

Efek Pemberian *Depo Medroxy Progesteron Acetate (DMPA)* Jangka Panjang terhadap Kadar *Nitric Oxide (NO)* Serum dan Plasma Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Wistar Betina

Nurhayati

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

St. Hadriyanti Hamang

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

ABSTRACT

Long term DMPA usage causes impaired estrogen protection as vasoprotective molecules that can increase production. This study aims to determine the effect of long-term DMPA on NO levels on White Rats (Rattus norvegicus) female wistar. The research was conducted at Animal Entomology Laboratory Faculty of Medical Hasanuddin University. The research designed was Posttest Only Control Group Design with the 12 rats as samples in the study taken with non-probability sampling technique i.e. Quota Sampling. Female rats were given intramuscular injected with DMPA (doses of 2.7 mg) every week and the nitric oxide level was measured analysis used to test average differences of nitric oxide (NO) content was concentration of DMPA was Independent sample T-Test. There was significant difference of NO serum levels between control group and DMPA group at week 8 with p value of 0.018, also NO plasma levels between control group and DMPA administration at week 8 with p value 0.044. It can be concluded that there is significant difference between nitric oxide (NO) in rats given DMPA and those which were not given DMPA for 8 weeks.

Keywords: long term DMPA; estrogen; nitric oxide; female rat

ABSTRAK

Penggunaan DMPA jangka panjang menghambat perlindungan estrogen sebagai molekul vasoprotektif yang dapat meningkatkan produksi NO di vaskuler. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian DMPA jangka panjang terhadap kadar NO pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Wistar Betina. Penelitian dilakukan di Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Desain penelitian *Posttest Only Control Group Design* dengan jumlah sampel yaitu 12 ekor tikus dipilih dengan teknik *non-probability sampling* yaitu secara *Quota Sampling*. Setiap minggu tikus diberikan injeksi DMPA secara intramuscular (dosis 2,7 mg) dan dilakukan pengukuran kadar *nitric oxide* setelah 8 minggu pemberian DMPA dan dilakukan Analisis yang untuk menguji perbedaan rerata kadar *Nitric Oxide* antara kelompok kontrol dan DMPA yaitu menggunakan *Independent sample T-Test*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan bermakna rerata kadar NO serum antara kelompok kontrol dan kelompok pemberian DMPA pada minggu ke-8 dengan nilai *p* 0.018 juga kadar NO plasma pada kelompok kontrol dan pemberian DMPA pada minggu ke-8 dengan nilai *p* 0.044. Disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna antara kadar *nitric oxide* (NO) pada tikus yang diberikan DMPA dan tidak diberikan DMPA selama 8 minggu.

Kata kunci: DMPA jangka panjang; estrogen; *nitric oxide*; tikus betina

PENDAHULUAN

Keluarga Berencana merupakan salah satu strategi pemerintah untuk mengurangi kematian ibu khususnya ibu dengan kondisi 4T; terlalu muda melahirkan (di bawah usia 20 tahun), terlalu sering melahirkan, terlalu dekat jarak melahirkan dan terlalu tua melahirkan (di atas usia 35 tahun).⁽¹⁾ Pencapaian peserta Keluarga Berencana (KB) dari waktu ke waktu terus meningkat, pada tahun 2016 menunjukkan jumlah peserta KB di Indonesia sekitar 74.8% pengguna KB.⁽²⁾ Sekitar 49,7% wanita di Indonesia peserta KB baru dan KB aktif memilih dan menggunakan jenis kontrasepsi suntikan hormonal termasuk jenis *Depo Medroxy Progesterone Acetate (DMPA)*.⁽³⁾

Jenis kontrasepsi yang paling banyak digunakan di dunia sampai saat ini adalah jenis kontrasepsi suntikan DMPA.⁽⁴⁾ DMPA menempati peringkat tertinggi dalam pemilihan kontrasepsi untuk mencegah kehamilan.⁽⁵⁾ DMPA diketahui sebagai kontrasepsi yang paling efektif, dimana angka kehamilan penggunaan DMPA hanya 0,3% pada tahun pertama penggunaan^{(6),(7)} dan merupakan kontrasepsi pilihan yang dapat direkomendasikan pada wanita yang ingin menunda kehamilan.⁽⁷⁾

Penyebab dari peningkatan tekanan darah pada umumnya adalah multifaktorial, salah satu penyebab peningkatan tekanan darah adalah penggunaan KB hormonal yaitu DMPA jangka panjang.⁽²⁾ Sebuah penelitian pada 1.050 wanita, 24% mengalami perubahan tekanan darah yang menunjukkan peningkatan diastolik yang relative cepat dari penggunaan DMPA.⁽⁸⁾ Sebuah penelitian juga memperlihatkan dari penggunaan DMPA

selama 12-24 bulan, sekitar 28 orang (46,7%) diklasifikasikan dalam kategori pra-hipertensi dan 32 orang memiliki tekanan darah normal.⁽⁴⁾ Efek dari penggunaan DMPA juga terlihat dari beberapa penelitian diantaranya penggunaan DMPA jangka panjang menunjukkan kadar estrogen relatif rendah dari penggunaan selama lima tahun.⁽⁹⁾ Sementara itu, penelitian pada tikus juga melaporkan terjadinya ketidakseimbangan hormonal dari penggunaan DMPA⁽¹⁰⁾, serta pemberian DMPA jangka panjang menghambat perlindungan estrogen.⁽¹⁰⁾

Estrogen adalah molekul vasoprotektif penting yang menyebabkan pelebaran pembuluh darah dengan cepat dengan mengaktifkan nitrat oksida sintase endotel (eNOS) melalui mekanisme yang tidak diketahui.⁽⁵⁾ Pemberian Estradiol dapat memperbaiki fungsi endotel, tetapi ketika penambahan progesterone tidak menyebabkan peningkatan fungsi endotel, menunjukkan bahwa progesterone oral bertentangan dengan efek estradiol pada endotel wanita sehat.⁽¹¹⁾ Estrogen dan progesterone bertanggung jawab terhadap efek peningkatan tekanan darah namun mekanisme kerja masih belum diketahui.⁽¹²⁾

Penggunaan DMPA jangka panjang memperlihatkan terjadinya ketidakseimbangan hormonal⁽¹³⁾, kadar estrogen relative rendah⁽⁹⁾, serta terhambatnya perlindungan estrogen.⁽¹⁴⁾ Estrogen sebagai molekul vasoprotektif yang dapat meningkatkan produksi NO di vaskuler⁽¹⁵⁾, NO diketahui sebagai zat vasodilator yang berperan dalam pengaturan keseimbangan tekanan darah.⁽⁵⁾ Namun, bagaimana kadar NO pada penggunaan DMPA jangka panjang hubungannya dengan peningkatan tekanan darah masih belum jelas, sehingga perlu dilakukan study lebih lanjut untuk melihat bagaimana kadar *Nitric Oxide* dari penggunaan DMPA Jangka Panjang pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Wistar Betina.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian DMPA jangka panjang terhadap kadar NO pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Wistar Betina

METODE

Lokasi penelitian adalah di Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Pengukuran Kadar NO di Laboratorium Mikrobiologi RSP Universitas Hasanuddin. Rancangan penelitian yang digunakan adalah penelitian *True-Eksperiment* dengan desain penelitian *Posttest Only Control Group Design*.⁽¹⁶⁾

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) Wistar betina di Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Besar sampel pada penelitian ini menggunakan 6 ekor tikus untuk setiap kelompok. Jadi jumlah sampel yaitu 12 ekor tikus, 6 ekor tikus control dan 6 ekor tikus perlakuan. Penentuan jumlah tikus untuk masing-masing kelompok sesuai dengan ketentuan yang dikeluarkan oleh WHO yaitu minimal 5 ekor tikus untuk setiap perlakuan. *Sampling*.⁽¹⁶⁾ Penelitian ini terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok kontrol (tidak diberikan DMPA) yaitu 6 ekor tikus betina dan perlakuan DMPA yaitu 6 ekor tikus betina, jadi jumlah sampel dalam penelitian yaitu 12 ekor tikus

Sebelum dilakukan tindakan dan perlakuan pada tikus, peneliti melakukan pengurusan rekomendasi persetujuan etik pada komite etik penelitian kesehatan universitas hasanuddin fakultas kedokteran RSPTN universitas Hasanuddin dan menyayakan bahwa protocol dan dokumen yang berhubungan dengan protocol penelitian telah mendapatkan persetujuan etik pada Laboratorium Entomologi Hewan Fakultas Kedokteran Unhas dan laboratorium Mikrobiologi Universitas Hasanuddin. Setelah mendapat persetujuan dari Komite Etik maka selanjutnya dilakukan perlakuan. Tikus akan disuntik DMPA secara intramuskular (IM) pada otot *quadriceps* menggunakan dosis 2,7 mg/minggu selama 8 minggu. Konversi Dosis tersebut diperoleh dari:

Dosis DMPA untuk Tikus dengan BB 200 gram

= Dosis Lazim DMPA pada Manusia x Faktor konversi

= 150 mg x 0,018

= 2,7 mg/minggu

Seluruh sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) Wistar betina akan dikandangkan secara berkelompok di Laboratorium Entomologi Fakultas Kedokteran Unhas. Selama penelitian berlangsung, sampel akan mendapatkan pakan dan air minum standar yang sama. Untuk adaptasi, sampel hanya akan diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama tujuh hari pertama. Pengambilan sampel darah tikus pada minggu ke-4 dan minggu ke-8 setelah perlakuan DMPA. Pengambilan darah dilakukan di daerah vena mata menggunakan pipa kapiler sebanyak 0,5 ml dan diukur menggunakan spuit 1cc, kemudian dimasukkan ke dalam tabung pengambilan darah. Kemudian dilakukan persiapan spesimen plasma menggunakan EDTA, serum menggunakan tabung tanpa EDTA dilanjutkan dengan melakukan centrifuge dengan kecepatan 2000-3000 RPM selama 15 menit, selanjutnya plasma dan serum yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu -20°C. Pemeriksaan kadar NO menggunakan *microplate reader* (*Elisa reader*) pada panjang gelombang 450 nm. Adapun prosedur pemeriksaan kadar Nitric Oxide (NO) dengan metode ELISA pada Laboratorium Mikrobiologi di RSP Universitas Hasanuddin.

Analisis normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Data berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$. Analisis yang digunakan untuk menguji perbedaan rerata kadar *Nitric Oxide* (NO) pada 2 kelompok tidak

berpasangan (kelompok kontrol DMPA dan kelompok pemberian DMPA) yaitu *Independent sample T-Test* karena seluruh data berdistribusi normal dengan tingkat kemaknaan 5% ($p < 0,05$).

HASIL

Analisis Deskriptif

Tabel 1. Hasil analisis deskriptif data kadar NO serum dan plasma antar kelompok

Nitric Oxide (µM)	Kelompok Uji	n	Rerata NO (µM)	SD
Serum	Kontrol	6	0,41	0,63
	DMPA	6	0,31	0,60
Plasma	Kontrol	6	0,49	0,12
	DMPA	6	0,35	0,07

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar NO baik pada plasma dan serum pada kelompok pemberian DMPA lebih rendah dibanding kelompok kontrol (tanpa pemberian DMPA pada minggu ke-8

Analisis Bivariat

Tabel 2. Hasil analisis perbedaan kadar *nitric oxide* (NO) plasma dan serum antar kelompok pada minggu minggu ke-8

Nitric Oxide (µM)	n	Kontrol Rerata (SD)	DMPA Rerata (SD)	Selisih (IK95%)	p
Serum	6	0,41(0,63)	0,31 (0,60)	-0,10(-0,18-(-0,21)	0,018
Plasma	6	0,49 (0,12)	0,35 (0,07)	-0,13(-0,26-(-0,04)	0,044

*Independent sample T-Test. *Levenes Test* Varian sama*

Tabel 2 menunjukkan ada perbedaan rerata kadar NO serum dan plasma pada minggu ke-8 antara kelompok kontrol dan kelompok pemberian DMPA. Kadar rerata NO serum pada kelompok kontrol lebih tinggi dari kelompok pemberian DMPA sedangkan rerata kadar NO plasma pada kelompok kontrol juga lebih tinggi dari kelompok pemberian DMPA.

PEMBAHASAN

Untuk menguji efek pemberian *Depo Medroxy Progesterone Acetate* (DMPA) jangka panjang terhadap kadar nitric oxide, maka dilakukan penelitian eksperimental dengan rancangan *Posttest Only Control Group Desain* menggunakan 12 tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar betina, dewasa umur 140-168 hari, dengan berat badan tikus 200-250 gram. Tikus tersebut dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan DMPA. Kelompok kontrol diberikan pakan standard dan minum *ad libitum* tiap hari selama perawatan dan perlakuan DMPA. Kelompok perlakuan diberikan DMPA dengan dosis 2,7 mg/minggu selama 8 minggu kemudian dilakukan pengukuran kadar NO pada minggu ke-8.

Berdasarkan hasil uji normalitas seluruh data kadar *Nitric Oxide* (NO) tikus baik pada kelompok kontrol dan perlakuan data yang diperoleh berdistribusi normal. Hasil Uji *unpaired t-test* digunakan untuk melihat pengaruh DMPA pada Minggu minggu ke-8 kelompok kontrol dan pemberian DMPA diperoleh nilai $p < 0.05$ yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan pemberian DMPA.

Dalam penelitian ini terlihat perbedaan bermakna kadar *nitric oxide* (NO) pada kelompok tikus yang diberikan DMPA, kadar NO serum dan plasma pada kelompok DMPA minggu ke-8 lebih rendah dibanding kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa produksi kadar *nitric oxide* baik serum maupun plasma mengalami penurunan minggu ke-8 pemberian DMPA. lamanya waktu pemberian memberikan efek penurunan kadar NO pada tikus yang diberikan DMPA. Sedangkan pada kelompok tikus yang tidak diberikan DMPA minggu ke-8 rerata kadar NO serum dan plasma lebih tinggi pada minggu ke-8 pengukuran.

Efek pemberian DMPA jangka panjang terhadap estrogen fungsinya pada vaskuler dalam produksi kadar nitric oxide yang berperan sebagai zat vasodilator dapat dilihat antara kelompok yang diberikan DMPA dengan kelompok yang tidak diberikan DMPA pada minggu ke-8 pengukuran terlihat terjadi penurunan kadar nitric oxide serta terlihat perbedaan bermakna kadar nitric oxide antara kelompok yang tidak diberikan DMPA dan kelompok yang diberikan DMPA pada minggu ke-8.

Hal ini berhubungan dengan teori dan hasil penelitian menyebutkan bahwa kadar estrogen relative rendah dari penggunaan DMPA selama lima tahun.⁽⁹⁾ Pemberian dan penambahan DMPA dalam waktu yang lebih

lama menghambat perlindungan estrogen.⁽¹⁴⁾ Sedangkan Tanepanicchakul, dkk menyatakan bahwa pada pemakaian KB DMPA jangka panjang terjadi penurunan kadar estradiol sampai mencapai kadar terendah tetapi masih dalam kisaran pada fase folikuler dini tetapi masih lebih tinggi dibandingkan pada keadaan menopause.⁽¹⁷⁾

Penelitian menunjukkan peran hormone steroid pada wanita yang berperan dalam keseimbangan vasodilator dan vasokonstriktor di pembuluh darah. Beberapa bukti telah menunjukkan Estrogen dan progesterone berperan dalam produksi kadar NO.⁽¹⁸⁾ Kadar *nitric oxide* di endothel meningkat ketika estradiol juga meningkat dan menurun selama progesterone tinggi.⁽¹⁹⁾

Kadar *nitric oxide* (NO) di endothelium meningkat selama fase folikuler siklus menstruasi bersamaan dengan meningkatnya *17β estradiol* dan menurun selama fase progesterone postovulasi yaitu pada saat fase progesterone tinggi.⁽¹⁹⁾

Estrogen adalah molekul vasoprotektif menyebabkan pelebaran pembuluh darah dengan cepat mengaktifkan *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS)^{(5),(20)}, meningkatkan produksi NO dan relaksasi vaskuler⁽²¹⁾, aktivator cepat *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) dan penentu utama homeostatis kardiovaskuler.⁽²²⁾

Penelitian memperlihatkan dari penggunaan DMPA selama satu tahun yang mengalami peningkatan tekanan darah sebanyak 47 orang dari 100 ibu yang diteliti⁽⁴⁾, penelitian lain juga memperlihatkan bahwa ibu yang menggunakan DMPA selama 2 tahun sekitar 46.7% yang dikategorikan dalam pra-hipertensi.⁽²³⁾ Hasil dari penelitian tersebut memperlihatkan penggunaan DMPA mempengaruhi peningkatan tekanan darah, dimana peningkatan tekanan darah ini dihubungkan dengan penggunaan DMPA yang panjang dapat menekan NO sebagai zat vasodilator dalam pengaturan tekanan darah.

Penelitian lain yang dilakukan Taneepanichskul (1979) mengatakan bahwa progesteron berperan dalam kejadian hipertensi diperlukan evaluasi lebih lanjut, karena pasien yang hipertensi setelah pengobatan DMPA masih kontroversial, hal ini terlihat setelah pemberian 3 bulan DMPA tidak menyebabkan hipertensi secara klinis.⁽¹⁷⁾ Beberapa penelitian gagal menemukan secara signifikan bahwa DMPA dikaitkan dengan peningkatan tekanan darah. Penelitian ini memperlihatkan belum adanya efek dari penggunaan DMPA selama 3 bulan, hal ini dikaitkan bahwa penggunaan jangka panjang mempengaruhi kadar NO

Hal ini terlihat juga dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Runiari dkk⁽⁴⁾ juga menjelaskan bahwa dari penggunaan kontrasepsi suntikan progesterone selama < 12 bulan kebanyakan mempunyai tekanan darah normal yaitu 11 responden (73,3%). Kelompok responden yang memakai kontrasepsi suntikan selama 12-24 bulan kebanyakan mempunyai tekanan darah masih normal yaitu 16 responden (55,2%). Sedangkan kelompok responden yang memakai kontrasepsi suntikan > 24 bulan kebanyakan memiliki tekanan darah yang tergolong pre-hipertensi yaitu 11 responden (68,8%). Hasil dari penelitian ini memperlihatkan bahwa semakin lama penggunaan DMPA maka semakin meningkatkan risiko mengalami peningkatan tekanan darah, dimana peningkatan tekanan darah ini dihubungkan dengan penggunaan DMPA yang lebih lama dapat menekan NO sebagai zat vasodilator dalam pengaturan tekanan darah.

Studi klinis dan hewan telah menunjukkan efek menguntungkan estrogen pada sistem vaskular. Namun, karena estrogen mempengaruhi begitu banyak proses seluler, sangat penting untuk memahami yang lebih luas tentang mekanisme molekuler, baik genom dan non-genomik, dimana estrogen menginduksi sinyal seluler dan memodulasi respons vaskular terkait penggunaan DMPA jangka panjang.⁽²⁴⁾

Keterlibatan reseptor ET_B dalam produksi dan pelepasan NO di endothel melalau ET-1 yang selanjutnya akan berperan dalam relaksasi otot polos perlu dikaji lebih lanjut, mengingat penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan reseptor ET_B sehingga sulit untuk menentukan apakah efek dari penggunaan DMPA telah mempengaruhi reseptor ET_B dalam produksi NO dari penggunaan DMPA.

KESIMPULAN

Setelah 8 minggu pemberian DMPA kadar NO serum dan plasma lebih rendah dibandingkan tikus yang tidak diberikan DMPA. Hal ini menunjukkan pemberian DMPA jangka panjang (8 minggu) dapat menekan produksi nitric oxide (NO) serum dan plasma pada tikus wistar betina. Perlu dipertimbangkan untuk menambah lamanya waktu pemberian DMPA untuk lebih melihat efek yang signifikan dan bermakna dari penggunaan DMPA yang lebih lama terhadap kadar *nitric oxide* (NO). Penelitian ini hanya menggunakan total 12 sampel tikus, termasuk sampel yang kecil untuk dilakukan statistik, maka perlu dilakukan penambahan sampel lebih besar agar dapat diterima secara statistik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia 2015. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2016.
2. Tendean B, Hamel RS. Hubungan Penggunaan Alat Kontrasepsi Suntik Depomesroksi Progesteron Asetat (DMPA) dengan Tekanan Darah pada Ibu di Puskesmas Ranotana Weru. 2017;5.
3. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia 2017. Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
4. Runiari N, Kusmarjathi NK. Hubungan antara Lama Pemakaian Kontrasepsi Suntikan Progesterin (Depoprovera) dengan Tekanan Darah pada Akseptor KB di Puskesmas II Denpasar Selatan. 2011;7-12.

5. Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, Shaul PW. Estrogen receptor mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J Clin Invest.* 1999;103(3):401-6.
6. Segall-Gutierrez P, Xiang AH, Watanabe RM, Trigo E, Stanczyk FZ, Liu X, وآخ. Deterioration in cardiometabolic risk markers in obese women during depot medroxyprogesterone acetate use. *Contraception* 36:(1)85;2012. [انترنت]. موجود في: <http://dx.doi.org/10.1016/j.contraception.2011.04.016>
7. Westhoff C. Depot-medroxyprogesterone acetate injection (Depo-Provera®): A highly effective contraceptive option with proven long-term safety. *Contraception.* 2003;68(2):75-87.
8. Leiman G. Depo-medroxyprogesterone acetate as a contraceptive agent: its effect on weight and blood pressure. *Am J Obstet Gynecol* 97:(1)114;1972. [انترنت]. موجود في: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(72\)90296-7](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(72)90296-7)
9. Nakamura MDRJKKI. Estrogenic activity in women receiving an injectable progestogen for contraception. *TT -. Am J Obstet Gynecol* 372:(3)113;1972. [انترنت]. موجود في: [http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378\(72\)90687-4](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9378(72)90687-4)
10. Bakry S, Hassan AM, Shahat MMA, Abdullah A. Effect of Depo-Provera on Estrous Cyclicity , Serum Proteins and Lipid Profile in Mice. *World Appl Sci J.* 2010;8(9):1042-9.
11. Miner JA, Martini ER, Smith MM, Brunt VE, Kaplan PF, Halliwill JR, وآخ. Short-term oral progesterone administration antagonizes the effect of transdermal estradiol on endothelium-dependent vasodilation in young healthy women. *AJP Hear Circ Physiol* 301;2011. [انترنت]. موجود في: <http://ajpheart.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajpheart.00405.2011>
12. Woods JW. Oral contraceptives and hypertension. *Hypertension* 11;1988. [انترنت]. موجود في: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3280486>
13. Bakry S, Abdullah A. Effect of Depot Medroxyprogesterone (Dmpa) on Body Weight and Serum Lipid Profile in Adult Female Rats. *Egypt J Biochem Mol Biol.* 2009;27:17-30.
14. Lestari IP, Wagiyono, Elisa. Hubungan Antara Lama Penggunaan Metode Kontrasepsi Hormonal Dengan Kejadian Hipertensi. *Keperawatan.* 2013;1-5.
15. McNeill AM, Kim N, Duckles SP, Krause DN, Kontos HA. Chronic Estrogen Treatment Increases Levels of Endothelial Nitric Oxide Synthase Protein in Rat Cerebral Microvessels Editorial Comment. *Stroke* 2186:(10)30;1999. [انترنت]. موجود في: <http://stroke.ahajournals.org/content/30/10/2186.short>
16. S N. Metodologi Penelitian Kesehatan. في Jakarta: PT Rineka Cipta; 2012.
17. Taneepanichskul S, Intaraprasert S, Theppisai U, Chaturachinda K. Bone mineral density in long-term depot medroxyprogesterone acetate acceptors. *Contraception.* 1997;56(1):1-3.
18. White MM, Zamudio S, Stevens T, Tyler R, Lindenfeld J, Leslie K, وآخ. Estrogen, progesterone, and vascular reactivity: Potential cellular mechanisms. *Endocr Rev.* 1995;16(6):739-51.
19. Roselli M, Imthrun B ME. Circulating nitrate/nitrite levels increase with follicular development: Indirect evidence for estradiol mediated NO release. Department Obstetrics and Gynecology, clinic of Endocrinology, University Hospital Zurich, Switzerland; 1994. Department Obstetrics and Gynecology, clinic of En.
20. McNeill AM, Zhang C, Stanczyk FZ, Duckles SP, Krause DN. Estrogen increases endothelial nitric oxide synthase via estrogen receptors in rat cerebral blood vessels: Effect preserved after concurrent treatment with medroxyprogesterone acetate or progesterone. *Stroke.* 2002;33(6):1685-91.
21. Knowlton AA, Lee AR. Estrogen and the cardiovascular system. *Pharmacol Ther* [انترنت]. 2012;135(1):54-70. موجود في: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.03.007>
22. Haynes MP, Sinha D, Russell KS, Collinge M, Fulton D, Morales-ruiz M, وآخ. Endothelial Nitric Oxide Synthase via the PI3-Kinase – Akt. 2000;677-82.
23. Ardiansyah A, Fachri M, Studi P, Dokter P, Kedokteran F. Hubungan Penggunaan Kontrasepsi Suntik Tiga Bulanan selama Satu Tahun dengan Peningkatan Tekanan Darah. 2017;11(1):56-62.
24. Tostes RC, Nigro D, Fortes ZB, Carvalho MHC. Effects of estrogen on the vascular system. *Brazilian J Med Biol Res.* 2003;36(9):1143-58.