

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf11nk116>

Pengaruh Pemberian Depo Medroxy Progesterone Acetate (DMPA) Jangka Panjang Terhadap Kadar Endotelin 1(ET-1) Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Nurlina Akbar

Bagian Kebidanan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muslim Indonesia; nurlina.akbar@umi.ac.id
(koresponden)

Nurul Husnah

Bagian Kebidanan, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muslim Indonesia; nurulfaiz8@gmail.com

ABSTRACT

*The long-term use of Depo Medroxy Progesterone Acetate (DMPA) can cause hypertension. Hypertension is often related to high production of endothelin-1 in the blood. Mechanism of DMPA can cause hypertension is still unclear. Therefore, this study aims to find out the effect of long-term use of DMPA on ET-1 production. This research designed was a true experiment with Posttest Only Control Group Design conducted on 12 female wistar (*Rattus norvegicus*) strain rats. The mice in the control group were not treated while the treatment group was injected with DMPA 2.7 mg/ week for 8 weeks. Endothelin 1 plasma was assessed at 4 and 8 weeks using ELISA method. The result of this research showed that in the 4th week, ET-1 significantly increase ($p = 0.003$) in the treatment group (130.38 ± 4.03) compared to the control group (121.64 ± 3.76). Whereas at week 8, there was a tendency to increase ET-1 in the treatment group (132.16 ± 8.97) compared to the control group (126.77 ± 18.11), but not significant ($p = 0.528$). From the results of this study can be concluded that the long-term use of DMPA in female mice can increase plasma levels of endothelin-1.*

Keywords: longterm DMPA; estrogen decrease; endotheline- 1

ABSTRAK

Penggunaan *Depo Medroxy Progesterone Acetate* (DMPA) dalam jangka panjang diketahui dapat menimbulkan hipertensi. Hipertensi sering dikaitkan dengan tingginya produksi endotelin-1 dalam darah. Mekanisme DMPA dapat menyebabkan hipertensi masih belum jelas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh penggunaan DMPA jangka panjang terhadap produksi ET-1. Penelitian ini merupakan *true experiment* dengan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design* yang dilakukan pada 12 ekor tikus galur wistar (*Rattus Norvegicus*) betina. Tikus pada grup kontrol tidak diberi perlakuan sedangkan grup perlakuan diinjeksi DMPA 2,7 mg/minggu selama 8 minggu. Plasma endotelin 1 diperiksa pada minggu ke-4 dan minggu ke-8 dengan metode ELISA. Hasil penelitian menunjukkan pada minggu ke-4, ET-1 mengalami kenaikan ($p=0.003$) pada grup perlakuan (130.38 ± 4.03) dibandingkan grup kontrol (121.64 ± 3.76). Sedangkan pada minggu ke-8, terjadi kecenderungan peningkatan ET-1 pada grup perlakuan (132.16 ± 8.97) dibandingkan grup kontrol (126.77 ± 18.11), namun tidak signifikan ($p=0.528$). Dari hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian DMPA jangka panjang pada tikus betina dapat meningkatkan kadar plasma endotelin 1.

Kata kunci: DMPA jangka panjang; penurunan estrogen; endotelin 1

PENDAHULUAN

Depo medroxy progesterone acetate (DMPA), merupakan alat kontrasepsi yang telah banyak digunakan oleh wanita di seluruh dunia.⁽¹⁾ Kontrasepsi jenis DMPA sangat efektif dengan tingkat kegagalan penggunaan sebesar 0,2%.⁽²⁾ Tiap mL dari sediaan kemasan 3 mL DMPA mengandung *medroxyprogesterone acetate* 150 mg yang akan memberikan kerja farmakologis mirip dengan progesteron alamiah yang disuntikkan secara IM/ intramuskuler dan diberikan setiap 12 minggu.^(3,4) Namun, penggunaan DMPA jangka panjang diketahui dapat menimbulkan hipertensi. Hal tersebut didukung oleh beberapa penelitian mengenai kontrasepsi suntikan DMPA yang menunjukkan adanya peningkatan tekanan darah jika DMPA digunakan lebih dari 1 tahun.^(5,6)

Kemampuan DMPA dalam menekan kadar estrogen didalam tubuh ditunjukkan dengan adanya penelitian pada 20 wanita yang mendapat suntikan DMPA setiap 3 bulan selama lebih dari 1 tahun menunjukkan kadar estrogen mencapai 75 pg/mL.⁽⁷⁾ Hubungan yang signifikan antara lama penggunaan DMPA dan kadar estrogen juga dilaporkan oleh Clark *et al* (2001) bahwa kadar estrogen turun hingga 7,9 pg/mL dengan kadar rata-rata 18,9 pg/mL pada penggunaan selama 1 sampai lebih dari 3 tahun.⁽⁸⁾

Estrogen premenopause memberikan perlindungan terhadap kejadian penyakit jantung sehingga terjadinya penurunan hormon estrogen karena pemakaian DMPA jangka panjang juga akan menyebabkan penurunan fungsi kardioprotektif. Hal tersebut didukung dengan penelitian pada wanita menopause yang diberikan terapi sulih hormon (TSH) menunjukkan resiko lebih kecil untuk menderita penyakit kardiovaskular dibandingkan wanita menopause yang tidak mendapatkan TSH.⁽⁹⁾

Estrogen penting karena efek protektifnya terhadap kardiovaskular melalui kemampuan inhibisi terhadap produksi endotelin 1 (ET-1).⁽¹⁰⁾ Penelitian yang dilakukan oleh Sorensen *et al* (2002) memperlihatkan bahwa

estradiol adalah penentu fungsi endotel pada wanita pramenopause sehat.⁽¹¹⁾ Sel endotel yang mensekresikan ET-1 bertindak sebagai vasokonstriktor dalam meningkatkan tekanan darah.⁽¹²⁾ Hal tersebut diperkuat dengan penelitian yang melaporkan bahwa gangguan produksi ET-1 berperan terhadap patogenesis hipertensi.⁽¹³⁾ Keterlibatan ET-1 dalam pengembangan hipertensi dan kerusakan vascular juga ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh.⁽¹⁴⁾

Peneliti menduga bahwa salah satu penyebab terjadinya hipertensi adalah akibat penggunaan DMPA jangka panjang yang berhubungan dengan tingginya produksi ET-1. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melihat kadar ET-1 terhadap penggunaan DMPA jangka panjang.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *Depo Medroxy Progesterone Acetate* (DMPA) selama 4 minggu dan 8 minggu terhadap kadar endotelin 1 (ET-1) pada tikus putih Wistar (*Rattus Norvegicus*).

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *True-Experiment* dengan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design*. Lokasi perawatan tikus dilakukan di Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Sedangkan pengukuran kadar ET-1 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSP Universitas Hasanuddin Makassar. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Juli 2018.

Populasi dalam penelitian ini adalah semua tikus wistar betina yang ada di Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Sampel sebanyak 12 ekor tikus (6 ekor tikus untuk kelompok perlakuan dan 6 ekor tikus kelompok kontrol) yang dipilih dengan teknik *non-probability sampling* secara *Quota Sampling* berdasarkan kriteria inklusi yaitu galur wistar, umur 140-168 hari, sehat secara makroskopis, tidak ada kelainan morfologi dan berat badan 200-250 gram

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan darah tikus yang diambil pada minggu ke-4 dan minggu ke-8 yang dilakukan sentrifugasi untuk mengambil bagian plasma darah.. Setelah itu kadar endotelin 1 diperiksa dengan kit ELISA dan ELISA reader.

Data hasil pemeriksaan kadar endothelin 1 kemudian diolah dengan SPSS Statistik 24 dilakukan Uji Normalitas data (*Shapiro Wilk test*) sehingga diperoleh karakteristik sampel yang berdistribusi normal. Lalu dilakukan uji *Paired T-test* untuk mengetahui pengaruh waktu terhadap kadar endotelin 1 dan uji *Levenes Test* untuk mengetahui efek pemberian DMPA terhadap kadar endotelin 1.

HASIL

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kadar endotelin 1

Kadar ET-1 (pg/mL)					
Subjek	Kontrol (K)		Subjek	Perlakuan (P)	
	Minggu ke-4 (K1)	Minggu ke-8 (K2)		Minggu ke-4 (P1)	Minggu ke-8 (P2)
Tikus 1	128.25	159.94	Tikus 7	126.95	126.66
Tikus 2	120.40	132.44	Tikus 8	134.49	130.94
Tikus 3	119.32	109.05	Tikus 9	128.04	148.71
Tikus 4	122.83	119.64	Tikus 10	136.12	128.61
Tikus 5	121.74	114.97	Tikus 11	130.03	123.33
Tikus 6	117.30	124.56	Tikus 12	126.65	134.71
Mean	121.64	126.77	Mean	130.38	132.16

Data dari hasil pengukuran kadar ET-1 dengan metode ELISA (Tabel 1) selanjutnya diolah dengan uji statistik antara lain: uji deskriptif untuk menilai karakteristik subyek penelitian lalu diuji normalitas untuk mengetahui data terdistribusi normal. dan uji komparatif untuk menganalisis perbedaan kadar endotelin-1 antar kelompok pada waktu yang berbeda.

Tabel 2. Analisis pengaruh waktu pemberian DMPA terhadap kadar endotelin 1 (ET-1)

Endotelin 1 (pg/mL)	n	Kontrol rerata (SD)	Pemberian DMPA rerata (SD)
Minggu ke-4	6	121.64 (3.76)	130.38 (4.03)
Minggu ke-8	6	126.77 (18.11)	132.16 (8.97)
		$p = 0.704$	$p = 0.575$

Tabel 2. menunjukkan bahwa waktu pemberian DMPA selama 4 minggu dan 8 minggu tidak mempengaruhi kadar endothelin 1 (nilai $p > 0,05$). Hal ini terlihat pada kelompok kontrol diperoleh $p = 0.704$ dan kelompok kontrol $p = 0.575$.

Tabel 3. menunjukkan adanya pengaruh pemberian DMPA yang cukup kuat terhadap kenaikan kadar endotelin 1 plasma ($p = 0.003$). Pada minggu ke-4, kadar ET-1 pada kelompok perlakuan terlihat lebih tinggi (130.38 ± 4.03 pg/mL) setelah pemberian DMPA selama 4 minggu, dibandingkan dengan kelompok kontrol sebesar 121.64 ± 3.76 pg/mL yang tidak diberikan pemberian DMPA.

Tabel 3. Hasil analisis efek perlakuan terhadap endothelin 1 (ET-1) antar kelompok pada minggu ke-4 dan ke-8

Endothelin 1 (pg/mL)	n	Kontrol rerata (SD)	Pemberian DMPA rerata (SD)	Selisih (IK 95%)	P
Minggu ke-4	6	121.64 (3.76)	130.38 (4.03)	10.03 (13.75-3.72)	0.003
Minggu ke-8	6	126.77 (18.11)	132.16 (8.97)	10.78 (23.78-13.00)	0.528

Sementara DMPA yang diinjeksikan pada selang waktu 4 minggu berikutnya (8 minggu) tidak terlalu mempengaruhi kadar endothelin-1 ($p=0.528$). Jika dibandingkan antara kelompok kontrol dan perlakuan pada minggu ke-8, kadar ET-1 pada kelompok kontrol 126.77 ± 18.11 pg/mL terlihat tidak terlalu jauh perbedaannya dibanding kelompok perlakuan 132.16 ± 8.97 pg/mL. Kadar ET-1 pada kelompok perlakuan terlihat tetap mengalami kenaikan namun tidak terlalu signifikan.

PEMBAHASAN

Data yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar ET-1 pada kelompok perlakuan DMPA pada minggu ke-4 dan minggu ke-8 dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan DMPA. DMPA kelihatannya mampu meningkatkan kadar endothelin 1 dalam tubuh.

DMPA yang diinjeksikan ke dalam tubuh wanita bertujuan untuk menghambat ovulasi. Setelah disuntikkan, MPA akan dilepaskan secara perlahan kedalam sirkulasi sistemik⁽¹⁵⁾ kemudian terikat pada protein plasma⁽¹⁶⁾ lalu menuju sel target untuk menjalankan fungsinya. Namun, ketika DMPA disuntikkan secara teratur kedalam tubuh wanita maka progesteron lebih dominan dan sebaliknya estrogen akan semakin tertekan seiring waktu penggunaan DMPA ini. Penurunan estrogen karena penggunaan DMPA ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan pada 20 wanita yang mendapat suntikan DMPA selama lebih dari 1 tahun menunjukkan kadar estradiol hingga 75 pg/ml.⁽⁷⁾

Diketahui bahwa DMPA dapat menyebabkan peningkatan kadar hormon progesteron dalam darah yang akan dideteksi oleh hipofisis anterior. Keberadaan progesteron menyebabkan efek penghambatan estrogen akan berlipat ganda. Dalam jangka waktu tertentu tubuh dapat mengkompensasi dengan meningkatkan sekresi estrogen agar tetap dalam keadaan normal namun dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan hilangnya kompensasi tubuh sehingga terjadi penurunan kadar estrogen di dalam darah.⁽¹⁷⁾ Penurunan estrogen ini kemudian mempengaruhi fungsi vascular.

Selain kemungkinan efek vaskular dari DMPA yang tidak diinginkan pada fungsi arterial⁽¹⁸⁾, DMPA juga dikaitkan dengan efek buruk pada endotelium.⁽¹⁹⁾ Sejalan dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan kadar ET-1 vaskular pada kelompok pemberian DMPA pada minggu ke-4 dan ke-8 dibanding dengan kelompok kontrol yang tidak diberikan DMPA, meskipun tidak bermakna secara statistik.

Penurunan estrogen diketahui dapat menurunkan kemampuan *nitric oxide* sebagai vasodilator secara langsung di vascular. Efek ini justru akan lebih menonjol dibandingkan dengan pengaruhnya secara langsung terhadap ET-1 dikarenakan estrogen merupakan molekul vasoprotektif penting yang menyebabkan pelebaran pembuluh darah dengan cepat dengan mengaktifkan nitrat oksida sintase endotel (eNOS).

Adapun rentan waktu pemberian DMPA selama 4 minggu dan 8 minggu pada penelitian ini tidak mempengaruhi kadar endothelin-1 plasma karena DMPA diketahui tidak secara langsung dapat mempengaruhi sekresi ataupun produksi ET-1, akan tetapi DMPA terlebih dahulu memberikan efek terhadap penurunan estrogen. Penurunan estrogen yang terjadi pada subyek penelitian ini kemudian akan memberikan pengaruhnya pada beberapa jalur yang juga dapat dilalui dan berperan dalam sekresi ataupun produksi ET-1 yakni: Angiotensin II, MAPK, dan *nitric oxide* (NO). Tersedianya beberapa jalur ini mendukung asumsi bahwa pemberian DMPA membutuhkan waktu lebih lama untuk memberikan pengaruhnya terhadap kadar ET-1.

Mekanisme yang bisa menjelaskan adanya pengaruh DMPA terhadap ET-1 adalah jalur ROS. Estrogen diketahui dapat memodulasi konsentrasi *reactive oxygen species* (ROS) untuk menurunkan protein oksidatif dan / atau meningkatkan ekspresi enzim antioksidan⁽²⁰⁾ sehingga ketika kadar estrogen menurun maka ROS akan meningkat. Peningkatan produksi ROS telah dikaitkan dengan produksi ET-1. Cheng *et al* (2002) melaporkan bahwa, ROS dapat menstimulasi ekspresi gen ET-1 di sel endotel.⁽²¹⁾ Sejalan dengan itu, penelitian yang dilakukan oleh Kahler *et al* (2002) menunjukkan bahwa ROS dapat meningkatkan sintesis dari ET-1 baik pada sel otot polos vaskuler maupun di sel endotel melalui aktivasi dari promotor preproET-1 dan peningkatan konsentrasi mRNA.⁽²²⁾

Semakin besar rangsangan yang diperoleh sel endotel, maka semakin tinggi pula aktifitas sekresi ET-1. Ada beberapa rangsangan yang dapat mengakibatkan sekresi endothelin 1 diantaranya tekanan intraarterial, *shear stress* yang rendah, angiotensin II (Ang.II), vasopresin, katekolamin. Sebaliknya pada penelitian ini, penurunan estrogen yang terjadi pada subyek penelitian diduga hanya memberikan rangsangan dari jalur peningkatan ROS sehingga peningkatan kadar ET-1 yang terlihat tidak bermakna secara statistik

KESIMPULAN

Pemberian DMPA dalam jangka panjang (8 minggu) dapat meningkatkan kadar endothelin-1 plasma pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina. Peningkatan plasma endothelin-1 tampak jelas terjadi terutama pada

minggu ke-4 setelah pemberian DMPA sehingga wanita yang memiliki riwayat hipertensi dianjurkan untuk memilih jenis kontrasepsi selain DMPA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fraser IS, Dennerstein GJ. Depo-Provera use in an Australian metropolitan practice. *Med J Aust.* 1994;160(9):553–6.
2. Trussell J. Contraceptive failure in the United States. Vol. 83, *Contraception.* 2011. p. 397–404.
3. Mishell DR. Pharmacokinetics of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *J Reprod Med.* 1996;41(5 Suppl):381–90.
4. Stanczyk FZ. All progestins are not created equal. In: *Steroids.* 2003. p. 879–90.
5. Taneepanichskul S, Reinprayoon D, Jaisamram U. Effects of DMPA on weight and blood pressure in long-term acceptors. *Contraception* [Internet]. 1999;59(5):301–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10494483>
6. Studi P, Keperawatan I, Ilmu F, Universitas K, Malang M. Perbedaan Pengaruh Pemakaian Kontrasepsi Suntik (Cyclofem Dan Depoprogestin) Terhadap Peningkatan Tekanan Darah Pada Wanita Usia Subur Di Wilayah Kerja The Diffrence Between Injection Contraceptive (Cyclofen And Depoprogestin) to The Increase Of Ferti. 2010;144–50.
7. Jeppsson S, Johansson EDB, Sjöberg NO. Plasma levels of estrogens during long-term treatment with depo-medroxyprogesterone acetate as a contraceptive agent. *Contraception.* 1973;8(2):165–70.
8. Clark MK, Sowers M, Levy BT, Tenhundfeld P. Magnitude and variability of sequential estradiol and progesterone concentrations in women using depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *Fertil Steril.* 2001;75(5):871–7.
9. Yang X-P, Reckelhoff JF. Estrogen, hormonal replacement therapy and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* [Internet]. 2011;20(2):133–8. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00041552-201103000-00007>
10. Morey a K, Razandi M, Pedram a, Hu RM, Prins B a, Levin ER. Oestrogen and progesterone inhibit the stimulated production of endothelin-1. *Biochem J* [Internet]. 1998;330 (Pt 3):1097–105. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1219249&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
11. Sorensen MB, Collins P, Ong PJJ, Webb CM, Hayward CS, Asbury EA, et al. Long-term use of contraceptive depot medroxyprogesterone acetate in young women impairs arterial endothelial function assessed by cardiovascular magnetic resonance. *Circulation.* 2002;106(13):1646–51.
12. Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of Hypertension. Vol. 139, *Annals of Internal Medicine.* 2003. p. 761–76.
13. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* [Internet]. 1988;332(6163):411–5. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/332411a0>
14. Javeshghani D, Barhoumi T, Idris-Khodja N, Paradis P, Schiffrin EL. Reduced macrophage-dependent inflammation improves endothelin-1-induced vascular injury. *Hypertension.* 2013;62(1):112–7.
15. McDaniel EB, Pardthaisong T. Use-effectiveness of six-month injections of DMPA as a contraceptive. *Am J Obstet Gynecol.* 1974;119(2):175–80.
16. Dasuki D, Sanger O, Sudradjat FJ, Pamuji ES. Pengaruh Kontrasepsi Hormonal Planibu ® Versus Depo Progesterin ® Terhadap Fungsi Hepar Dan Profil Lipid Effect of Hormonal Contraception Planibu ® Versus Depo Proges-. 2008;24(3):156–61.
17. Mishell Jr DR, Thorneycroft IH, Nakamura RM, Nagata Y, Stone SC. Serum estradiol in women ingesting combination oral contraceptive steroids. *Am J Obstet Gynecol.* 1972;114(7):923.
18. Miyagawa K, Rösch J, Stanczyk F, Hermesmeyer K. Medroxyprogesterone interferes with ovarian steroid protection against coronary vasospasm. *Nat Med.* 1997;3(3):324.
19. Kawano H, Motoyama T, Hirai N, Yoshimura T, Kugiyama K, Ogawa H, et al. Effect of medroxyprogesterone acetate plus estradiol on endothelium-dependent vasodilation in postmenopausal women. *Am J Cardiol.* 2001;87(2):238–40.
20. Capel ID, Jenner M, Williams DC, Nath A. The effect of prolonged oral contraceptive steroid use on erythrocyte glutathione peroxidase activity. *J Steroid Biochem.* 1981;14(8):729–32.
21. Cheng T-H, Shih N-L, Chen S-Y, Loh S-H, Cheng P-Y, Tsai C-S, et al. Reactive oxygen species mediate cyclic strain-induced endothelin-1 gene expression via Ras/Raf/extracellular signal-regulated kinase pathway in endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33(10):1805–14.
22. Kahler J, Sill B, Koester R, Mittmann C, Orzechowski HD, Muenzel T, et al. Endothelin-1 mRNA and protein in vascular wall cells is increased by reactive oxygen species. Vol. 103, *Clin.Sci.(Lond).* 2002. p. 176S–178S.