintesis *de novo* dan jalur penyelamatan reduktase dihydrofolate reduktase (Jian Zhang *et al.* 2001). Endothelial NOS *coupling* akan meningkat dengan adanya NADPH. Oleh karena itu, aktivitas enzim G6PD merupakan salah satu mekanisme kompensasi perlindungan sel endotel vaskular akibat peningkatan stres oksidatif dan mempertahankan tingkat bioavailable NO untuk mencegah disfungsi endotel (Matsubara *et al.*, 2015).

6.2.3 Pola perubahan kadar F2-isoprostan pada pasien PE

Rerata kadar F2-isoprostan menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok, namun rerata kadar F2-isoprostan pada kelompok PE lebih rendah daripada non-PE.

Hasil penelitian ini seiring dengan hasil aktivitas enzim G6PD. Peningkatan aktivitas enzim G6PD menghasilkan NADPH yang berfungsi membantu meredam ROS sehingga lipid sebagai target utama untuk serangan radikal bebas mengalami penurunan lipid peroksidasi (F2-isoprostan) sebagai ciri khas adanya kondisi stres oksidatif (Milne *et al.*, 2012). F2-isoprostan, adalah senyawa produksi lipid peroksidasi, dianggap lebih mewakili penanda stres oksidatif dan lebih berkorelasi dengan sitokin inflamasi, seperti CRP (*C-reactive*

protein), IL-6 (*interleukin-6*), dan TNF- α (*tumor necrosis factor α*) dibandingkan dengan MDA (Ouyang *et al.*, 2009). Sehingga dalam penelitian lanjutan dapat dilakukan pemeriksaan sitokin yang berhubungan dengan stress oksidatif, seperti CRP, IL-6, dan TNF- α .

6.2.4 Pola perubahan kadar eNOS dan F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD pada pasien PE

Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara produksi ROS yang meningkat dengan penurunan antioksidan, Pada PE, iskemik plasenta menyebabkan stres oksidatif akibat produksi ROS yang meningkat. Perubahan ROS mengaktifkan enzim G6PD. Pada sel endotel vaskuler, enzim G6PD adalah sumber utama NADPH. Peran NADPH mengatur aktivitas enzim yang membutuhkan NADPH sebagai kofaktor, termasuk enzim eNOS. Pengaturan enzim eNOS melalui NADPH terjadi secara langsung yaitu NADPH berikatan langsung pada molekul enzim eNOS di *reductase domain site* (Zhang *et al.*, 2001). Pengikatan NADPH di enzim eNOS merupakan syarat untuk mempertahankan keberadaan BH₄ melalui sintesis *de novo* atau jalur *salvage dihydrofolate reductase*. Ketika kofaktor ini tidak terikat pada site enzim eNOS maka, eNOS telah terbukti menghasilkan $\cdot\text{O}_2^-$ yang lebih disukai oleh NO sehingga terbentuk ONOO⁻ (Vasquez-vivar *et al.*, 1998; Xia *et al.*, 1998; Gopalakrishna *et al.*, 2016). Hal tersebut sama dengan hasil penelitian ini yaitu peningkatan rerata kadar eNOS berdasarkan kenaikan aktivitas enzim G6PD, cenderung sama, menunjukkan mekanisme proteksi terhadap sel endotel, walaupun peningkatan ini tidak bermakna secara statistik. Hal tersebut diduga karena NADPH yang dihasilkan dari aktivitas enzim G6PD, terikat ke dalam

reductase domain site dari enzim eNOS. Penurunan pola kadar F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD menunjukkan bahwa terjadi penurunan ROS yang bereaksi dengan lipid, sehingga lipid peroksidasi turun dan akibatnya senyawa hasil lipid peroksidasi yaitu F2-isoprostan kadarnya menurun.

Jadi berdasarkan aktivitas enzim G6PD didapatkan pola kadar eNOS yang tetap namun cenderung meningkat dan pola kadar F2-isoprostan yang cenderung menurun. Pola perubahan tersebut adalah mekanisme kompensasi untuk proteksi ROS sejak awal kehamilan.

6.3 Temuan Baru

Tingginya aktivitas enzim G6PD pada pasien PE dibandingkan non-PE, sejalan dengan hasil pemeriksaan kadar eNOS dan F2-isoprostan pada pasien PE dan non-PE. Selain itu, adanya pola perubahan berdasarkan aktivitas enzim G6PD terhadap kadar eNOS dan F2-isoprostan menunjukkan hasil yang sejalan, dimana pola kadar eNOS tetap namun cenderung meningkat dan pola kadar F2-isoprostan yang menurun bermakna. Semua pola perubahan tersebut, merupakan mekanisme kompensasi untuk perlindungan dari ROS pada ibu hamil dengan preeklampsia.

6.4 Keterbatasan Penelitian

1. Tidak diketahuinya/kurang lengkapnya data faktor risiko terjadinya PE, seperti berat badan sebelum hamil dan stresor psikologis.
2. Tidak dilakukan pengukuran enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan CAT.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian yang telah disampaikan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat pola perubahan aktivitas G6PD pada pasien PE, berupa peningkatan aktivitas G6PD pada pasien PE.
2. Terdapat pola perubahan kadar eNOS pada pasien PE, berupa peningkatan kadar eNOS pada pasien PE.
3. Tidak didapatkan pola perubahan kadar F2-isoprostan pada pasien PE. Namun terdapat kecenderungan penurunan rerata kadar F2-isoprostan pada pasien PE.
4. Terdapat pola perubahan kadar F2-isoprostan berdasarkan aktivitas enzim G6PD berupa hubungan yang berbanding terbalik antara G6PD dan F2-isoprostan. Sedangkan terkait dengan eNOS tidak didapatkan pola perubahan bermakna, namun terdapat kecenderungan peningkatan rerata kadar eNOS berdasarkan aktivitas G6PD (kecenderungan hubungan yang berbanding lurus). Hal tersebut menunjukkan adanya mekanisme kompensasi sebagai upaya proteksi pada preeklampsia.

7.2 Saran

1. Dilakukan observasi pasien sejak awal kehamilan hingga terjadi PE.

2. Dilakukan pencatatan lebih lengkap terkait data pasien sebelum hamil seperti berat badan dan stress psikologis.
3. Dilakukan pemeriksaan sistem antoksidan lain, yaitu enzim katalase dan SOD secara serial di awal kehamilan hingga terjadi PE.
4. Dilakukan pemeriksaan tentang peran enzim G6PD dengan membandingkan PE tanpa komplikasi dan PE dengan komplikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal-ahmed, I., Mann, G.E., Shennan, A.H., Poston, L., Naftalin, R.J., 2007. Preeclampsia inactivates glucose-6-phosphate dehydrogenase and impairs the redox status of erythrocytes and fetal endothelial cells 42, 1781–1790.
- Al-Gubory, K.H., Fowler, P.A., Garrel, C., 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42, 1634–1650.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Walter, P., Raff, M., Roberts, K., 2015. *Molecular Biology of the Cell*, Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015.
- Au, S.W.N., Gover, S., Lam, V.M.S., Adams, M.J., 2000. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: the crystal structure reveals a structural NADP + molecule and provides insights into enzyme deficiency. *Structure* 8, 293–303.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L., 2008. *Biochemistry*, 5th ed. W.H. Freeman and Company and Sumanas, Inc.
- Binte faruky, K.S., Begum, N., Begum, S., Ali, T., Ferdousi, S., Amin, A.H., 2009. Study of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD) Status in Preeclampsia. *BSMMU J.* 2, 56–60.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O., 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense 9–19.
- Borrego, E., Proverbio, T., Marín, R., Proverbio, F., 2006. Lipid Peroxidation and Ca-ATPase Activity of Basal Plasma Membranes of Syncytiotrophoblast from Normotensive Pregnant Women 128–132.
- Burton, G.J., Jauniaux, E., 2011. Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 25, 287–299.
- Burton, G.J., Yung, H.-W., Cindrova-Davies, T., Charnock-Jones, D.S., 2009. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta* 30 Suppl A, S43–548.
- Cai, H., Harrison, D.G., 2000. Endothelial Dysfunction in cardiovascular Disease-The Role of Oxidant Stress. *Circ. Res.* 840–844.
- Cappelini, M.D., Fiorelli, G., 2008. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 371, 64–74.
- Cox, M.M., Nelson, D.L., 2008. *Sample Chapters and Art for Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed. W.H. Freeman and Company, New York.
- D.G, H., 1997. Endothelial Function and Oxidant Stress. *Clinn Cardiol* 20, 1–7.
- DIALAB Production und Vertrieb von chemisch –, 2018. G6PDH (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase).
- Duley, L., 2009. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin. Perinatol.* 33, 130–137.
- Elabscience, 2017. 8-epi-PGF2 α (8-Epi-Prostaglandin F2 Alpha) ELISA Kit.
- Elabscience Botechnology, 2018. 8-epi-PGF2 α (8-Epi-Prostaglandin F2 Alpha) ELISA Kit. Catalog No : E-EL-0041.
- Elvira, P., Judith, D., Michele, J.R., Gipson, Q.R.R.F., 2015. Maternal Characteristics and Clinical Diagnoses Influence Obstetrical Outcomes in Indonesia. *Matern. Child Health J.* 1624–1633.


- Gopalakrishna, D., Pennington, S., Karaa, A., Clemens, M.G., Sciences, B., Carolina, N., Carolina, N., Carolina, N., 2016. ET-1 stimulates superoxide production by enos following exposure of vascular endothelial cells to endotoxin. *SHOCK* 46, 60–66.
- International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy, 2014. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health* The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: A revised statement from the ISSHP. *Pregnancy Hypertens. An Int. J. Women's Cardiovasc. Heal.* 4, 97–104.
- Jasovic-siveska, E., Jasovic, V., 2011. Demographic characteristics in preeclamptic women in Macedonia 748–754.
- Kartika, A.R., Ilham, M., Akbar, A., Umiastuti, P., 2017. Risk Factor of Severe Preeclampsia in Dr . Soetomo Hospital Surabaya in 2015 25, 6–9.
- Kawamoto, F., Matsuoka, H., Kanbe, T., Tantular, I.S., Pusarawati, S., Kerong, H.I., Damianus, W., Mere, D., Dachlan, Y.P., 2006. Further investigations of glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in Flores Island, eastern Indonesia. *J. Hum. Genet.* 51, 952–957.
- Krishnadath, I.S.K., Jaddoe, V.W. V., Venrooij, L.M.N., Toelsie, J.R., 2016. Ethnic differences in prevalence and risk factors for hypertension in the Suriname Health Study: a cross sectional population study. *Popul. Health Metr.*
- Kumari, N., Dash, K., Singh, R., 2016. Relationship between Maternal Age and Preeclampsia. *15*, 55–57.
- Lemeshow, S., Hosmer Jr, D.W., Klar, J., Lwanga, S.K., 1990. Part 1: Statistical Methods for Sample Size Determination. *Adequacy Sample Size Heal. Stud.* 247.
- Leopold, J.A., Zhang, Y., Scribner, A.W., Stanton, R.C., Loscalzo, J., 2003. Glucosa-6-Phosphate Dehydrogenase Overexpression Decreases Endothelial Cell Oxidant Stress and Increases Bioavailable Nitric Oxide. Comparisons with NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase. *Arter. Thromb Vasc Biol* 23, 411–417.
- Leslie, N.R., 2006. The Redox Regulation of PI 3-Kinase-Dependent Signaling. *Antioxid. Redox Signal.* 8, 1765–1774.
- Marseglia, L., Angelo, G.D., Manti, S., Arrigo, T., Barberi, I., Reiter, R.J., Gitto, E., 2014. Oxidative Stress-Mediated Aging during the Fetal and Perinatal Periods. *Oxidative Med. Cell. Longev* 2014, 1–8.
- Maryam, K., Khalil, A., Abolghasem, J., 2016. Variations of malondialdehyde in pre-eclampsia. *Hypertens. Pregnancy* 35, 346–349.
- Matsubara, K., Higaki, T., Matsubara, Y., Nawa, A., 2015. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 4600–4614.
- Maynard, S.E., Min, J., Merchan, J., Lim, K.-H., Li, J., Mondal, S., Libermann, T.A., Morgon, J.P., Sellke, F.W., Stillman, I.E., Epstein, F.H., Sukhatme, V.P., Karumanchi, S.A., 2003. Excess Placental Soluble fms-like Hypertension, and Proteinuria in. *J. Clin. Invest.* 111, 649–58.
- Mehta, A., Mason, P.J., Vulliamy, T.J., 2000. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 13, 21–38.
- Milne, G.L., Yin, H., Hardy, K.D., Davies, S.S., Ii, L.J.R., 2012. Isoprostane

- Generation and Function. *Chem Rev* 111, 5973–5996.
- Ministry of Health of Ukraine Kharkiv National Medical University, Study Of Arterial Pulse And Blood Pressure, 2017.
- Mohanty, J.G., 2013. *Hematology & Blood Disorders* 4, 9864.
- Münzel, T., Gori, T., Bruno, R.M., Taddei, S., 2010. Is oxidative stress a therapeutic target in cardiovascular disease? *Eur. Heart J.* 31, 2741–2749.
- Murray, R.K., Bender, D.A., Botham, K.M., Kennelly, P.J., Victor, W., Weil, P.A., 2018. *Harper 's Illustrated Biochemistry* , 31e, 31st ed. McGraww Hill, New York.
- Nordberg, J., Arner, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. *Free Radic. Biol. Med.* 31, 1287–1312.
- Nurnaningtyas, L., Karyono, S.S., I, D.D.S.L., 2013. Faktor Resiko Preeklampsia Berat di Ruang Bersalin Rumah Sakit Umum Daerah DR. Moh. Soewandhi Surabaya. *J. Ilmu Kesehat.* 2, 32–40.
- Ouyang, Y., Li, S., Zhang, Q., Cai, H., Chen, H., 2009. Inflammatory and Oxidative Stress in Preeclampsia 56–62.
- Paolo, M., Barnes, P.J., II, L.J.R., 2004. Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *FASEB J.* 18, 1791–1800.
- Powe, C.E., Levine, R.J., Karumanchi, S.A., 2011. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation* 123, 2856–69.
- Rani, N., Dhingra, R., Arya, D.S., Kalaivani, M., Bhatla, N., Kumar, R., 2010. Role of oxidative stress markers and antioxidants in the placenta of preeclamptic patients. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 36, 1189–1194.
- RayBiotech, 2017. RayBio ® Human eNOS ELISA Kit. Catalog #: ELH-ENOS.
- Roberts, J.M., Druzin, M., August, P.A., Gaiser, R.R., Bakris, G., Granger, J.P., Barton, J.R., Jeyabalan, A., Bernstein, I. a, Johnson, D.D., Karamanchi, S.A., Spong, C.Y., Lindheiner, M.D., Tsingas, E., Owens, M.Y., Martin Jr, J.N., Saade, G.R., Sibai, B.M., 2012. ACOG Guidelines: Hypertension in pregnancy, American College of Obstetricians and Gynecologists. The American.
- Salvador-pascual, A., Flores, J.M., Vin, J., 2016. G6PD protects from oxidative damage and improves healthspan in mice. *Nat. Commun.* 1–9.
- Schlembach, D., 2003. Pre-eclampsia - still a disease of theories. *Fukushima J. Med. Sci* 49, 69–115.
- Semenza, G.L., 2011. Hypoxia-inducible factor 1: Regulator of mitochondrial metabolism and mediator of ischemic preconditioning. *Biochim. Biophys. Acta* 1813, 1263–1268.
- Shimizu, H., Tamam, M., Augustinus, S., Ishida, T., 2005. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and Southeast Asian ovalocytosis in asymptomatic Plasmodium carriers in Sumba island , Indonesia. *J. Hum. an Genet.* 50, 420–424.
- Soetjipto, Nugroho, R.A.B., 2015. Oksidan, Radikal Bebas, dan Antioksidan. In: *Buku Ajar Biokimia Kedokteran FK Universitas Airlangga.* pp. 1–36.
- Staff, A.C., Halvorsen, B., Ranheim, T., 2006. Elevated level of free 8-iso-prostaglandin F 2 α in the decidua basalis of women with preeclampsia 1211–1215.
- Stoes E, Kastelein J, C.F., 1997. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function

- in hypercholesterolemia. *J. Clin. Invest.* 99, 41–46.
- Suryantoro, P., 1996. Formazan ring method: a simple test for screening of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency in the neonates. *Berkala Ilmu Kedokteran* 28, 91–94.
- Vasquez-vivar, J., Kalyanaraman, B., Martasek, P., Hogg, N., Masters, B.S.S., Karoui, H., Tardos, P., Kirkwood A. Pritchard, J., 1998. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase : The influence of cofactors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 9220–9225.
- Viridis, A., Bacca, A., Colucci, R., Duranti, E., Fornai, M., Materazzi, G., Ippolito, C., Bernardini, N., Blandizzi, C., Bernini, G., Taddei, S., 2013. Endothelial dysfunction in small arteries of essential hypertensive patients: Role of cyclooxygenase-2 in oxidative stress generation. *Hypertension* 62, 337–344.
- Vulliamy, T.J., Kaeda, J.S., Ait-Chafa, D., Mangerini, R., Roper, D., Barbot, J., Mehta, A.B., Athanassiou-Metaxa, M., Luzatto, L., Mason, P.J., 1998. Clinical and haematological consequences of recurrent G6PD mutations and a single new mutation causing chronic nonspherocytic haemolytic anaemia. *Br. J. Haematology* 101, 670–675.
- Wang, C.N., Chen, J.Y.S., Sabu, S., Chang, Y.L., Chang, S.D., Kao, C.C., Peng, H.H., Chueh, H.Y., Chao, A.S., Cheng, P.J., Lee, Y.S., Chi, L.M., Wang, T.H., 2011. Elevated amniotic fluid F2-isoprostane: A potential predictive marker for preeclampsia. *Free Radic. Biol. Med.* 50, 1124–1130.
- Williamson, R.D., McCarthy, C., McCarthy, F.P., Kenny, L.C., 2017. Oxidative stress in pre-eclampsia; have we been looking in the wrong place? *Pregnancy Hypertens.* 8, 1–5.
- Xia, Y., Tsai, A., Berka, V., Zweier, J.L., 1998. Superoxide Generation from Endothelial Nitric-oxide Synthase. *ACa²⁺/calmodulin-dependent and tetrahydrobiopterin regulatory process.* *J. Biol. Chem.* 273, 25804–25808.
- Zhang, J., Marta, P., Paschke, R., Shea, T., Sue, B., Masters, S., Kim, J.P., 2001a. Crystal Structure of the FAD / NADPH-binding Domain of Rat Neuronal Nitric-oxide Synthase. *J. Biol. Chem.* 276, 37506–37513.
- Zhang, J., Marta, P., Paschke, R., Shea, T., Sue, B., Masters, S., Kim, J.P., 2001b. Crystal Structure of the FAD / NADPH-binding Domain of Rat Neuronal Nitric-oxide Synthase: Comparisons with NADPH-cytochrome P450 oxidoreductase. *J. Biol. Chem.* 276, 37506–37513.
- Zhang, J., Patel, G., 2007. Partner change and perinatal outcomes : a systematic review 21, 46–57.
- Zhang, Z., Yang, Z., Zhu, B., Hu, J., Liew, C.W., Zhang, Y., Leopold, J.A., Handy, D.E., Loscalzo, J., Stanton, R.C., 2012. Increasing Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase Activity Restores Redox Balance in Vascular Endothelial Cells Exposed to High Glucose 7.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Laik Etik



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 94/EC/KEPK/FKUA/2019

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

**EFEK DEFISIENSI ENZIM GLUKOSE 6-FOSFAT-DEHIDROGENASE TERHADAP
DISFUNGSI ENDOTEL PLASENTA PADA PASIEN PREEKLAMPSIA**

PENELITI UTAMA :

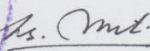
LINA LUKITASARI


UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

**SMF Ilmu Kebidanan dan Ginekologi RS di Surabaya dan Lembaga Penyakit Tropis
Universitas Airlangga**

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Surabaya, 18 Maret 2019


Ketua


Prof. Dr. H. Eddy Bagus Wasito, dr, MS., Sp.MK (K)

Lampiran 2. *Informed Consent***LEMBAR INFORMASI UNTUK SUBYEK PENELITIAN**

Judul Penelitian: Efek Defisiensi Glukose 6-Fosfat Dehidrogenase terhadap Disfungsi Endotel pada pasien PE

Peneliti

dr. Lina Lukitasari, M.Si (Dep. Biokimia Kedokteran FK Unair)

Pembimbing

Prof. Dr. Suhartati, dr., M.Si (Dep. Biokimia Kedokteran FK Unair).

Dr. Aditiawarman, dr., Sp.OG(K) (SMF Obstetri dan Ginekologi, RSUD Dr. Soetomo, Surabaya)

Pembimbing Lapangan

Masyhudi, dr., Sp.OG(K)

Kepada ibu ditawarkan menjadi subjek penelitian ini. Sebelum ibu memutuskan menjadi subjek penelitian ini, penting untuk mengetahui dan mengerti segala sesuatu tentang penelitian ini. Bila ada kata-kata yang ibu tidak mengerti dalam lembar informasi ini, silahkan langsung ditanyakan kepada dokter tim peneliti untuk memperoleh kejelasan.

Mengapa penelitian ini perlu dilakukan:

Defisiensi G6PD (glukosa 6-fosfat dehidrogenase) merupakan penyakit gangguan enzim yang sering ditemukan di dunia, terutama daerah tropis. Penyakit defisiensi G6PD terdeteksi sekitar 400 juta penduduk secara global. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa distribusi prevalensi defisiensi G6PD, secara global dan geografis, terdapat banyak di daerah endemis malaria. Hal ini telah dibuktikan dengan ditemukannya pasien yang menderita defisiensi G6PD sekitar 4-8% di daerah endemis malaria yaitu Kepulauan Flores, Propinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) tahun 2005 (Kawamoto F. *et al.*, 2006) dan Kepulauan Sumba Timur, Propinsi NTT terdeteksi defisiensi G6PD sekitar 8% laki-laki dan 8,18% perempuan pada tahun 2005 (Shimizu H. *et al.*, 2005).

Glukosa 6-fosfat dehidrogenase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi pertama dalam jalur pintas pentosa fosfat (*Pentosa Phosphate Pathway*), dengan tujuan untuk menghasilkan dan menyediakan NADPH (*reducing energy nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) untuk seluruh sel. Keberadaan NADPH di dalam sel diperlukan untuk melindungi diri dari stres oksidatif yang dicetuskan oleh beberapa agen oksidan (Berg J. M., 2008).

Defisiensi G6PD adalah penyakit turunan yang diwariskan secara resesif terkait kromosom X (*X-chromosom linked enzyme*) dengan gejala klinis paling sering adalah kuning pada bayi baru lahir dan pucat akibat darah yang hancur yang disebabkan adanya paparan oksidan (polusi, obat panas, dan lain-lain).

Gangguan atau komplikasi PE pada kehamilan yang ditandai dengan peningkatan tekanan darah (tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg) dan adanya proteinuri (≥ 300 mg/ 24 jam) pada usia kehamilan 20 minggu. Laporan dari rekam medis di RSUD (Rumah Sakit Umum Daerah) Dr. Moh. Soewandhi

Surabaya, perempuan yang datang bersalin dengan diagnosis PE dan eklamsi rata-rata sebanyak 45 pasien tiap bulan pada tahun 2012. Pada tahun 2013, jumlah tersebut mengalami peningkatan sebanyak 53 kunjungan di bulan Januari dan 54 kunjungan di bulan Februari (Nurnaningtyas, dkk., 2013). Pada penelitian di RSUD Dr. Soetomo Surabaya, didapatkan angka kejadian 208 (10%) kasus PE berat (PEB) di tahun 2013 (Rachmania Oktaviani, 2015). Selain dampak kematian ibu, PEB dapat menyebabkan angka kesakitan ibu (seperti stroke dan *liver rupture*) dan gangguan pertumbuhan janin, seperti lahir premature dan *intrauterine growth retardation*.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari etiopatofisiologi PE tetapi sampai saat ini masih menjadi misteri. Oleh karena itu, Schlembach (2003) menyebut penyakit ini dengan *the disease of theories*, dengan salah satu penyebabnya adalah stres oksidatif. G6PD adalah enzim yang sangat berperan dalam meredam radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif. Penelitian tentang defisiensi G6PD pada pasien PE masih sedikit dilakukan di luar negeri dan belum dilakukan di Indonesia, sehingga perlu dilakukan penelitian kemungkinan adanya defisiensi G6PD dalam peranannya menimbulkan stres oksidatif pada *cytotrophoblast* plasenta akibat rendahnya kadar NADPH sebagai ko-enzim dalam perkembangan menimbulkan sindroma PE. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang efek defisiensi G6PD terhadap disfungsi endothel pada pasien PE.

Mengapa tidak dilakukan pada hewan coba?

Penelitian ini sulit dilakukan pada hewan coba karena belum ada standar baku untuk membuat hewan coba hamil dengan kondisi PE.

Mengapa subjek diikuti sertakan dalam penelitian?

Ibu ditawarkan menjadi subjek dalam penelitian ini karena data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat digunakan untuk mengetahui status kesehatan ibu yang terkait dengan ada tidaknya defisiensi G6PD secara gratis. Apabila dalam pemeriksaan ibu diketahui menderita defisiensi G6PD maka informasi tersebut akan dapat dipergunakan ibu untuk berkonsultasi kesehatan kepada dokter yang dituju. Hal ini disebabkan karena G6PD sangat penting dalam proses detoksifikasi oksidan yang sering kita dapatkan di lingkungan sehingga tentunya akan mempengaruhi kesehatan ibu jika nanti didapatkan adanya defisiensi G6PD.

Bagaimana urutan prosedur penelitian?

Setelah ibu menyetujui dengan sukarela ikut dan menandatangani kepersertaan penelitian → pengambilan darah vena di lengan sekitar 6 mL → pemeriksaan laboratorium darah lengkap, kadar G6PD, kadar enzim eNOS, dan kadar isoprostan → hasil pemeriksaan akan disampaikan ke dokter yang bertugas dan ibu akan dijelaskan apabila hasil G6PD positif serta apa yang harus di hindari.

Pejelasan tentang perlakuan yang akan di alami subjek penelitian:

Ibu akan dilakukan pengambilan darah sekitar 6 mL dengan jarum suntik menggunakan venoject yang akan mengurangi rasa tidak nyaman pada ibu. Perawat/ petugas medis yang sudah berpengalaman yang akan melakukan pengambilan darah.

Manfaat penelitian untuk subjek dan manfaat untuk orang lain:

Manfaat untuk subjek penelitian dan orang lain:

1. Mengetahui hasil pemeriksaan yang di teliti (aktivitas G6PD, aktivitas enzim eNOS, kadar F2-isoprostan),
2. Mendapat penjelasan tentang penyakit kekurangan G6PD dan upaya untuk mencegah keparahan penyakit akibat defisiensi G6PD.
3. Pemeriksaan gratis

Risiko yang mungkin timbul

Risiko yang mungkin timbul pada penelitian ini adalah saat pengambilan darah di lokasi penusukan jarum yaitu pembekuan (hematom) darah yang sangat minimal.

Follow up subjek penelitian

Apabila hasil pemeriksaan menunjukkan positif defisiensi G6PD maka subjek penelitian akan kami *follow up* dengan memberikan penjelasan kepada subjek atau keluarga tentang bahayanya dan cara menghindari supaya tidak memberikan gejala berat. *Follow up* dilakukan oleh dokter jaga poliklinik yang bertugas dan tim peneliti yang juga adalah dokter. Follow up hanya dilakukan untuk hal yang berkaitan dengan penelitian.

Kerahasiaan

Kerahasiaan identitas pribadi subjek penelitian ini akan kami jaga dan tidak akan dimunculkan dalam hasil penelitian tetapi dicantumkan nomor urut, jenis kelamin dan umur.

Pengunduran diri

Keikutsertaan ibu dalam penelitian ini bersifat sukarela dan bukanlah suatu hal yang bersifat wajib, namun demi kemajuan ilmu, kami harapkan berkenan untuk ikut serta dalam penelitian ini. Apabila tidak berkenan, ibu juga berhak menolak ikut serta dalam penelitian ini atau mengundurkan diri dalam kepersertaan dalam penelitian ini tanpa pengaruh perawatan medik ibu.

Penanggung jawab penelitian

dr. Lina Lukitasari, M.Si	HP. 08123097534	Peneliti
Dr.dr.Aditiawarman, Sp.OG(K)	HP. 08123005116	Pembimbing, Penanggung jawab Klinis
Prof. Dr. dr. Suhartati, M.S.	HP. 085648054475	Pembimbing

Surabaya, tanggal.....

Yang menerima penjelasan,

Yang memberi penjelasan,

(hubungan dengan subjek)

(Lina Lukitasari, dr., M.Si)

LEMBAR PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN
(INFORMED CONSENT)

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :
Umur :
Alamat :
Tlp/ Email :
Fakultas/ Instansi :

Sesudah mendengarkan penjelasan yang diberikan dan diberikan kesempatan untuk menanyakan yang belum dimengerti, dengan ini memberikan :

PERSETUJUAN

Mengikuti penelitian sebagai subjek penelitian dengan judul penelitian “Efek Defisiensi G6PD terhadap Disfungsi Endothel Plasenta pada Pasien PE” dan sewaktu-waktu saya berhak mengundurkan diri.

Demikian persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan.

Surabaya,-.....

Yang membuat pernyataan

(.....)

Saksi I
(Dari pihak penelitian)

Saksi II
(Dari pihak subjek penelitian)

(.....)

(.....)

Hubungan dengan subjek: diri sendiri/ suami/ orang tua

LEMBAR PERSETUJUAN TINDAKAN MEDIS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :

Umur :

Alamat :

Tlp/ Email :

Fakultas/ Instansi :

Sesudah mendengarkan penjelasan yang diberikan dan diberikan kesempatan untuk menanyakan yang belum dimengerti, dengan ini memberikan :

PERSETUJUAN

Untuk dilakukan tindakan medis berupa pengambilan darah perifer sebanyak 6 mL,

Dengan judul penelitian “Efek Defisiensi G6PD terhadap Disfungsi Endothel Plasenta pada Pasien PE”.

Sewaktu-waktu saya berhak mengundurkan diri.

Demikian persetujuan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan.

Surabaya,-.....

Yang membuat pernyataan

(.....)

Saksi I
(Dari pihak penelitian)

Saksi II
(Dari pihak subjek penelitian)

(.....) (.....)

Hubungan dengan subjek: diri sendiri/ suami/ orang

tua

LEMBAR PENGUNDURAN DIRI SEBAGAI SUBJEK PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama :

Umur :

Alamat :

Tlp/ Email :

Fakultas/ Instansi :

Dengan ini menyatakan **MENGUNDURKAN DIRI** sebagai subjek penelitian

Dengan judul penelitian “Efek Defisiensi G6PD terhadap Disfungsi Endothel Plasenta pada Pasien PE”.

Demikian lembar pengunduran diri ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan.

Surabaya,-.....

Yang membuat pernyataan

(.....)

**Saksi I
(Dari pihak penelitian)**

**Saksi II
(Dari pihak subjek penelitian)**

(.....) (.....)

Hubungan dengan subjek: diri sendiri/ suami/ orang tua

KUESIONER PASIEN

Dengan hormat, nama saya, Lina Lukitasari, dr., M.Si, Staf Departemen Biokimia Kedokteran FK UNAIR. Saat ini saya sedang melakukan penelitian Efek Defisiensi Enzim Glukose 6-Fosfa Dehidrogenase terhadap Disfungsi Endotel pada pasien PE di Surabaya.

Keikutsertaan Anda dalam penelitian ini adalah secara sukarela dan menguntungkan semua pihak baik responden, peneliti, pelayanan kesehatan dan masyarakat luas. Setelah Anda setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian ini dan menandatangani surat persetujuan, maka Anda akan kami, peneliti, wawancara.

Semua data yang dikumpulkan dalam penelitian ini akan dirahasiakan oleh tim peneliti dan tidak terbuka bagi masyarakat atau pihak lain tanpa persetujuan para peneliti. Laporan yang akan dihasilkan dari penelitian ini tidak akan mencantumkan identitas responden yang bersangkutan dengan hal yang dilaporkan.

Kami sangat mengharapkan Bapak/ Ibu/ Saudara/i bersedia untuk memberikan keterangan mengenai identitas dan berbagai macam faktor yang dapat berpengaruh pada perawatan pasien secara keseluruhan.

Atas segala bantuan partisipasinya dan kerjasamanya, Kami ucapkan banyak terima kasih.

Nomor Rekam Medis :
 Tanggal Pengambilan :
 Rumah Sakit :
 Nomor Identitas Pasien (di :
 isi oleh peneliti)

Identitas pasien

Nama (initial) :
 Jenis kelamin : L / P
 Tempat/ tanggal :
 Lahir
 Status Perkawinana : Kawin ke-...../ tidak kawin
 Suku :
 Alamat tinggal :
 :
 Telp :
 Pendidikan terakhir :
 Pekerjaan :

Pemeriksaan Fisik Umum, tanggal.....

Tekanan darah :
 Suhu :
 Denyut nadi :
 Frekuensi napas :
 Berat badan :
 Tinggi badan :
 Edema :
 Anemia/ Iketerus :

Skrining riwayat penyakit dari rekam medis dan hasil laboratorium terakhir yang ada (dengan tanggal):

Tekanan darah : MmHg
 Fungsi ginjal :
 Fungsi Hati :
 Analisis urin :
 Darah :
 Lengkap

Riwayat kehamilan saat ini

Usia saat ibu hamil :
 sekarang
 HPHT :
 Usia kehamilan :
 Mual : Ada/ tidak,.....
 Muntah : Ada/ tidak,.....
 Masalah pada : Ada/ tidak,.....
 kehamilan sekarang
 Pemakaian obat- : Ada/ tidak,.....

obatan (termasuk
jamu/ narkoba/
parasetamol)

Riwayat obstetri lalu

Riwayat Jumlah :
Pernikahan
Riwayat kehamilan : G.....P.....,.....,.....
Riwayat persalinan: : Anak I, dst.....

Hipertensi : Ada/ tidak
kehamilan pada Kehamilan ke-.....
kehamilan terdahulu Tekanan darah:.....
Usia ibu.....

Riwayat penyakit

Tekanan : Kapan pertama kali terdiagnosis hipertensi?
darah tinggi Adakah keluhan pusing, bengkak, dll?
Apakah berobat rutin?
Apakah obat yang diminum? Sebutkan jika jawabannya iya!

Penyakit lain: :
Malaria
Anemia
defisiensi
besi, dll

Lampiran 3. Pemeriksaan Aktivitas G6PD

Tahap Pemeriksaan Aktivitas Enzim Glukosa-6-Fosfat Dehidrogenase

(DIALAB Production und Vertrieb von chemisch, 2018)

Prinsip Pemeriksaan

Glukosa-6-fosfat dehidrogenase mengkatalisis tahap pertama dari jalur pentosa fosfat, mengoksidasi glukosa-6-fosfat (G-6-P) menjadi 6-fosfoglukonat (6-PG) dan mereduksi NADP (bentuk teroksidasi) menjadi NADPH (bentuk tereduksi). *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADP) yang direduksi oleh G6PD menghasilkan G-6-P. Pembentukan NADPH sesuai dengan aktivitas G6PD dan diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 340 nm.

Pembentukan NADPH kedua oleh eritrosit 6-fosfoglukonat dehidrogenase (6-PGDH), yang akan dapat merancu, dihambat dengan *maleimide*, penghambat 6-PGDH

Sensitivitas

Perubahan minimum absorpsi dengan λ (panjang gelombang) 340 nm adalah $\Delta A/\text{menit} = 0,001$. Asumsi kadar haemoglobin (Hb) 12 g/dL dan hitung sel darah merah (SDM) $4,5 \times 10^6/\text{mm}^3$, aktivitas G6PD adalah 0,4 U/g Hb atau $10,8/10^{12}$ sel darah merah.

Spesifikasi

Oksidasi dari glukosa-6-fosfat oleh G6PD adalah spesifik. Adanya pembentuk NADPH yang tidak spesifik akibat oksidasi dari substrat lain oleh enzim endogenous selama pre-inkubasi. 6-fosfoglukonat dehidrogenase dihambat oleh maleimide yang terdapat dalam *reagent system*, mencegah pembentukan *additional* NADPH yang mungkin muncul akibat oksidasi 6-fosfoglukonat pada *initial reaction*.

Bahan dan Alat

Reagen 1 berisi NADP 1,5 mM, maleimide 12 mM, dan *buffer, stabilizers, lysing agent*. Reagen 2 berisi glukosa-6-fosfat 1,05 mM, garam magnesium, *buffer*

Tahap pemeriksaan

1. Reagen 1: Untuk prosedur pada instrumen otomatis, susun ulang isi setiap botol dengan volume air deionisasi yang tertera pada label. Aduk perlahan dan membalikkan beberapa kali untuk melarutkan lantan. Tunggu 2-3 menit. dan campur lagi. Untuk prosedur uji manual, tambahkan *Lyse Reagent* sebagai pengencer dan bukan air deionisasi
2. Reagen 2: Reagen 2 siap digunakan.
3. Sampel plasma 10 μ L
4. Prosedur *Manual test*:
Rekonstitusi R1 dengan menambahkan Reagen *Lyse* sebagai pengencer bukan air deionisasi.

Pipet dan campur ke dalam kuvet:

- Reagen 1 sebanyak 1000 μL dan sampel/kontrol sebanyak 10 μL di campur dan aduk hingga benar-benar menghentikan eritrosit.
- Campuran reagen 1 didiamkan pada suhu kamar (18 - 26 $^{\circ}\text{C}$) selama 5-10 menit.
- Reagen 2 ditambahkan sebanyak 2000 μL .
- Campuran reagen 1 dan 2 dicampur dengan membolak-balik beberapa kali.
- Campuran diatas diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit.
- Campuran diatas dibaca pada absorbansi 340 nm.
- Setelah itu, campuran diatas diinkubasi lagi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit.
- Campuran diatas dibaca pada absorbansi 340 nm.

5. Hitung dengan cara dibawah ini:

- $\Delta A/\text{menit} = \frac{A_2 - A_1}{5}$
- Aktivitas 6-PD diekspresikan sebagai $\text{U}/10^{12}$ eritrosit atau $\text{U}/\text{g Hb}$:

$$\text{G6PD } [\text{U}/10^{12} \text{ SDM}] = \frac{\Delta A/\text{menit} \times 3,01 \times 10^{12} \times \text{TCF}}{0,01 \times 6,22 \times (\text{N} \times 106) \times 1000}$$

$$\text{G6PD } [\text{U}/\text{g Hb}] = \Delta A/\text{menit} \times \frac{100 \times 3,01}{0,01 \times 6,22 \times (\text{N} \times 10^8) \times 1000} \times \text{TCF}$$

$$= \Delta A/\text{menit} \times \frac{4839}{\text{Hb (g/dL)}} \times \text{TCF}$$

Keterangan:

100 = Faktor untuk mengkonversi aktivitas menjadi 100 mL

3,01 = *Total reaction volume* (mL)

10^{12} = *Factor for expressing activity in 10^{12} cells*

0.01 = Volume sampel (mL)

6.22 = *Millimolar absorptivity of NADPH* pada panjang gelombang 340 nm

$\text{N} \times 10^6$ = ditetapkan *Red cell count (red cells/mm³)* setiap spesimen

1000 = Konversi *red cell count* dari mm^3 ke mL

TCF = *Temperature correction factor* (1 at 30 $^{\circ}\text{C}$)

N = *Red cell count divided by 10^6*



DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch – technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.
A – 2351 Wiener Neudorf, Austria, IZ-NO Süd, Hondastrasse, Objekt M55
Phone: ++43 (0) 2236 660910-0, Fax: ++43 (0) 2236 660910-30, e-mail: office@dialab.at

Dry Powder Reagents

G6PDH

(Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase)

UV, kinetic
2 Reagents

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of Glucose-6-phosphate dehydrogenase in human blood on photometric systems

REF	Kit Size	Content
Y04500	10 x 18 mL	10 x 6 mL R1 + 1 x 120 mL R2

Additionally offered:

Y17565SV	1 x 0.5 mL	G6PDH Calibrator
Y17560	6 x 0.5 mL	G6PDH Control Set

TEST PARAMETERS

Method:	UV, kinetic, increasing reaction
Wavelength:	340 nm
Temperature:	37°C
Sample:	Whole blood with EDTA, heparin or acid-citrate-dextrose (ACD)
Linearity:	Up to 21.0 U/g Hb or 609 U/10 ¹² RBC
Sensitivity:	0.4 U/g Hb or 11 U/10 ¹² RBC

SUMMARY [1]

G6PDH assays are most commonly performed to determine deficiency of G6PDH, which is widely prevalent throughout the world. It has been determined that G6PDH deficiency in red cells is the basis for certain drug-induced haemolytic anemias. This type of susceptibility to drug-induced hemolysis is often called "primaquine sensitivity" because studies which led to its characterization were made during investigations of the haemolytic properties of this antimalarial compound.

TEST PRINCIPLE

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) catalyzes the first step in the pentose phosphate shunt, oxidizing glucose-6-phosphate (G-6-P) to 6-phosphogluconate (6-PG) and reducing NADP to NADPH:



NADP is reduced by G6PDH in the presence of G-6-P. The rate of formation of NADPH is proportional to the G6PDH activity and is

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Whole blood collected in EDTA, heparin or acid-citrate-dextrose (ACD) is satisfactory [4-8].

Since activity is reported in terms of grams haemoglobin or the number of red blood cells, the haemoglobin concentration or red cell count must be determined prior to performing the G6PDH assay.

The integrity of erythrocytes collected in ACD is preserved even after prolonged storage so that obtaining accurate red cell counts usually poses no problem [6]. However, red cell counts on specimens collected in heparin become unreliable after about 2 days [6]. Thus, for heparinized samples, results are best reported in terms of haemoglobin concentration.

We suggest: Y04701 Hemoglobin Total Reagent.

For performing tests on automatic instruments, add 100 µl whole blood to 0.9 ml G6PDH Lyse Reagent and let stand for 5 minutes. Mix well. Use hemolysate as sample.

SAMPLE STABILITY AND STORAGE [9]

Whole blood: at 2 – 8 °C 7 days

Hemolysate: unstable

Do not freeze! Discard contaminated specimens.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

General laboratory equipment

Equipment and reagents for determining haemoglobin concentration or performing a red cell count.

MANUAL TEST PROCEDURE

Reconstitute R1 by adding Lyse Reagent as the diluent instead of deionized water.

Pipette into a cuvette:	
Reagent 1	1000 µL
Sample / Controls	10 µL
Mix thoroughly to completely suspend erythrocytes. Let stand at room temp. (18 – 26 °C) for 5 – 10 min. Then add R2:	
Reagent 2	2000 µL
Mix gently by inverting several times. Incubate at 37 °C for 5 minutes and read absorbance A1 at 340 nm vs. water. Incubate again for exact 5 min at 37°C and read absorb. A2.	

CALCULATION (light path 1 cm)

$$\Delta A/\text{min} = \frac{A_2 - A_1}{5}$$

G6PDH activity can be expressed as either U/g hemoglobin (Hb)

Lampiran 4. Pemeriksaan Kadar eNOS

Tahap Pemeriksaan Kadar eNOS

Human eNOS ELISA *Kit* RayBiotech

Nomor katalog #: ELH ENOS

Prinsip Pemeriksaan

Kit yang dipakai adalah human eNOS ELISA dari RayBiotech untuk memeriksa eNOS secara kuantitatif *in vitro enzyme-linked immunosorbent assay*. Sampel yang digunakan antara lain serum, plasma, dan supernatant kultur sel. Pemeriksaan ini menggunakan spesifik antibody dari manusia yang telah dilapiskan di sumuran. Standar dan sampel di tambahkan ke dalam sumuran dan eNOS yang terkandung dalam sampel akan terikat dalam sumuran oleh *immobilized antibody*. Tahap selanjutnya dilakukan pencucian dan penambahan *biotinylated anti-human eNOS antibody*, *HRP-conjugated streptavidin* ke dalam sumuran. Penambahan larutan *TMB substrate* dalam sumur akan memunculkan warna. Warna yang muncul merupakan proporsi jumlah ikatan eNOS. Kemudian tambahkan *Stop Solution* yang merubah warna biru menjadi kuning, setelah itu diukur intensitas warna dengan ELISA reader dengan λ 450 nm.

Sensitivitas

Dosis minimum *Human* eNOS yang dapat dideteksi adalah 0,4 ng/mL.

Spesifikasi

ELISA kit ini tidak dapat bercross-reactivity dengan beberapa sitokin seperti *human Adenosine Deaminase/ADA, AIF, AKR1C4, ASAH2, BCL-2, BID, Calreticulin, Calreticulin-2, CD314 (NKG2D), CD39L3/ENTPD3, CD51, CD99-L2, CDC25B, Cerberus 1, CHST2, Cochlin, CRELD2, DC-SIGNR/CD299, ENPP-2/Autotaxin, FABP4, Fc epsilon RI, FGF R5, GALNT2, GALNT3, GIF, GPR111, beta-Glucuronidase/GUSB, Inhibin A, LILRB4/CD85k/ILT3, Neuroglycan C/CSPG5, NKp46/NCR1, Neuronal Pentraxin R/NPTXR, ROR2, SCCA2, Siglec-2/CD22, SIRP alpha/CD172a, SorCS1, Trypsin 1/PRSS1, Trypsin 3/PRSS3.*

Bahan dan Alat

- eNOS Microplate (Item A) 96 sumur (12 strips x 8 sumur) dilapisi dengan *antiHuman* eNOS yang dapat mengukur absorbansi pada λ 450 nm,
- Wash Buffer kadar 20X (Item B): 25 mL dari kadar *solution* 20X
- Standard Protein (Item C),
- Detection Antibody eNOS (Item F): 2 vial *biotinylated anti-Human* eNOS (1 vial cukup untuk pemeriksaan separuh mikroplate),
- HRP-Streptavidin Concentrate (Item G): 200 μ L dari 200X *concentrated* HRP-conjugated streptavidin (satu kali pemakaian),
- TMB One-Step Substrate Reagent (Item H): 12 mL dari 3,3,5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) dalam *buffer solution*,
- Stop Solution (Item I): 8 mL dari 0,2 M *sulfuric acid*,
- Assay Diluent (Item E2): 15 mL dari 5X *concentrated buffer*,
- Mikro Pipet 2 μ L sampai dengan 1 mL,

- Pipet untuk 1-25 mL,
- Absorbent *paper*,
- ELISA *reader*.

Persiapan reagen

1. Semua reagen dan sampel dibawa ke dalam ruang dengan suhu 18-25°C,
2. Item E2 diencerkan 5X dengan *distilled water*,
3. Pengenceran sampel: 1X *Item E2* digunakan untuk mengencerkan plasma. Pengenceran plasma sebanyak 2X
4. Penyiapan standar: vial *Item C* diputar. Tambahkan 400 µL 1X *Assay Diluent* (*Item E2*, *Assay Diluent* harus diencerkan 5X dengan *distilled water*) ke dalam vial *Item C* untuk membuat standard (std.) dengan kadar 100 ng/mL larutan. Larutkan bubuk secara menyeluruh. Pipet 270 µL 1X *Assay Diluent* ke dalam setiap tabung. Gunakan larutan standar 100 ng/mL untuk menghasilkan seri pengenceran. Campur setiap tabung dengan seksama sebelum transfer berikutnya. 1X *Assay Diluent* berfungsi sebagai standar nol (0 ng/mL).

Tabel 1. Standar

	Std. 1	Std. 2	Std. 3	Std. 4	Std. 5	Std. 6	Std. 7	Zero Std.
Volume pengenceran (µL)	Item C + 400	270	270	270	270	270	270	270
Kadar (ng/mL)	100	40	16	6,4	2,56	1,024	0,410	0

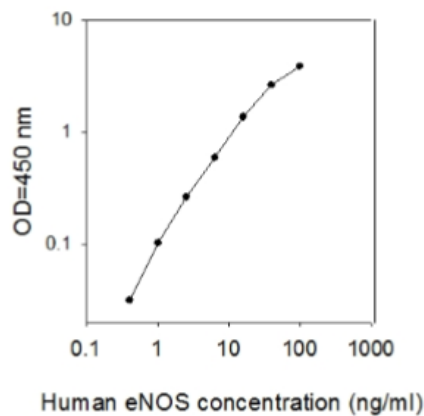
5. Larutan 20 mL *Item B* dengan *distilled water* untuk mendapatkan 400 mL 1X *Wash Buffer*

6. *Spin* vial *Item F*. Tambahkan 100 μL *Item E2* ke dalam vial *Item F*.
7. Putar sebentar vial konsentrat *Item G* dan pipet ke atas dan ke bawah untuk mencampur dengan lembut sebelum digunakan, karena endapan dapat terbentuk selama penyimpanan. Konsentrat *Item G* diencerkan 200 kali lipat dengan 1X *Assay Diluent (Item E2)*.

Tahap pemeriksaan

1. Semua reagen dan sampel diletakkan dalam suhu kamar yaitu 18-25°C,
2. *Microtiter plate* terdiri dari 96 sumuran diberi label sesuai untuk kebutuhan,
3. Larutan standard 100 μL (lihat penyiapan reagen nomor 3) dan sampel ditambahkan ke dalam sumuran.
4. Sumuran ditutup dan diinkubasi selama 2,5 jam pada suhu kamar dengan *shaker*,
5. Larutan dibuang dan dicuci 4 kali dengan 1X *Wash Solution*. Cuci dengan mengisi setiap sumuran dengan *Wash Buffer* (300 μL) menggunakan *pipet multi-channel*. Pencucian yang bersih, sangat penting untuk kinerja yang baik. Setelah pencucian terakhir, singkirkan *wash buffer* yang tersisa dengan *vaccum section* dan balikkan piring dan bersihkan dengan handuk kertas bersih,
6. *Microtiter plate* yang sudah bersih ditambahkan 100 μL antibodi *biotinylated* 1X yang disiapkan (penyiapan reagen nomor 6) untuk masing-masing sumur,
7. *Microtiter plate* dinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dengan *shaker*
8. Larutannya dibuang dan ulangi pencucian seperti pada nomor 5,
9. Masing-masing sumuran ditambahkan 100 μL *Item H*,

10. Sumuran diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dalam gelap dengan *shaker*.
11. Masing-masing sumuran ditambahkan 50 μ l dari *Item I*.
12. Pembacaan *optical density* setiap sumur dilakukan sekitar 15 menit menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm.
13. Pembacaan absorbansi blanko kontrol digunakan sebagai titik 0 pg/mL. Pembacaan pada 0 pg/mL ini digunakan untuk pengurangan pembacaan standar dan sampel.
14. Kurva standar dibuat dengan kadar pada sumbu aksis X dan absorbansi pada sumbu aksis Y.

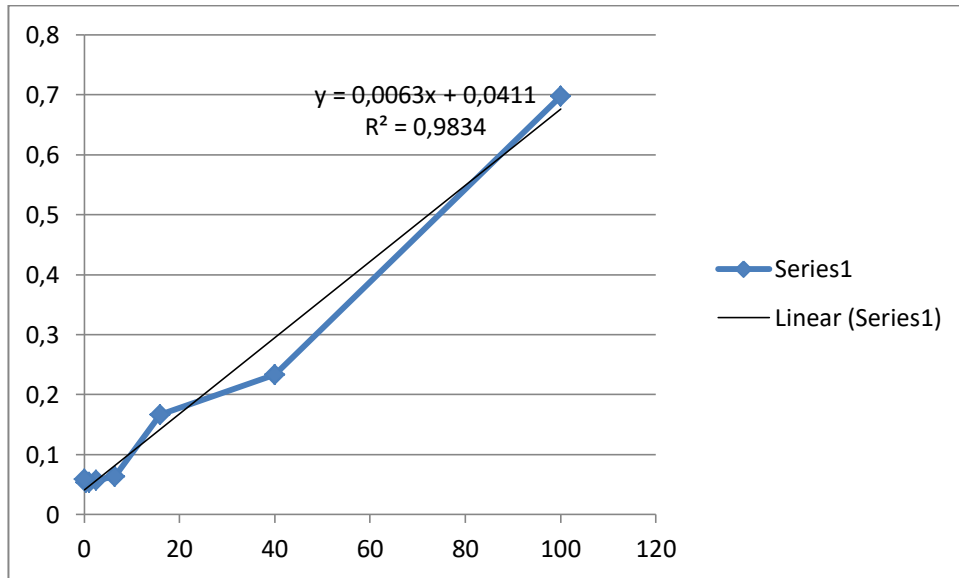


Gambar 2. Kurva Standar (Human eNOSyBiotech, Nomor katalog ELH ENOS)

Pembuatan kurva standar di program excell

- Tabel dibuat dengan sumbu x dan y di program excel,
- Sumbu x adalah kadar standar (lihat table 1 di lampiran) dan sumbu y adalah absorbansi standar,
- kurva dibuat dan nilai linearitasnya.

Contoh:



Gambar 3. Kurva Standar eNOS (Koleksi Pribadi)



Gambar 4. eNOS mikroplate (Koleksi Pribadi)

RayBio[®] Human eNOS ELISA Kit

Catalog #: ELH-ENOS

User Manual
Last revised February 15, 2017

Caution:
Extraordinarily useful information enclosed



ISO 13485 Certified

3807 Parkway Lane, Suite 100
Norcross, GA 30092

Tel: 1-888-494-8555 (Toll Free) or 770-729-2992, Fax: 770-206-2393
Web: www.RayBiotech.com, Email: info@raybiotech.com

Lampiran 5. Pemeriksaan Kadar F2-Isoprostan

Tahap Pemeriksaan Kadar F2-isoprostan

ELISA *Kit* 8-epi-PGF2 α (8-Epi-Prostaglandin F2 *Alpha*) Elabscience®

Katalog E-EL-0041

Prinsip pemeriksaan

Pemeriksaan F2-isoprostan menggunakan ELISA *kit* dari elabscience® yaitu prinsip pemeriksaan *competitive*-ELISA dari sampel serum, plasma, *cell lysate*, *tissues homogenate*, suprenatan kultur sel atau cairan biologi.. Senyawa 8-epi-PGF2 α telah dilapiskan ke *microtiter plate*. Senyawa 8-epi-PGF2 α dalam sampel atau standar dengan kadar tertentu akan terikat dengan spesifik Ab (Antibodi) Biotinylated. Sampel dan senyawa yang tidak terkonjugasi serta senyawa standar akan dicuci, kemudian di tambahkan Avidin dan Horseradish Peroxidase (HRP) dalam *microplate* kemusian inkubasi. Ditambahkan Larutan substrat TMB ke dalam setiap sumuran. Reaksi enzim-substart dihentikan dengan menambahkan larutan *stop* dan warna yang muncul di baca dengan spektrofotometer dengan λ (panjang gelombang) 450 nm \pm 2 nm. Kadar 8-epi-PGF2 α dalam sampel ditentukan dengan membandingkan OD (densitas optik) sampel dalam kurva standar.

Sensitivitas

Sensitivitas 9,38 pg/mL. Rentang deteksi: 15,63 – 1000 pg/mL.

Spesifikasi

ELISA *Kit* F2-isoprostan dapat mendeteksi sampel yang mengandung F2-isoprostan dan tidak didapatkan *cross reactivity* yang bermakna atau terlibat antara 8-epi-PGF2 α dan senyawa analog yang di periksa.

Bahan dan Alat

- Micro ELISA *Plate* 8 sumur \times 12 *strip* yang dapat mengukur absorbansi pada λ 450 nm
- *Reference Stdanard* 2 vial
- *Biotinylated Detection Ab* (100 \times) 1 vial, 120 μ L
- *Concentrated HRP Conjugate* (100 \times) 1 vial, 120 μ L
- *Reference Stdanard & Pengencer Sample* 1 vial, 20 mL
- Pelarut *Biotinylated Detection Ab* 1 vial, 14 mL
- Pengencer *HRP Conjugate* 1 vial, 14 mL
- *Wash Buffer* (25 \times) 1 vial, 30 mL
- Reagen substrat 1 vial, 10 mL
- *Stop Solution* 1 vial, 10 mL
- *Plate Sealer* 5 buah
- Mikro Pipet 2 μ L sampai dengan 1 mL,
- Pipet untuk 1-25 mL,
- Absorbent *paper*,
- ELISA *reader*,
- Tabung untuk tempat standar.

Persiapan reagen

1. Semua reagen dibawa ke suhu kamar (18- 25°C)
2. *Wash Buffer*: Encerkan 30 mL *Buffer Wash* Terkadar dengan 720 mL *distilled water* untuk menyiapkan 750 mL *Wash Buffer*.
3. *Work Solution*: Sentrifus standar pada $10.000 \times g$ selama 1 menit. Tambahkan 1,0 mL *Referensi Stdanar & Pengencer Sampel*, diamkan selama 10 menit dan balikkan dengan lembut beberapa kali. Setelah larut sepenuhnya, campur dengan *pipeting*. *Work solution* yang dihasilkan adalah 1000 pg/mL. Kemudian buat pengenceran serial sesuai kebutuhan dengan gradasi pengenceran 1000, 500, 250, 125, 62,5; 31,25; 15,63; 0 pg/mL. Metode pengenceran: Ambil 7 tabung EP, tambahkan 500uL dari *Stdanar Referensi & Pengecer Sampel* ke setiap tabung. Pipet 500uL dari larutan stok 1000 pg / mL ke tabung pertama dan campur hingga menghasilkan larutan kerja 500 pg / mL. Pipet 500uL larutan dari tabung bekas ke tabung yang terakhir sesuai dengan langkah-langkah ini.

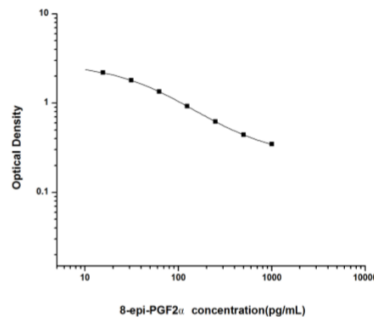
Tabel 3. Standar

	Std. 1	Std. 2	Std. 3	Std. 4	Std. 5	Std. 6	Std. 7	Zero Std.
Volume pengenceran (µL)	Item C + 400	270	270	270	270	270	270	270
Kadar (pg/mL)	1000	500	250	125	62,5	31,25	0,410	0

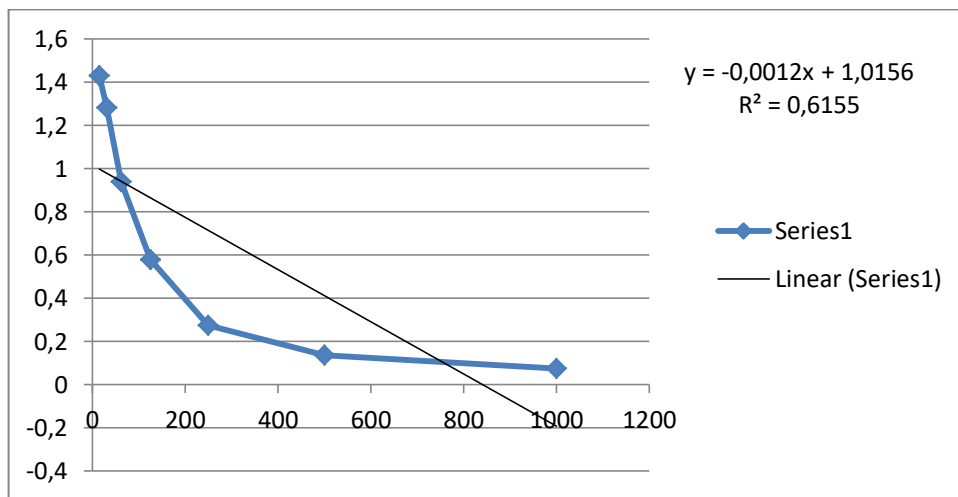
Tahap pemeriksaan

1. *work solution* standard ditambahkan ke dalam dua kolom pertama: Setiap kadar larutan ditambahkan dalam rangkap, masing-masing satu sumur, berdampingan (50 uL untuk masing-masing sumur). Tambahkan sampel ke sumur lain (50 uL

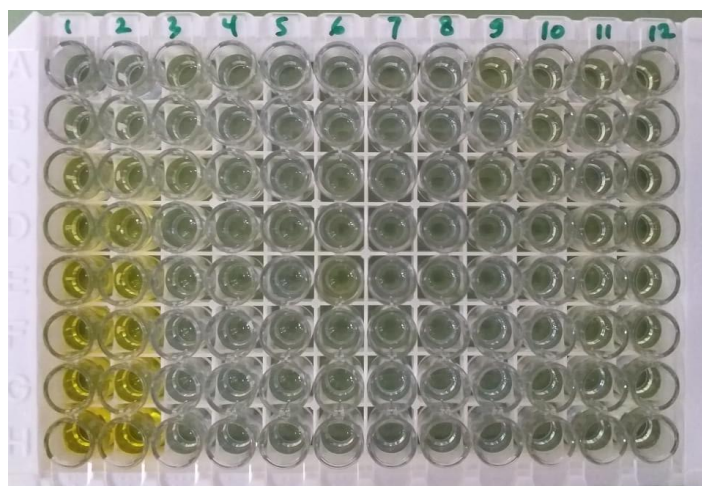
- untuk masing-masing sumur). Segera tambahkan 50 μ L larutan Biotinylated Detection Ab yang berfungsi untuk masing-masing sumur,
2. *plate* ditutup dengan *sealer* yang disediakan dalam *kit* dan inkubasi selama 45 menit pada 37 °C,
 3. Larutan diaspirasi atau dituang dari masing-masing sumur, tambahkan 350 μ L *wash buffer* ke setiap sumur. Rendam selama 1--2 menit dan aspirasi atau tuang larutan dari masing-masing sumur dan tepuk kering di atas kertas penyerap yang bersih. Ulangi langkah cuci ini 3 kali.
 4. *work solution HRP Conjugate* ditambahkan 100 μ L ke masing-masing sumur.
 5. Sumuran ditutup dengan *sealer Plat* dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37 ° C.
 4. Aspirasi atau tuang larutan dari masing-masing sumur, ulangi proses pencucian selama lima kali,
 6. Reagen Substrat ditambahkan 90 μ L ke setiap sumur.
 7. Sumuran ditutup dengan *sealer* piring baru. Inkubasi selama *sekitar* 15 menit pada suhu 37 ° C. Lindungi *plate* dari cahaya.
 8. *Stop Solution* 50 μ L ditambahkan dari ke masing-masing sumur. Catatan: Menambahkan solusi berhenti harus dilakukan dalam urutan yang sama,
 9. Kepadatan optik (nilai OD) dari setiap sumur ditentukan sekaligus dengan *microplate reader* dengan λ 450 nm.



Gambar 5. Kurva Standar (Human Isoprostan Elabscience, Nomor katalog E-EL-0041)



Gambar 6. Kurva Standar Isoprostan (koleksi Pribadi).



Gambar 7. Isoprostan mikroplate (koleksi Pribadi).

Elabscience®

7th Edition, revised in April, 2017

(FOR RESEARCH USE ONLY. DO NOT USE IT IN CLINICAL DIAGNOSTICS !)

8-epi-PGF2 α (8-Epi-Prostaglandin F2 Alpha) ELISA Kit

Synonyms: 15-F2i-IsoP, 8-iso-PGF2 α , 8-isoprostano, 8-iso-PG, 8-iso Prostaglandin

Catalog No : E-EL-0041

96T

This manual must be read attentively and completely before using this product.

If you have any problems, please contact our Technical Service Center for help (info in the header of each page).

Phone: 240-252-7368(USA) 240-252-7376(USA)

Email: techsupport@elabscience.com

Website: www.elabscience.com

Please kindly provide us with the lot number (on the outside of the box) of the kit for more efficient service.

Copyright ©2017-2018 Elabscience Biotechnology Inc. All Rights Reserved

Lampiran 6. Alat *microplate reader* atau *ELISA reader*



Gambar 8. *Microplate Reader* (Koleksi Pribadi)

Lampiran 7. Publikasi

International Journal of Applied Pharmaceutics, Vol. 11, Special issues 5, 2019



International Journal of Applied Pharmaceutics

ISSN - 0975 - 7058

Vol 11, Special Issue 5, 2019

Research Article

STUDY OF GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE ENZYME AND ISOPROSTANE ON PREECLAMPSIA WITH NIFEDIPINE, METHYLDOPA, AND MAGNESIUM SULFATE THERAPY

LINA LUKITASARI^{1*}, ADITIAWARMAN ADITIAWARMAN², MASYHUDI MASYHUDI³, SITI KHAERUNNISA¹, SUHARTATI SUHARTATI⁴

¹Department of Medical Biochemistry, Faculty of Medicine, Airlangga University, Indonesia. ²Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Airlangga University, Dr. Soetomo Hospital, Indonesia. ³Department of Obstetrics and Gynecology, Muhamad Soewandi Hospital, Surabaya. ⁴Department of Medical Biochemistry, Wijaya Kusuma Surabaya University, Indonesia. Email: lina-1@fk.unair.ac.id

Received: 28 January 2019, Revised and Accepted: 29 July 2019

ABSTRACT

Activate Windows
Go to Settings to activate Win

Objective: The objective of this research is to measure erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) enzyme activity and isoprostane and to correlate enzyme activity of G6PD with proteinuria and isoprostane in pregnant with proteinuria after the administration of nifedipine, methyldopa, and magnesium sulfate.

Methods: This cross-sectional study was held in Soewandi Hospital, Surabaya, East Java, Indonesia. This study used total sampling as much as 30 pregnant women with proteinuria who got nifedipine, methyldopa, and magnesium sulfate administration, age ranged from 17 to 48 years during their third trimester (>20 weeks). G6PD enzyme activity was measured from plasma by spectrophotometric method; plasma isoprostane was measured by competitive-ELISA method; and proteinuria urine spot was analyzed by urine dipstick from standardized laboratory of the hospital. Statistical analysis used in this study was Spearman's correlation coefficient.

Results: In this research, the effect of proteinuria +1 (OR=0.056) is lower than proteinuria +3 level on the presence of high G6PD enzyme activity, and proteinuria +2 (OR=0.933) is lower than proteinuria +3 level on the presence of high G6PD enzyme activity in pregnant women with proteinuria. G6PD enzyme was positively correlated (p=0.08) with proteinuria, and the connection was statistically significant. There was no significant statistic correlation between G6PD enzyme activity and isoprostane concentration (p=0.797).

Conclusion: This study found correlations between the enzyme activity of G6PD and proteinuria as the marker of renal damage in pre-eclampsia (PE) with the administration of nifedipine, methyldopa, and magnesium sulfate. However, it had no correlation with isoprostane as the marker of oxidative stress. This study suggests that there should be a concern about understanding the pathophysiology of proteinuria for possibility of drug target for individuals with PE.

Keywords: Preeclampsia, Glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme, Proteinuria, Isoprostane, Nifedipine, Methyldopa, Magnesium sulfate.

© 2019 The Authors. Published by Innovare Academic Sciences Pvt Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) DOI: <http://dx.doi.org/10.22159/ijap.2019.v11s5.T1014>

Lampiran 8. Statistik

Deskriptif

	Descriptive Statistics				
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Umur	140	17	48	29.55	6.584
IMT	140	16.00	44.85	28.3585	5.46018
Tekanan darah sistol	140	90	205	132.25	26.725
Tekanan darah diastol	140	60	120	82.10	14.475
Pulse pressure	140	25	95	50.15	15.575
Usia Kehamilan	140	20	43	33.13	5.892
Kadar Hb	140	6.9	15.4	11.219	1.4128
Kadar G6PD	140	4.1	21.8	9.366	3.2345
Kadar isoprostan	140	449.58	856.13	728.5829	78.23750
Kadar eNOS	140	1.46	24.30	8.6667	3.57949
Valid N (listwise)	140				

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Umur	non-PE	70	28.69	5.911	.707	27.28	30.10	18	41
	PE	70	30.41	7.131	.852	28.71	32.11	17	48
	Total	140	29.55	6.584	.556	28.45	30.65	17	48
IMT	non-PE	70	26.2857	4.89348	.58488	25.1189	27.4525	16.00	41.00
	PE	70	30.4313	5.23409	.62559	29.1833	31.6793	19.36	44.85
	Total	140	28.3585	5.46018	.46147	27.4461	29.2709	16.00	44.85
Tekanan darah sistol	non-PE	70	109.41	6.786	.811	107.80	111.03	90	120
	PE	70	155.09	18.294	2.187	150.72	159.45	130	205
	Total	140	132.25	26.725	2.259	127.78	136.72	90	205
Tekanan darah diastole	non-PE	70	70.43	6.524	.780	68.87	71.98	60	90
	PE	70	93.77	10.154	1.214	91.35	96.19	70	120
	Total	140	82.10	14.475	1.223	79.68	84.52	60	120
Pulse pressure	non-PE	70	38.99	7.391	.883	37.22	40.75	25	60
	PE	70	61.31	13.459	1.609	58.11	64.52	39	95
	Total	140	50.15	15.575	1.316	47.55	52.75	25	95
Usia Kehamilan	non-PE	70	29.29	5.371	.642	28.01	30.57	20	39
	PE	70	36.97	3.336	.399	36.18	37.77	24	43
	Total	140	33.13	5.892	.498	32.14	34.11	20	43
Kadar Hb	non-PE	70	11.313	1.0564	.1263	11.061	11.565	8.7	14.3
	PE	70	11.124	1.6991	.2031	10.719	11.529	6.9	15.4
	Total	140	11.219	1.4128	.1194	10.982	11.455	6.9	15.4
Kadar G6PD	non-PE	70	7.894	1.4430	.1725	7.550	8.238	4.7	12.4
	PE	70	10.839	3.8204	.4566	9.928	11.750	4.1	21.8
	Total	140	9.366	3.2345	.2734	8.826	9.907	4.1	21.8
Kadar isoprostan	non-PE	70	730.977	67.44570	8.06130	714.895	747.059	490.56	856.13
	PE	70	726.189	88.14974	10.5359	705.170	747.208	449.58	808.67
	Total	140	728.583	78.23750	6.61228	715.509	741.657	449.58	856.13
Kadar eNOS	non-PE	70	7.5343	2.67342	.31954	6.8969	8.1718	1.46	14.90
	PE	70	9.7991	4.00776	.47902	8.8435	10.7548	4.29	24.30
	Total	140	8.6667	3.57949	.30252	8.0686	9.2649	1.46	24.30

		Suku			Cumulative
		Frequency	Percent	Valid Percent	Percent
Valid	Jawa	127	90.7	90.7	90.7
	Madura	11	7.9	7.9	98.6
	Sunda	1	.7	.7	99.3
	NTT	1	.7	.7	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

		Hamil ke-			Cumulative
		Frequency	Percent	Valid Percent	Percent
Valid	G1	38	27.1	27.1	27.1
	G2	53	37.9	37.9	65.0
	G3	32	22.9	22.9	87.9
	G>3	17	12.1	12.1	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

		Jumlah Pernikahan			Cumulative
		Frequency	Percent	Valid Percent	Percent
Valid	Jumlah nikah 1 kali	127	90.7	90.7	90.7
	Jumlah nikah > 1 kali	12	8.6	8.6	99.3
	3	1	.7	.7	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

		Klasifikasi Hb			Cumulative
		Frequency	Percent	Valid Percent	Percent
Valid	anemia	60	42.9	42.9	42.9
	normal	80	57.1	57.1	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

Klasifikasi G6PD

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	rendah	10	7.1	7.1	7.1
	normal	108	77.1	77.1	84.3
	tinggi	22	15.7	15.7	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

G6PD9.4

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	<9.4	92	65.7	65.7	65.7
	>9.4	48	34.3	34.3	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

Klasifikasi Isoprostan

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	rendah	23	16.4	16.4	16.4
	normal	107	76.4	76.4	92.9
	tinggi	10	7.1	7.1	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

Klasifikasi eNOS

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	rendah	14	10.0	10.0	10.0
	normal	107	76.4	76.4	86.4
	tinggi	19	13.6	13.6	100.0
	Total	140	100.0	100.0	

group * suku Crosstabulation

Count

		suku				Total
		Jawa	Madura	Sunda	NTT	
group	non-PE	67	2	1	0	70
	PE	60	9	0	1	70
Total		127	11	1	1	140

group * Hamil ke- Crosstabulation

Count

		Hamil ke-				Total
		G1	G2	G3	G>3	
group	non-PE	19	29	17	5	70
	PE	19	24	15	12	70
Total		38	53	32	17	140

group * Jumlah Pernikahan Crosstabulation

Count

		Jumlah Pernikahan		Total
		Jumlah nikah 1 kali	Jumlah nikah > 1 kali	
		group	non-PE	
	PE	62	8	70
Total		127	13	140

group * Proteinuria Crosstabulation

Count

		Proteinuria				Total
		positif 1	positif 2	positif >=3	Normal	
group	non-PE	0	0	0	70	70
	PE	32	22	16	0	70
Total		32	22	16	70	140

group * Klasifikasi Hb Crosstabulation

Count

		Klasifikasi Hb		Total
		Anemia	normal	
group	non-PE	32	38	70
	PE	28	42	70
Total		60	80	140

group * Klasifikasi G6PD

Crosstab

Count

		Klasifikasi G6PD			Total
		Rendah	normal	tinggi	
group	non-PE	5	65	0	70
	PE	5	43	22	70
Total		10	108	22	140

group * G6PD9.4

Crosstab

Count

		G6PD9.4		Total
		<9.4	>9.4	
group	non-PE	61	9	70
	PE	31	39	70
Total		92	48	140

group * Klasifikasi Isoprostan**Crosstab**

Count

		Klasifikasi Isoprostan			Total
		Rendah	normal	tinggi	
group	non-PE	9	52	9	70
	PE	14	55	1	70
Total		23	107	10	140

group * Klasifikasi eNOS**Crosstab**

Count

		Klasifikasi eNOS			Total
		Rendah	normal	tinggi	
group	non-PE	12	55	3	70
	PE	2	52	16	70
Total		14	107	19	140

Uji Normalitas

	Group	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Umur	non-PE	.073	70	.200*	.977	70	.235
	PE	.113	70	.027	.978	70	.241
IMT	non-PE	.080	70	.200*	.983	70	.486
	PE	.098	70	.090	.978	70	.257
Tekanan darah sistol	non-PE	.292	70	.000	.815	70	.000
	PE	.138	70	.002	.945	70	.004
Tekanan darah diastol	non-PE	.340	70	.000	.787	70	.000
	PE	.159	70	.000	.958	70	.019
Pulse pressure	non-PE	.303	70	.000	.804	70	.000
	PE	.139	70	.002	.963	70	.037
Usia Kehamilan	non-PE	.088	70	.200*	.958	70	.020
	PE	.203	70	.000	.919	70	.000
Kadar Hb	non-PE	.085	70	.200*	.985	70	.560
	PE	.122	70	.012	.972	70	.119
Kadar G6PD	non-PE	.099	70	.084	.975	70	.175
	PE	.108	70	.041	.952	70	.009
Kadar isoprostan	non-PE	.118	70	.016	.921	70	.000
	PE	.235	70	.000	.799	70	.000
Kadar eNOS	non-PE	.057	70	.200*	.992	70	.930
	PE	.179	70	.000	.861	70	.000

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Statistik

Group Statistics

	Group	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IMT	non-PE	70	26.2857	4.89348	.58488
	PE	70	30.4313	5.23409	.62559

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
IMT	Equal variances assumed	.014	.905	-4.841	138	.000	-4.14557	.85642	-5.83897	-2.45217
	Equal variances not assumed			-4.841	137.380	.000	-4.14557	.85642	-5.83904	-2.45210

Mann-Whitney Test

	Ranks			
	Group	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Umur	non-PE	70	65.46	4582.50
	PE	70	75.54	5287.50
	Total	140		
Tekanan darah sistol	non-PE	70	35.50	2485.00
	PE	70	105.50	7385.00
	Total	140		
Tekanan darah diastol	non-PE	70	37.68	2637.50
	PE	70	103.32	7232.50
	Total	140		
Pulse pressure	non-PE	70	40.41	2829.00
	PE	70	100.59	7041.00
	Total	140		
Usia Kehamilan	non-PE	70	43.70	3059.00
	PE	70	97.30	6811.00
	Total	140		
Kadar Hb	non-PE	70	71.27	4989.00
	PE	70	69.73	4881.00
	Total	140		
Kadar G6PD	non-PE	70	52.62	3683.50
	PE	70	88.38	6186.50
	Total	140		
Kadar isoprostan	non-PE	70	67.59	4731.50
	PE	70	73.41	5138.50
	Total	140		
Kadar eNOS	non-PE	70	60.59	4241.00
	PE	70	80.41	5629.00
	Total	140		

Test Statistics^a

	umur	Tekanan darah sistol	Tekanan darah diastol	Pulse pressure	Usia Kehamilan	Kadar Hb	Kadar G6PD	Kadar isoprostan	Kadar eNOS
Mann-Whitney U	2097.500	.000	152.500	344.000	574.000	2396.000	1198.500	2246.500	1756.000
Wilcoxon W	4582.500	2485.000	2637.500	2829.000	3059.000	4881.000	3683.500	4731.500	4241.000
Z	-1.471	-10.352	-9.788	-8.963	-7.840	-.225	-5.217	-.848	-2.892
Asymp. Sig. (2-tailed)	.141	.000	.000	.000	.000	.822	.000	.396	.004

a. Grouping Variable: group

group * suku**Crosstab**

Count

		suku				Total
		Jawa	Madura	Sunda	NTT	
group	non-PE	67	2	1	0	70
	PE	60	9	0	1	70
Total		127	11	1	1	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2- sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	6.840 ^a	3	.077	.042		
Likelihood Ratio	7.977	3	.046	.042		
Fisher's Exact Test	6.638			.042		
Linear-by-Linear Association	2.866 ^b	1	.090	.140	.070	.045
N of Valid Cases	140					

a. 4 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .50.

b. The standardized statistic is 1.693.

group * Hamil ke-

Crosstab

Count

		Hamil ke-				Total
		G1	G2	G3	G>3	
Group	non-PE	19	29	17	5	70
	PE	19	24	15	12	70
Total		38	53	32	17	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	3.479 ^a	3	.323	.335		
Likelihood Ratio	3.567	3	.312	.329		
Fisher's Exact Test	3.441			.335		
Linear-by-Linear Association	1.080 ^b	1	.299	.342	.171	.040
N of Valid Cases	140					

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8.50.

b. The standardized statistic is 1.039.

group * Jumlah Pernikahan**group * Jumlah Pernikahan Crosstabulation**

Count

		Jumlah Pernikahan		Total
		Jumlah nikah 1 kali	Jumlah nikah > 1 kali	
Group	non-PE	65	5	70
	PE	62	8	70
Total		127	13	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	.763 ^a	1	.382	.562	.281	
Continuity Correction ^b	.339	1	.560			
Likelihood Ratio	.769	1	.380	.562	.281	
Fisher's Exact Test				.562	.281	
Linear-by-Linear Association	.758 ^c	1	.384	.562	.281	.159
N of Valid Cases	140					

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 6.50.

b. Computed only for a 2x2 table

c. The standardized statistic is .870.

group * Proteinuria

Crosstab

Count

		Proteinuria				Total
		positif 1	positif 2	positif >=3	Normal	
group	non-PE	0	0	0	70	70
	PE	32	22	16	0	70
Total		32	22	16	70	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2- sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	140.000 ^a	3	.000	.000		
Likelihood Ratio	194.081	3	.000	.000		
Fisher's Exact Test	178.693			.000		
Linear-by-Linear Association	110.749 ^b	1	.000	.000	.000	.000
N of Valid Cases	140					

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 8.00.

b. The standardized statistic is -10.524.

group * Klasifikasi Hb**Crosstab**

Count

		Klasifikasi Hb		Total
		anemia	normal	
group	non-PE	32	38	70
	PE	28	42	70
Total		60	80	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2- sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	.467 ^a	1	.495	.609	.304	
Continuity Correction ^b	.263	1	.608			
Likelihood Ratio	.467	1	.494	.609	.304	
Fisher's Exact Test				.609	.304	
Linear-by-Linear Association	.463 ^c	1	.496	.609	.304	.108
N of Valid Cases	140					

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 30.00.

b. Computed only for a 2x2 table

c. The standardized statistic is .681.

	Normal	Rendah	Tinggi
Kadar G6PD	6.1 s.d 12.6	<6.13	>12.60
Kadar isoprostan	650.35 s.d 806.82	<650.35	>806.82
Kadar eNOS	5.09 s.d 12.25	< 5.09	>12.25

group * Klasifikasi G6PD

Crosstab

Count

		Klasifikasi G6PD			Total
		rendah	Normal	tinggi	
group	non-PE	5	65	0	70
	PE	5	43	22	70
Total		10	108	22	140

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2- sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	26.481 ^a	2	.000	.000		
Likelihood Ratio	35.011	2	.000	.000		
Fisher's Exact Test	31.478			.000		
Linear-by-Linear Association	15.516 ^b	1	.000	.000	.000	.000
N of Valid Cases	140					

a. 0 cells (0.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.00.

b. The standardized statistic is 3.939.

Regression

Model	Variables Entered/Removed ^a		Method
	Variables Entered	Variables Removed	
1	dummGroup ^b	.	Enter

a. Dependent Variable: Kadar G6PD

b. All requested variables entered.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.457 ^a	.209	.203	2.8877

a. Predictors: (Constant), dummGroup

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	303.409	1	303.409	36.385	.000 ^b
	Residual	1150.764	138	8.339		
	Total	1454.172	139			

a. Dependent Variable: Kadar G6PD

b. Predictors: (Constant), dummGroup

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients B	Std. Error	Standardized Coefficients Beta	t	Sig.
1	(Constant)	7.894	.345		22.872	.000
	dummGroup	2.944	.488	.457	6.032	.000

a. Dependent Variable: Kadar G6PD

Regression

Model	Variables Entered/Removed ^a		Method
	Variables Entered	Variables Removed	
1	dummGroup ^b	.	Enter

a. Dependent Variable: Kadar eNOS

b. All requested variables entered.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.317 ^a	.101	.094	3.40656

a. Predictors: (Constant), dummGroup

		ANOVA ^a				
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	179.526	1	179.526	15.470	.000 ^b
	Residual	1601.445	138	11.605		
	Total	1780.971	139			

- a. Dependent Variable: Kadar eNOS
 b. Predictors: (Constant), dummGroup

		Coefficients ^a				
Model		Unstandardized Coefficients B	Std. Error	Standardized Coefficients Beta	t	Sig.
1	(Constant)	7.534	.407		18.505	.000
	dummGroup	2.265	.576	.317	3.933	.000

- a. Dependent Variable: Kadar eNOS

Regression

Variables Entered/Removed ^a			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	dummGroup ^b	.	Enter

- a. Dependent Variable: Kadar isoprostan
 b. All requested variables entered.

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.031 ^a	.001	-.006	78.48343

- a. Predictors: (Constant), dummGroup

		ANOVA ^a				
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	802.277	1	802.277	.130	.719 ^b
	Residual	850031.618	138	6159.649		
	Total	850833.895	139			

- a. Dependent Variable: Kadar isoprostan
 b. Predictors: (Constant), dummGroup

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	730.977	9.381		77.925	.000
	dummGroup	-4.788	13.266	-.031	-.361	.719

a. Dependent Variable: Kadar isoprostan

Regresi

Variables Entered/Removed ^a			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Aktivitas G6PD ^b	.	Enter

- a. Dependent Variable: Kadar eNOS
- b. All requested variables entered.

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.014 ^a	.000	-.007	3.59207

- a. Predictors: (Constant), Aktivitas G6PD

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	.357	1	.357	.028	.868 ^b
	Residual	1780.614	138	12.903		
	Total	1780.971	139			

- a. Dependent Variable: Kadar eNOS
- b. Predictors: (Constant), Aktivitas G6PD

Coefficients ^a						
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	8.520	.933		9.131	.000
	Aktivitas G6PD	.016	.094	.014	.166	.868

- a. Dependent Variable: Kadar eNOS

Curve Fit

Model Description		
Model Name		MOD_10
Dependent Variable	1	Kadar eNOS
Equation	1	Linear
Independent Variable		Aktivitas G6PD
Constant		Included
Variable Whose Values Label Observations in Plots		Unspecified

Case Processing Summary

	N
Total Cases	140
Excluded Cases ^a	0
Forecasted Cases	0
Newly Created Cases	0

a. Cases with a missing value in any variable are excluded from the analysis.

Variable Processing Summary

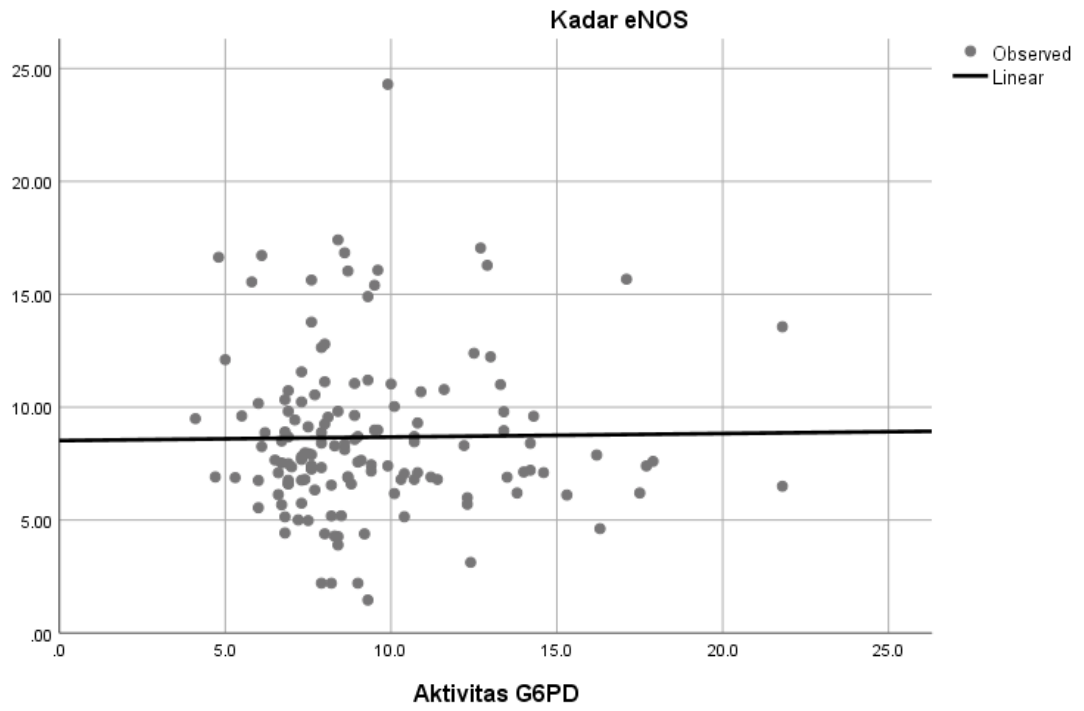
	Variables	
	Dependent Kadar eNOS	Independent Aktivitas G6PD
Number of Positive Values	140	140
Number of Zeros	0	0
Number of Negative Values	0	0
Number of Missing Values	User-Missing	0
	System-Missing	0

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Kadar eNOS

Equation	R Square	Model Summary				Parameter Estimates	
		F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Linear	.000	.028	1	138	.868	8.520	.016

The independent variable is Aktivitas G6PD.



Regresi

Variables Entered/Removed ^a			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Aktivitas G6PD ^b	.	Enter

- a. Dependent Variable: Kadar isoprostan
- b. All requested variables entered.

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.305 ^a	.093	.086	74.78924

- a. Predictors: (Constant), Aktivitas G6PD

ANOVA ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	78940.577	1	78940.577	14.113	.000 ^b
	Residual	771893.318	138	5593.430		
	Total	850833.895	139			

- a. Dependent Variable: Kadar isoprostan
- b. Predictors: (Constant), Aktivitas G6PD

Coefficients ^a						
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	T	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	797.594	19.427		41.056	.000
	Aktivitas G6PD	-7.368	1.961	-.305	-3.757	.000

- a. Dependent Variable: Kadar isoprostan

Curve Fit

Model Description		
Model Name		MOD_11
Dependent Variable	1	Kadar isoprostan
Equation	1	Linear
Independent Variable		Aktivitas G6PD
Constant		Included
Variable Whose Values Label Observations in Plots		Unspecified

Case Processing Summary

	N
Total Cases	140
Excluded Cases ^a	0
Forecasted Cases	0
Newly Created Cases	0

a. Cases with a missing value in any variable are excluded from the analysis.

Variable Processing Summary

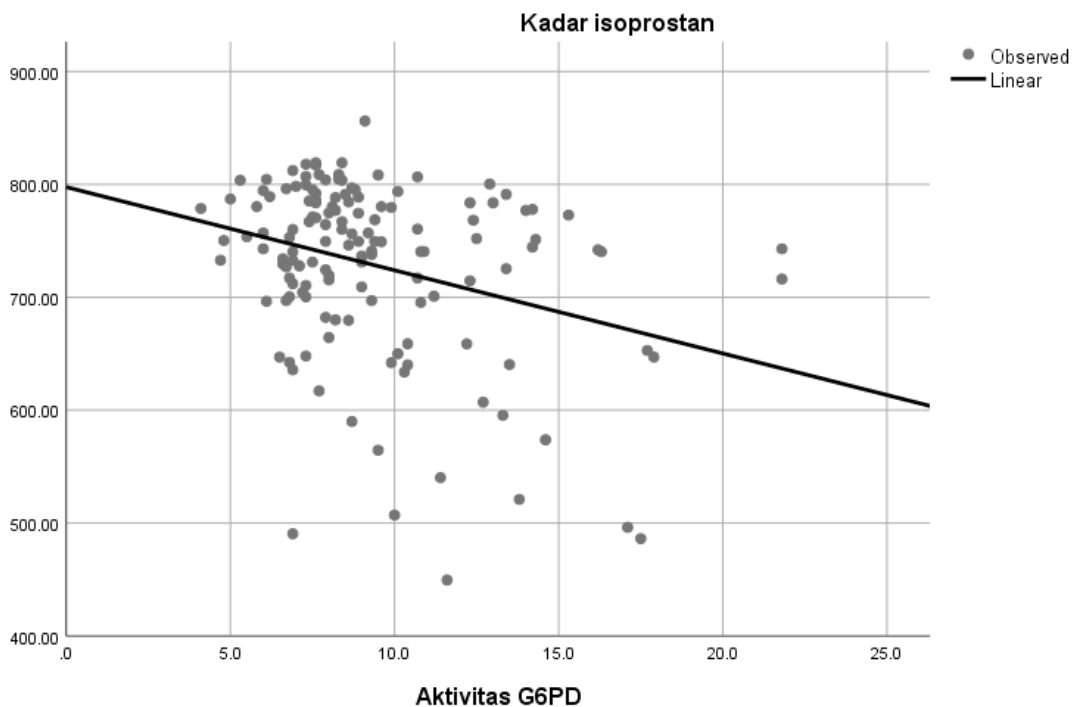
	Variables	
	Dependent Kadar isoprostan	Independent Aktivitas G6PD
Number of Positive Values	140	140
Number of Zeros	0	0
Number of Negative Values	0	0
Number of Missing Values	User-Missing	0
	System-Missing	0

Model Summary and Parameter Estimates

Dependent Variable: Kadar isoprostan

Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Linear	.093	14.113	1	138	.000	797.594	-7.368

The independent variable is Aktivitas G6PD.





SALINAN

**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
NOMOR 232/UN3.1.1/HK.04/2020**

TENTANG

**PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN
ATAS NAMA LINA LUKITASARI, dr.,M.Si**

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,

- Menimbang :
- a. bahwa ujian disertasi tahap I Jenjang Doktor telah dilaksanakan, selanjutnya mahasiswa yang dinyatakan lulus dari ujian tahap I tersebut berhak mengikuti ujian tahap II yang disebut Ujian Doktor Terbuka;
 - b. bahwa nama-nama Penyanggah Ujian Doktor Terbuka yang tercantum dalam lampiran Keputusan ini dinyatakan memenuhi syarat dan bersedia untuk ditetapkan sebagai penyanggah Ujian Doktor Terbuka;
 - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tentang Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran.
- Mengingat :
1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
 2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4586);
 3. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
 4. Undang-Undang Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 06, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5494);



SALINAN

**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
NOMOR 232/UN3.1.1/HK.04/2020**

TENTANG

**PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR
PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN
ATAS NAMA LINA LUKITASARI, dr.,M.Si**

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,

- Menimbang : a. bahwa ujian disertasi tahap I Jenjang Doktor telah dilaksanakan, selanjutnya mahasiswa yang dinyatakan lulus dari ujian tahap I tersebut berhak mengikuti ujian tahap II yang disebut Ujian Doktor Terbuka;
- b. bahwa nama-nama Penyanggah Ujian Doktor Terbuka yang tercantum dalam lampiran Keputusan ini dinyatakan memenuhi syarat dan bersedia untuk ditetapkan sebagai penyanggah Ujian Doktor Terbuka;
- c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tentang Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran.
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4586);
3. Undang-Undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
4. Undang-Undang Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 06, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5494);

5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga Di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
8. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 38 Tahun 2017 tentang Peraturan Pendidikan Universitas Airlangga;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 21 Tahun 2014 tentang Pedoman Pendidikan Program Doktor (S3) Universitas Airlangga;
10. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1947/H3/KR/2011 tentang Penetapan Ruang Lingkup Program Studi dalam Kategori Monodisiplin, Interdisiplin dan Multidisiplin untuk Pengelolaan Program Magister dan Program Doktor;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1732/UN3/2015 tentang Pengangkatan Dekan Fakultas dan Direktur Sekolah Pascasarjana Periode 2015-2020.

MEMUTUSKAN :

Menetapkan : KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN TENTANG PENYANGGAH UJIAN DOKTOR TERBUKA PROGRAM DOKTOR PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN ATAS NAMA LINA LUKITASARI, dr.,M.Si.

PERTAMA: ...

PERTAMA : Menetapkan Penyanggah Ujian Doktor Terbuka Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran atas nama Lina Lukitasari, dr.,M.Si yang dilaksanakan pada tanggal, 2 Juli 2020 dengan susunan nama sebagai berikut:

1. Prof. Dr. Suhartati, dr.,MS
2. Dr. Aditiawarman, dr.,Sp.OG(K)
3. Dr. Arie Utariani, dr.,Sp.An.KAP
4. Dr. Gadis Meinar Sari, dr.,M.Kes.
5. Dr. Ahmad Suryawan, dr.,Sp.A(K)
6. Dr. Nove Hidajati, drh.,M.Kes.
7. Dr. Gwenny Ichsan Prabowo, dr.,M.Kes.
8. Dr. Lynda Hariani, dr.,Sp.BP-RE(K)
9. Prof. Dr. Aryati, dr.,MS.,Sp.PK(K)
10. Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr.,MS.,Sp.MK(K)

KEDUA : Dalam menjalankan tugasnya sebagaimana dimaksud dalam diktum PERTAMA, berpedoman pada peraturan dan ketentuan yang berlaku serta mempertanggungjawabkan tugasnya kepada Dekan Fakultas Kedokteran.

KETIGA : Biaya untuk keperluan tersebut dibebankan pada dana Rencana Kegiatan dan Anggaran Tahunan (RKAT) Fakultas Kedokteran.

KEEMPAT : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 2 Juli 2020

DEKAN,

ttd

SOETOJO

NIP 195606081986121001

Salinan sesuai dengan aslinya
Kepala Bagian Tata Usaha,

Basuni

NIP 196501021987011001

SALINAN disampaikan Yth.

1. Rektor Universitas Airlangga
2. Yang bersangkutan



UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131 Telp. (031) 5020251, 5030252, 5030253 Fax. (031) 5022472
website : <http://www.fk.unair.ac.id> email : dekan@fk.unair.ac.id

SALINAN

**KEPUTUSAN
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
NOMOR 22/UN3.1.1/KD/2017**

TENTANG

**PENGANGKATAN STAF PENGAJAR SEBAGAI PROMOTOR KO-PROMOTOR
PADA PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR
FAKULTAS KEDOKTERAN**

DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN,

- Menimbang :
- a. bahwa untuk menunjang kelancaran pelaksanaan proses belajar mengajar Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran, perlu diangkat staf pengajar sebagai Promotor Ko-Promotor Jenjang Doktor tersebut;
 - b. bahwa nama-nama staf pengajar yang tercantum dalam lampiran keputusan ini telah dinyatakan memenuhi syarat dan bersedia untuk diangkat sebagai Promotor Ko-Promotor bagi mahasiswa Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran yang dimaksud;
 - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Dekan tentang Pengangkatan staf pengajar sebagai Promotor Ko-Promotor Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran;
- Mengingat :
1. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
 2. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2005 tentang Guru dan Dosen (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 157, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4586);
 3. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 158, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5336);
 4. Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 06, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5494);

5. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga Di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);
6. Peraturan Pemerintah Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 16, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5500);
7. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2014 tentang Statuta Universitas Airlangga. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Nomor 5535);
8. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 21 Tahun 2014 tentang Pedoman Pendidikan Program Doktor (S3) Universitas Airlangga;
9. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 23 Tahun 2015 tentang Peraturan Pendidikan Universitas Airlangga;
10. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1947/H3/KR/2011 tentang Penetapan Ruang Lingkup Program Studi dalam Kategori Monodisiplin, Interdisiplin dan Multidisiplin untuk Pengelolaan Program Magister dan Program Doktor;
11. Keputusan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1732/UN3/KR/2015 tentang Pengangkatan Dekan Fakultas dan Direktur Sekolah Pascasarjana Periode 2015-2020.

MEMUTUSKAN :

Menetapkan : KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN TENTANG PENGANGKATAN STAF PENGAJAR SEBAGAI PROMOTOR KO-PROMOTOR PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN JENJANG DOKTOR FAKULTAS KEDOKTERAN.

KESATU : Mengangkat staf pengajar sebagai Promotor Ko-Promotor bagi mahasiswa Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran sebagaimana tercantum dalam Lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan ini;

KEDUA. ...

- KEDUA : Dalam menjalankan tugasnya sebagaimana dimaksud pada bunyi penetapan KESATU, berpedoman pada peraturan dan ketentuan yang berlaku serta mempertanggungjawabkan tugasnya kepada Dekan Fakultas Kedokteran;
- KETIGA : Biaya untuk keperluan tersebut dibebankan pada dana Rencana Kegiatan dan Anggaran Tahunan (RKAT) Fakultas Kedokteran;
- KEEMPAT : Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan dan mempunyai daya laku surut, yaitu bagi mahasiswa angkatan tahun 2011/2012 s/d 2015/2016 Program Studi Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Fakultas Kedokteran dan berakhir setelah mahasiswa tersebut dinyatakan lulus.

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 25 Januari 2017

DEKAN,

ttd

SOETOJO

NIP 195606081986121001

Salinan sesuai dengan aslinya
Kepala Bagian Sumber Daya,


Susetiyono, SH

NIP 195909201986011001

SALINAN disampaikan Yth.

1. Rektor Universitas Airlangga
2. Wakil I, II, III
3. Ketua Program Studi terkait
4. Yang bersangkutan

LAMPIRAN KEPUTUSAN DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN

NOMOR : 22/ UN3.1.1/KD/2017, TANGGAL 25 JANUARI 2017

TENTANG : PENGANGKATAN PENGANGKATAN STAF PENGAJAR SEBAGAI
PROMOTOR KO-PROMOTOR PADA PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN
JENJANG DOKTOR FAKULTAS KEDOKTERAN.

NO.	PROMOTOR	KOPROMOTOR	A.N. MAHASISWA
1	2	3	4
	Angkatan Tahun 2011-2012		
1	Prof.Win Darmanto,Drs.,M.Si.,Ph.D	Prof.Dr.Jusak Nugraha, dr.,MS	Diah Purwaningsih, dr.,M.Kes
2	Prof.Dr. Harjanto JM.,dr.,AIFM	Prof.Dr.Yoes Prijatna Dachlan, dr.,M.Sc Sp.Par(K)	Eric Mayo Dagradi, dr.,M.Kes
	Angkatan Tahun 2012-2013		
3	Prof.Dr. I Ketut Sudiana, Drs.,M.Si	Prof.Dr. Harjanto JM, dr.,AIFM	Riami, dr.,M.Kes
	Angkatan Tahun 2013-2014		
4	Prof.Dr.Soetojo, dr.,Sp.U (K)	Prof.Dr. I Ketut Sudiana, Drs.,M.Si	Muhammad Ishaqh, dr.,Sp.U
5	Prof.Dr.Indri Safitri Mukono, dr.,MS	Prof.Dr.Chairul Anwar Nidom, drh.,MS	Ira Humairah, dr.,M.Si
6	Prof.Dr.Mieke Sylvia M.A.R., drg.,MS., Sp.Ort(K)	Dr.Phil. Toetik Koesbardiati, Dra.,DFM	An' nisaa Chusida, drg.,M.Kes
7	Prof.Dr.Suhartono Taat Putra, dr.,MS	Prof.Dr.Nursalam, M.Nurs(Hons)	Joko Suwito, S.Kp.,M.Kes
8	Prof.Dr. Harjanto JM.,dr.,AIFM	Dr. Bambang Purwanto, dr.,M.Kes.,AIFO	Hayati, dr.,M.Kes
9	Prof. Soetjipto, dr.,MS.,Ph.D	Prof.Dr.Harjanto JM., dr.,AIFM	Dina Helianti, dr.,M.Kes
	Angkatan Tahun 2014-2015		
10	Prof.Dr. Harjanto JM.,dr.,AIFM	Dr. Roedi Irawan, dr.,M.Kes	Lilik Hernawati, dr.,M.Kes

11	Prof.Dr.Muhammad Amin, dr.,Sp.P(K)	1. Prof. Soetjipto, dr.,MS.,Ph.D	Budi Yanti, dr.,Sp.P
		2. Prof.Dr. Ni Made Mertaniasih, dr.,MS Sp.MK(K)	
12	Prof.Dr.Agung Pranoto, dr.,M.Kes.,Sp. PD,K- EMD,FINASIM	Prof.Dr.Sudjarwo, MS.,Apt	Wahiduddin, SKM.,M.Kes
13	Prof.Dr.Rochmad Romdoni, dr.,Sp.PD., Sp.JP(K),FIHA	Dr.Anwar Santoso, dr.,Sp.JP(K)	Dyana Sarvasti, dr.,Sp.JP(K)
14	Prof.Dr. Suhartati, dr.,MS	Dr. Aditiawarman, dr.,Sp.OG(K)	Lina Lukitasari, dr.,M.Si
15	Prof.Dr.Jusak Nugraha, dr.,MS.,Sp.PK(K)	1. Prof.Dr.Harianto Notopuro, dr.,MS.,M.Si., Sp.PK 2. Dr.Fransisca S. Tanoeraharjo, dr.,M.Si .,Sp.PK	Anik Handayati, Dra.,M.Kes
16	Prof.Dr.H. Joewono Soeroso, dr.,M.Sc., Sp.PD-KR	Prof.Dr. Harianto Notopuro, dr.,MS.,M.Si ., Sp.PK	Awali, dr.,Sp.PD
17	Prof.Dr.David S. Perdanakusuma, dr., Sp.BP-RE(K)	1. Prof.Dr.Fedik Abdul Rantam, drh 2. Prof.Dr.Widya Asmara, drh	Lynda Hariani, dr.,Sp.BP-RE
	Angkatan Tahun 2015-2016		
18	Prof.Dr.Budi Santoso, dr.,Sp.OG(K)	Prof.Dr.Magestuti Agil, MS.,Apt	Heny Astuti, S.Kep.,Ns.,M.Kes
19	Prof.Dr.H.Joewono Soeroso, dr., M.Sc.,Sp.PD-KR	Prof.Dr.Mohammad Guritno Suryokusumo, dr.,MSHS.,DEA	Titut Harnanik, dr.,M.Kes
20	Dr. Cita Rosita.,Sp.KK(K)	Dr. Anang Endaryanto, dr.,Sp.A	I G Nyoman Darmaputra, dr.,Sp.KK
21	Prof.Soetjipto, dr.,MS.,Ph.D	Dr. Hendy Hendarto, dr.,Sp.OG(K)	Juminten, dr.,Sp.OG
22	Prof.Dr.Aryati, dr.,MS.,Sp.PK(K)	Dr. Aty Widyawaruyanti, M.Si.,Apt	Bastiana, dr.,Sp.PK

23	Prof.Dr.Kuntaman, dr.,MS.,Sp.MK	Prof.Dr.Usman Hadi, dr.,Sp.PD-KPTI	Dewa Ayu Putri Sri M., dr.,PD-KPTI
24	Prof.Soetjipto, dr.,MS.,Ph.D	1. Prof.Dr. I Ketut Sudiana, Drs.,M.Si 2. Prof.Dr.Mohammad G. Suryokusumo, dr.,MSHS.,DEA	Herin Setianingsih, dr.,M.Kes
25	Prof.Dr. Aryati, dr.,MS.,Sp.PK(K)	Prof.Dr.Mohammad G. Suryokusumo, dr.,MSHS.,DEA	Arif Rahman Nurdianto, dr.,M.Imun
26	Prof.Dr. Usman Hadi, dr.,Sp.PD- KRTI	1. Prof.Dr.Yoes Prijatna Dachlan, dr.,M.Sc., Sp.Par(K) 2. Prof. Dr.M. Guritno Suryokusumo, dr., SMHS, DEA	Prawesty Diah Utami, dr.,M.Ked
27	Prof.Dr. Harjanto JM.,dr.,AIFM	Prof.Dr.Yoes Prijatna Dachlan, dr.,M.Sc., Sp.Par(K)	Erna Sulistyani, drg., M.Kes
28	Prof.Dr. Sri Agus Sudjarwo, drh.,Ph.D	Dr.A. Retno Pudji Rahayu, drg.,M.Kes	Rima Parwati Sari, drg.,M.Kes
29	Prof. Dr.Muhammad Amin, dr.,Sp.P(K)	1. Prof.Dr.Ni Made Mertaniasih, dr.,MS., Sp.MK(K) 2. Prof. Sutjipto, dr.,MS.,Ph.D	Movita Hidayati, dr.,Sp.P
30	Dr.Phil. Toetik Koesbardiati, Dra.,DFM	Dr. Ahmad Yudianto, dr.,SH.,Sp.F.,M.Kes	Iwan Aflanie, dr.,M.Kes.,Sp.F.,SH

Ditetapkan di Surabaya
pada tanggal 25 Januari 2017

DEKAN,

ttd

SOETOJO

NIP 195606081986121001

Salinan sesuai dengan aslinya
Kepala Bagian Sumber Daya,

Susetiyono, SH