

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf11nk314>

Pengaruh Pemberian EVOO Terhadap Berat Badan Lahir Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) pada Induk Model Preeklampsia

Evi Irianti

Jurusan Kebidanan, Poltekkes Kemenkes Medan; evidesman@gmail.com (koresponden)

Syafruddin Ilyas

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara

Rosidah

Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara

Salomo Hutahaen

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara

Ramlan Silaban

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Medan

ABSTRACT

Pre eclampsia is believed to be caused by a mismatch of antioxidants in the body which can be prevented by the administration of EVOO. EVOO which is proved to be rich in tocopherol which plays an important role in preventing this mismatch, thus both free radicals and antioxidants are in balanced concentration, particularly during pregnancy. This study was a laboratory based pre and post test with control group design which was conducted in total of 25 pregnant female albino rats from Sprague Dawley strain with body weight of approximately 200 grams. Samples were then grouped into P0 as control group and other 4 experimental group (P1, P2, P3, P4). Experimental group was given injection of 6% sodium chloride solution as much as 3 ml/day on the 6th until 12th day of their pregnancy and was given stimulation of acute stress on day 18th to model these groups into having pre eclampsia. All these four groups were then given EVOO on day 13th to 19th, except P1. On day 20th, all samples were executed. We found that birth weight among rats within experimental groups which were given either mild or moderate dose of EVOO showed no significant difference compared to control group, 71,43% fetus was found dead in P1, and 41,94% was found in P4. Thus, we concluded that EVOO was able to suppress free radicals and we suggested that other natural antioxidants, such as GPx, GSH and vitamin E should be furtherly investigated to see how these antioxidants work in altering the lipid peroxidation process after the administration of EVOO.

Keywords: EVOO; birth weight

ABSTRAK

Salah satu penyebab preeklampsia adalah ketidak seimbangan antioksidan di dalam tubuh dan dapat dicegah dengan pemberian EVOO. Pemberian EVOO yang kaya akan kandungan tokoferol bertujuan untuk mencegah ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan khususnya pada kondisi hamil. Rancangan penelitian ini pre and post test with control group design di laboratorium. Subyek tikus putih betina bunting, galur Sprague Dawley, BB ± 200 g. Total sampel 25 ekor terdiri atas kelompok kontrol (P0) dan 4 kelompok perlakuan sebagai model preeklampsia (P1, P2, P3, P4). Model preeklampsia dilakukan dengan injeksi NaCl 6% 3 ml/hari pada hari ke 6 – 12 periode kebuntingan dan stres akut hari ke18 sekali saja. Seluruh kelompok perlakuan diberi EVOO kecuali P1, dari hari ke 13 - 19. Hari ke 20, seluruh tikus dieksekusi. BBL kelompok perlakuan yang diberi EVOO dosis rendah maupun sedang tidak beda dengan kontrol, 71,43% fetus mati pada kelompok P1, dan 41,94% pada P4. Kesimpulan EVOO mampu menekan radikal bebas dalam darah. Disarankan untuk mengukur antioksidan alami lainnya seperti GPx, GSH serta vitamin E untuk mengetahui peranan dalam mereduksi peroksida lemak setelah pemberian EVOO.

Kata kunci: EVOO; berat badan lahir

PENDAHULUAN

Preeklampsia (PE) merupakan salah satu faktor yang menyebabkan kematian pada ibu, selain perdarahan dan infeksi. Preeklampsia dapat terjadi pada ibu hamil yang awalnya sehat, ditandai oleh hipertensi gestasional dan proteinuria, sehingga menimbulkan penyulit kehamilan dan dapat berakibat terjadinya komplikasi persalinan, diduga sekitar 5-15% dari kehamilan.^(1, 2)

Hasil studi sebelumnya diketahui preeklampsia disebabkan oleh ketidakseimbangan antara antioksidan dengan radikal bebas, karena terjadinya kegagalan remodeling arteri spiralis sehingga plasenta mengalami iskemia dan hipoksia, menghasilkan suatu radikal hidroksil yang sangat toksik. Kondisi ini menyebabkan kerusakan membran sel endotel yang kaya akan kandungan asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida, dan

produk akhirnya adalah Malondialdehyde (MDA). Malondialdehyde diduga penyebab terjadinya stress oksidatif, yang menjadi salah satu penanda pada penderita preeclampsia.^(3, 4, 5) Lipid peroksida yang beredar di dalam aliran darah akan merusak sel endotel dan akan menyebabkan penurunan produksi nitric oxide serta peningkatan tekanan darah, sehingga dapat memberi pengaruh buruk untuk kesehatan janin.⁽³⁾

Berdasarkan uraian di atas tersebut maka diperlukan upaya pencegahan PE, salah satunya dengan pemberian antioksidan seperti suplemen kombinasi antara vitamin C dan vitamin E, ternyata secara signifikan dapat menurunkan kejadian preeclampsia.⁽⁶⁾ Selain itu, telah diketahui juga bahwa minyak zaitun ternyata kaya akan antioksidan yang cukup tinggi, khususnya jenis extra virgin olive oil (EVOO). EVOO kaya akan kandungan polifenol, hidroksitirosol, juga unsaponifiable dan kandungan fenol lainnya seperti tyrosol, serta tokoferol (dalam hal ini α -tokoferol).⁽²⁾

Tokoferol yang terdapat di dalam EVOO, 95% adalah jenis α -tokoferol, merupakan antioksidan yang sangat baik, dan diharapkan dapat memperbaiki kondisi preeclampsia yang diakibatkan berkurangnya kadar antioksidan di dalam tubuh ibu hamil.

Oleh karena itu penulis tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian EVOO pada berat badan lahir bayi dengan preeclampsia. Berdasarkan pertimbangan etika serta keamanan bahan yang dipakai terhadap ibu dan fetus, kesulitan mendapatkan relawan, juga faktor eksternal seperti nutrisi yang tidak mudah untuk dikendalikan, maka digunakan model hewan coba yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) bunting dalam penelitian ini.

METODE

Jenis penelitian ini adalah *true experiment* yang dilakukan di laboratorium Fakultas Kedokteran Departemen Farmakologi dan Terapi Universitas Padjajaran Bandung dan Eijkman Bandung dari Januari-September 2017, dengan rancangan *pre and post test with control group design*. Subyek penelitian adalah tikus putih betina dara dengan galur Sprague Dawley, berumur 8-11 minggu serta berat badan berkisar ± 200 gram, tikus dalam kondisi sehat, gerakan cukup lincah dan tidak menunjukkan cacat fisik. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas 1 kelompok kontrol dan 4 perlakuan, dengan besar sampel minimal terdiri atas 25 ekor. Setiap kelompok hewan coba terdiri atas 5 ekor. Penentuan setiap kelompok dilakukan dengan simple random sampling.

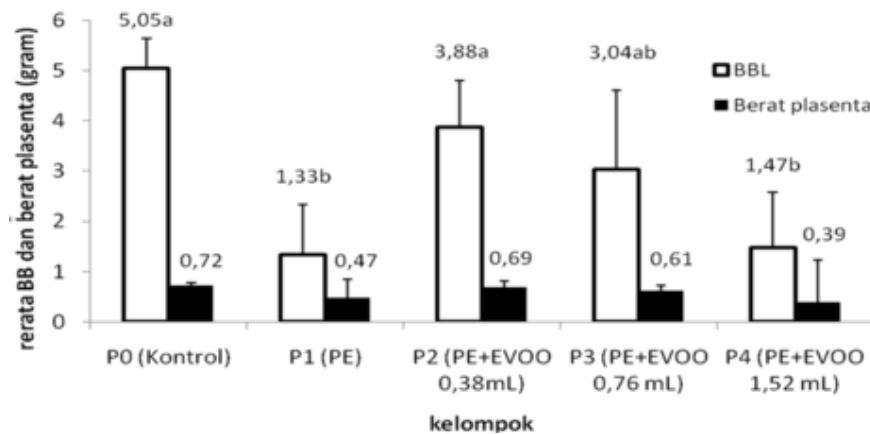
Penelitian dilakukan setelah mendapatkan ethical clearance dari komite etik penelitian hewan coba FMIPA USU dengan nomor 158/KEPH-FMIPA/2016.

Sebelum penelitian berlangsung, 25 ekor tikus putih betina diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari dan diberi pakan (AIN93-M) dan air minum secara ad libitum. Kandang terbuat dari bak plastik tertutup dengan anyaman kawat luas 1 cm, dikondisikan dengan suhu ruangan 20-24,5 °C, kelembapan relatif ($50 \pm 10\%$) serta mendapatkan periodisitas sinar (12 jam terang dan 12 jam gelap). Ruang tempat kandang dengan ventilasi yang baik, penyiaran normal. Sekam alas kandang diganti setiap hari. Tikus dikawinkan dengan menempatkan 1 ekor tikus jantan dan 3 ekor betina dalam satu kandang untuk proses kopulasi. Perkawinan dilakukan selama tiga hari di kandang betina. Tikus betina yang telah bunting diidentifikasi dengan cara menandai pada ekornya. Setiap 5 ekor tikus putih betina yang bunting dikelompokkan dalam satu kandang.

Setelah dipastikan kebuntingan tikus putih betina, pada hari ke 5 seluruh hewan coba kelompok kontrol dan perlakuan diukur tekanan darah. Hari ke 6 -12 seluruh kelompok perlakuan diberikan injeksi NaCl 6% dengan dosis pemberian 3 ml/hari secara subcutan ataupun intramuscular. Kelompok kontrol tidak diberikan injeksi NaCl 6%. Kelompok perlakuan dibagi atas 4 kelompok. Hari ke 13 seluruh kelompok kontrol dan perlakuan diukur kembali tekanan darah untuk mengetahui peningkatan tekanan darah. Selanjutnya mulai hari ke 13 – 19 pada kelompok perlakuan diberikan EVOO peroral dengan dosis pemberian yang telah ditentukan yaitu P2: 0,38 mL/kgBB/hari, P3: 0,76 mL/kgBB/hari, P4: 1,52 mL/kgBB/hari. Kelompok perlakuan P1 sebagai kontrol positif tidak diberikan EVOO tetapi sebagai gantinya diberikan air minum biasa 2 mL. Kelompok kontrol (P0) tidak diberikan intervensi apapun. Hari ke 18 diberikan stres akut yang bertujuan untuk mengetahui peningkatan tekanan darah. Stres akut dilakukan pada seluruh kelompok perlakuan kecuali kontrol dengan cara memasukkan tikus ke dalam selongsong tikus selama 30 menit, dilakukan hanya sekali saja. Setelah pemberian stres akut tekanan darah diukur kembali pada seluruh kelompok kontrol dan perlakuan. Hari ke 20 tikus dieksekusi dengan anestesi injeksi ketamin/im, dosis 0,3 cc. Kemudian tikus dibedah, diambil fetusnya, ditimbang berat badan dengan timbangan digital “ACIS”.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat diketahui berat badan lahir dan berat plasenta yang dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut.



Gambar 1. Grafik rerata BBL dan berat plasenta tikus putih kelompok kontrol dan perlakuan (huruf kecil yang berbeda merupakan signifikan)

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui ada pengaruh pemberian EVOO yang signifikan terhadap BBL fetus tikus putih (berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis $P = 0,006$ atau dengan kata lain BBL kelompok kontrol maupun perlakuan beda nyata. Berat badan lahir fetus kelompok kontrol dalam penelitian ini yaitu 5,05 gram (rujukan 2–3 gram), lebih besar dari biasanya dan berbeda seperti yang didapatkan oleh Nelawati (2016) bahwa BBL fetus normal 3,2 gram.⁽⁷⁾ Berdasarkan teori diketahui bahwa bobot lahir tikus dipengaruhi oleh pertumbuhan fetus sebelum lahir atau pertumbuhan selama kebuntingan.⁽⁸⁾ Berat lahir plasenta pada gambar di atas diketahui tidak beda nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan (hasil uji Anova, $P = 0,059$) atau dengan kata lain tidak ada pengaruh pemberian EVOO yang signifikan terhadap berat plasenta tikus putih kelompok kontrol maupun perlakuan, meskipun pada gambar diketahui semakin berat plasenta maka semakin berat juga BBL. Plasenta mempunyai peranan penting dalam memberikan pasokan nutrisi yang adekuat kepada fetus, oleh karena itu plasenta yang memiliki ukuran lebih besar maka biasanya suplai nutrisi kepada fetus akan lebih besar pula sehingga mempengaruhi BBL nantinya. Kerusakan sel endotel yang terjadi pada plasenta dengan PE menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan.

Fetus yang diberi EVOO dengan dosis rendah dan sedang BBL fetus tidak begitu jauh berbeda atau dengan kata lain BBL fetus sama dengan BBL fetus normal lainnya. Hal ini karena kandungan α -tokoferol mampu menurunkan kadar MDA plasma induk tikus secara signifikan sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan sel endotel plasenta karena kemampuannya dalam memutus rantai reaksi radikal bebas dengan cara bereaksi terhadap radikal peroksid, sehingga mengurangi resiko terjadinya insufisiensi plasenta yang dapat menyebabkan penurunan berat badan bayi. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nelawati (2016) tentang manfaat vitamin E pada BBL fetus tikus. Peneliti tersebut menjelaskan bahwa dengan dosis rendah sampai sedang (100-200 mg/kgBB/hari) dapat meningkatkan BBL fetus tikus.⁽⁷⁾ Penelitian Nelawati tersebut juga sejalan dengan penelitian Salem (2015) yang melaporkan bahwa fetus tikus putih bunting yang diberi EVOO memiliki BB lahir yang lebih rendah dari kontrol karena memiliki kandungan nutrisi yang seimbang dan penting untuk mengontrol perkembangan lemak yang optimal pada fetal intrauterine sejak dari awal kehamilan karena mengandung MUFA.⁽⁹⁾ Salah satu keuntungannya adalah kandungan MUFA tersebut mampu mengurai lemak yang tersimpan, sehingga berat fetus yang dilahirkan tidak terlalu besar, khususnya kelompok perlakuan EVOO dengan dosis rendah dan sedang, BB fetus sedikit di atas rerata.

Dampak preeklampsia pada fetus adalah kekurangan gizi akibat pasokan nutrisi yang tidak adekuat, mengakibatkan gangguan pertumbuhan sehingga kesehatan fetus serta berat badannya terganggu, juga menyebabkan kematian fetus. Kelompok P1 (model preeklampsia) dari 36 fetus yang dilahirkan, sekitar 71,43% fetus mati. Kelompok P4 (model preeklampsia yang diberi EVOO dosis 1,52mL) yaitu sekitar 41,94% fetus mati dari total fetus 44 ekor yang dilahirkan. Kondisi ini diduga akibat vasokonstriksi yang menimbulkan peningkatan total perifer resisten dan hipertensi, menyebabkan terjadinya hipoksia pada sel endotel khususnya pada arteri spiralis sehingga terjadi penurunan perfusi utero plasenta menyebabkan terjadi proses hiperoksidase sehingga membutuhkan konsumsi oksigen yang lebih tinggi. Akibat kondisi ini menyebabkan terganggunya metabolisme di dalam sel itu sendiri. Hiperoksidase menghasilkan peroksidase lemak yang merupakan suatu radikal bebas. Jika kondisi ini tidak diikuti dengan keseimbangan dengan antioksidan, hal ini akan menimbulkan

stres oksidatif. Hal ini terbukti dengan masih tingginya kadar MDA plasma kelompok P1 pada akhir kehamilan. Kondisi ini diduga menyebabkan terjadinya kematian janin pada preeklampsia seperti yang dialami oleh kelompok P1.^(2, 10, 11, 12, 13)

Kelompok P4 yang merupakan model preeklampsia diberi EVOO dosis tinggi juga mengalami kematian janin di dalam kandungan. Hal ini diduga bahwa EVOO dosis pemberian tinggi tidak dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi karena kandungan tokoferol (vitamin E) yang larut dalam minyak tidak dapat diabsorpsi oleh hati dengan baik, sementara beban kerja hati meningkat akibat peroksidase asam lemak jenuh, sehingga semakin memperburuk stres oksidatif yang terjadi.⁽²⁾ Pemberian EVOO dengan dosis rendah dan sedang dapat memperbaiki kondisi stres oksidatif yang terjadi pada model preeklampsia, sehingga tidak mempengaruhi jumlah anak dan kematian janin seperti pada kelompok perlakuan lainnya. Hal ini diduga bahwa α -tokoferol yang terdapat dalam EVOO dapat memutus mata rantai reaksi asam lemak jenuh berantai sehingga tidak sampai merusak membran sel, dan struktur sel lainnya seperti mitokondria bahkan perubahan yang terjadi pada DNA. Struktur fungsi endotel tidak berubah, sehingga iskemia plasenta tidak terjadi, dan pada akhirnya pasokan nutrisi adekuat terhadap fetus tikus putih.⁽⁵⁾

KESIMPULAN

Rerata BBL fetus pada kelompok model preeklampsia yang diberi EVOO tidak berbeda dengan kontrol. Hasil penelitian ini dapat disarankan untuk dilanjutkan ke uji klinis, tentunya dengan sampel yang lebih besar. Selain itu dianjurkan untuk mengukur antioksidan alami lainnya seperti GPx, GSH serta vitamin E untuk mengetahui peranan dalam mereduksi peroksida lemak setelah pemberian EVOO.

DAFTAR PUSTAKA

1. Irianti E. Pemanfaatan Evoo Untuk Pencegahan Preeklampsi Dengan Uji Coba Model Preeklampsia Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Bunting Model Preeklampsia. Setyorini D, editor. Ponorogo: Forum Ilmiah Kesehatan Forikes; 2019.
2. Irianti E. Pengaruh Pemberian Evoo Terhadap Kadar MDA Plasma dan Ekspresi Protein Hsp70 , Bcl-2 pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Bunting Model Preeklampsia. 2018.
3. Hung JH. Oxidative stress and antioxidants in preeclampsia. *J Chinese Med Assoc.* 2007;70(10):430–2.
4. Chen D. Human Placental MicroRNAs and Preeclampsia. *BOR Pap Press [Internet].* 2013;10(April):1–14. Available from: https://www.researchgate.net/publication/236030289_Human_Placental_MicroRNAs_and_Preeclampsia
5. Irianti E, Ilyas S, Hutahaen S. The Role of EVOO (Extra Virgin Olive Oil) in Serum MDA Concentration and Blood Pressure of Pregnant Mice (*Rattus norvegicus*) with. 2018;11(March):5958.
6. Takiuti NH, Zugaib M, Kahlale S. Stress in pregnancy: A new Wistar rat model for human preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol [Internet].* 2002;186(3):544–50. Available from: https://www.researchgate.net/publication/11458834_Stress_in_pregnancy_A_new_Wistar_rat_model_for_human_preeclampsia
7. Nelawati A, Soemardini, Prijadi B. Pengaruh Pemberian Vitamin E Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Bunting yang Dipapar Asap Rokok Subakut terhadap Berat Badan Bayi Lahir Aterm A ' yunin Nelawati * , Soemardini **, Bambang Prijadi *** Effect of Vitamin E Supplementation in Pregnant Rat (Rat. FKUB. 2016;3.
8. Kusumawati D. Bersahabat dengan Hewan Coba. Jogjakarta: Gadjah Mada Publisher; 2004.
9. Salem A. Effect of Feeding on Olive Oil and Thyme on Pregnancy and Lactation Periods. *Int J Nutr Food Sci [Internet].* 2015;4(1):19–28. Available from: https://www.researchgate.net/publication/281616515_Effect_of_Feeding_on_Olive_Oil_and_Thyme_on_Pregnancy_and_Lactation_Periods
10. Lindheimer MD, Taler SJ, Cunningham FG. ASH Position Paper : Hypertension in Pregnancy. 2009;11(4):214–25.
11. Ishihara N, Matsuo H, Murokoshi H, B.Laoag-Fernandez J, Samoto T, Takeshi Maruo. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation No Title. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;
12. Padmini E, Lavanya S, Uthra V. Preeclamptic placental stress and over expression of mitochondrial HSP70. 2009;47(9):1073–80.
13. Geetha BV, Navasakthi R, Padmini E. Investigation of Antioxidant Capacity and Phytochemical Composition of Sun Chlorella -An Invitro Study. 2010;1(2):1–7.