

Pengaruh Triponil Sulfat pada Perkembangan Fetus dan Kelainan Plasenta dalam Menginduksi Preeklamsia Hewan model Tikus *Rattus norvegicus*

The Effect of Triponyl Sulphate on Fetuses Development and Placental Abnormalities in Inducing Preeclampsia of Rattus norvegicus animal model

Wawid Purwatiningsih^{1*}, Dhita Evi Aryani², DianVidiastuti³, Yudit Oktanella⁴, Aulia Firmawati⁴

¹Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

²Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

³Laboratorium Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

⁴Laboratorium Reproduksi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

*E-mail : wawid_purwati@yahoo.com

ABSTRAK

Preeklamsia merupakan salah satu masalah obstetri di Indonesia maupun dunia yang dapat menyebabkan kesakitan dan kematian pada maternal dan fetal. Preeklamsia menyebabkan fetal dapat lahir sebelum waktunya dengan berat badan fetal rendah. Hal ini disebabkan oleh tekanan darah yang tinggi menyebabkan berkurangnya kiriman darah ke plasenta, sehingga suplai oksigen dan makanan bagi fetal berkurang. Akibatnya, perkembangan fetal pun jadi lambat dan memicu terjadinya persalinan dini. Lebih fatal lagi, penyakit ini bisa menyebabkan lepasnya jaringan plasenta secara tiba-tiba dari uterus sebelum waktunya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari pemberian triponil sulfat sebagai penginduksi peningkatan tekanan darah pada hewan model preeklamsia, perkembangan fetus dengan pewarnaan alizarin red dan kelainan plasenta. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus *Rattus norvegicus* dikawinkan dengan tikus jantan dengan umur 4 bulan dan berat 250-300 gram secara monomating. Tikus betina bunting diinduksi dengan triponil sulfat 70 mg/kg berat badan dan tanpa perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan adanya perkembangan tulang sternum padakelompok yang tidak diinduksi triponil sulfat, dan tidak terbentuknya tulang sternum pada kelompok yang diinduksi. Kelainan plasenta yang terjadi pada kelompok yang diinduksi triponil sulfat dapat dilihat adanya *ghos villi* kelainan pembuluh darah pada plasenta preeklamsia disebabkan karena tidak terjadinya ataupun hanya sebagian dari arteri spiralis yang diinvasi oleh sel-sel trofoblas dan terjadi peningkatan nilai rerataan tekanan darah

Kata Kunci :Triponil sulfat, Alizarin Red, Preeklamsia, Plasenta

ABSTRACT

Preeclampsia is one of the obstetrical problems that can cause maternal and fetal morbidity and mortality. Preeclampsia causes the fetus born prematurely and low fetal weight. This is caused by high blood pressure which causes decrease of blood delivery to the placenta, so the supply of oxygen and food to the fetus decreases. As a result, fetal development inhibits and trigger born prematurely. More fatal, this disease cause the release of placental tissue from the uterus prematurely. The aim of this study was to determine the effect of administration of triponyl sulfate as induction of increased blood pressure in preeclampsia animal models, fetal development with alizarin red staining and placental abnormalities. The experimental animals were rats *Rattus norvegicus* mated with male rats monomating , 4 months old and 250-300 grams body weigh. Pregnant female rats were induced by triponyl sulfate 70 mg / kg BW (k +) and without induced by triponyl sulfate (k-). The results of the study showed that there were formation of the sternal bone in k- and malformation of the sternum bone at k+. Placental abnormalities occurred in k+, it could be seen in the presence of *ghos villi* in blood vessel abnormalities in the preeclampsia

placenta caused by there was no invasion of trophoblast cells in the whole or partial spiral arteries and the mean of blood pressure increased.

Key words : Triponyl sulfate, Alizarin Red, Preeclampsia, Placenta

PENDAHULUAN

Preeklampsia merupakan suatu gangguan multisistem idiopatik yang spesifik pada kehamilan ditandai dengan peningkatan tekanan darah (hipertensi) dan ditemukan protein dalam urin (proteinuria) yang timbul pada masa kebuntingan. Proteinuria indikator penting dari preeklamsia. Sedangkan preeklamsia dapat disebut sebagai hipertensi yang diinduksi oleh kebuntingan atau penyakit hipertensi akut pada kebuntingan, Apabila terjadi preeklamsia berat dengan gejala diikuti kejang dan koma, maka disebut sebagai eklamsia (Manuaba, 2007).

Preeklamsia merupakan komplikasi kebuntingan dengan konsekuensi serius terhadap induk dan fetus. Preeklamsia merupakan sindrom multi sistem yang ditandai dengan vasokonstriksi, perubahan metabolik, disfungsi endotel, koagulasi, dan peningkatan respon inflamasi (Jaya, 2010). Preeklamsia menyebabkan fetus lahir sebelum waktunya dengan berat badan rendah. Hal ini disebabkan oleh tekanan darah tinggi yang mengakibatkan penurunan suplai darah ke plasenta, sehingga oksigen dan makanan bagi fetus berkurang. Perkembangan fetus menjadi lambat dan memicu terjadinya persalinan dini. Dalam kondisi berat, penyakit ini dapat menyebabkan lepasnya jaringan plasenta secara tiba-tiba dari uterus sebelum waktunya (Rahmayanti, 2010).

Hambatan angiogenesis saat plasentasi memicu gangguan perkembangan fetus dan plasenta. Triponil sulfat berpotensi sebagai inhibitor angiogenesis dan antagonis *Vascular*

Endothelial Growth Factor (VEGF). Kemampuannya meningkatkan produksi sFlt-1 plasenta, dimana sFlt1 mengalami peningkatan secara signifikan pada kondisi preeklampsia. Ketika sFlt1 meningkat pada tikus bunting, efek yang ditimbulkan berupa hipertensi dan proteinuria, sehingga mendukung pernyataan bahwa sFlt1 berperan dalam kerusakan endotel pada kasus preeklampsia. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari pemberian triponil sulfat sebagai penginduksi untuk meningkatkan tekanan darah pada hewan model preeklamsia. Selain itu juga melihat perkembangan fetus dengan pewarnaan alizarin red dan kelainan plasenta.

MATERI DAN METODE

Persiapan Hewan Coba

Tikus dibagi dalam 2 kelompok perlakuan. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari dengan kondisi kandang dan pakan komersial berupa BR 1. Air minum yang diberikan merupakan air matang secara *adlibitum*. Tikus dipelihara dalam kandang beralaskan sekam kayu dalam suhu ruang 25-26°C dengan kelembaban 76-87%.

Perkawinan Tikus Jantan dan Betina

Tikus betina (setelah dilakukan swab vagina) yang berada dalam stadium estrus, dikandangkan bersama dengan tikus jantan untuk dikawinkan. Perkawinan tikus dilakukan secara *monomating* yaitu satu betina di kawinkan dengan satu jantan tikus. Pencampuran

tikus jantan dan betina dilakukan pada sore hari. Apabila pada keesokan harinya ditemukan sumbat vagina (*vaginal plug*) atau sperma di dalam vagina, maka pada hari itu ditentukan sebagai hari pertama kebuntingan.

Induksi Triponil sulfat

Triponil sulfat diinjeksikan secara intraperitoneal pada hari ke-9, 10 dan 11 kebuntingan dengan dosis 70 mg/Kg BB secara intraperitoneal.

Pengukuran Tekanan Darah

Pengukuran tekanan darah pada tikus dilakukan secara tidak langsung, yaitu menggunakan alat *tail cuff*. Pengukuran dilakukan pada hari ke-8 (sebelum injeksi triponil sulfat) dan hari ke-12 (setelah injeksi triponil sulfat). Teknik ini menggunakan tempat khusus dan detector denyut yang diletakkan pada ekor tikus dan dihubungkan dengan perekam tekanan darah.

Pewarnaan Alizarin Red

Alizarin Red merupakan pewarna yang digunakan untuk mewarnai tulang pada fetus hewan uji. Ruas tulang yang terwarnai adalah tulang rawan yang telah mengalami pembentukan tulang. Warna merah tua karena zat warna terikat oleh kalsium pada matriks tulang. Larutan KOH 1% yang digunakan, berfungsi agar otot fetus menjadi transparan. Embrio pada tikus bunting berumur 18 hari dibedah bagian perut dan uterusnya. Kemudian fetus diambil dan diletakkan dalam gelas ukur. Fetus dimasukkan ke dalam botol bening berisi larutan fiksatif alkohol 96% selama satu minggu. Larutan Alkohol 96% diganti dengan larutan KOH 0,2% selama tiga hari pada botol yang sama. Larutan KOH 0,2% dibuang dan

diganti akuades. Selanjutnya diganti larutan Alizarin Red selama tiga hari. Diganti dengan larutan KOH 2% dan gliserin selama satu hari Terakhir diganti dengan larutan gliserin murni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pewarnaan Alizarin red digunakan untuk mengidentifikasi bagian kerangka yang sudah terbentuk pada masa embrio serta proses kalsifikasinya. Hal ini dapat dilihat dari perubahan warna tulang yang berubah dari putih menjadi merah tua. Perubahan warna menandakan bahwa tulang telah mengalami kalsifikasi. Angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah yang melibatkan berbagai faktor, salah satunya adalah faktor angiogenik. Umumnya proses angiogenesis dirangsang oleh faktor pertumbuhan seperti VEGF dan PlGF. Tingginya morbiditas dan mortalitas disebabkan oleh persalinan preterm, preeklamsia, atau adanya pertumbuhan janin yang terhambat (Hamidar, 2009). **Gambar 1** terlihat perbedaan berupa belum terbentuknya tulang sternum pada k+, dan sudah terbentuk tulang sternum pada k-. Hal ini dikarenakan pada kelompok k+ mengalami kekurangan suplai nutrisi dan oksigen sehingga terjadi hambatan perkembangan tulang dan rendahnya berat badan fetus saat lahir. Menurut Santoso (2004), setiap proses yang mengganggu embrio dapat menyebabkan gangguan bentuk atau kematian. Setiap proses yang mengganggu fetus dapat berakibat pertumbuhan organ yang salah. Kegagalan atau ketidaksempurnaan dalam embriogenesis menyebabkan malformasi pada jaringan atau organ. Fetus dalam kandungan dilindungi oleh plasenta dan selaput ketuban. Namun tidak terlepas dari pengaruh zat yang dikonsumsi induk. Kecepatan zat menembus barrier plasenta

bergantung pada besar molekul, kelarutan dalam lemak dan derajat ionisasi. Abnormalitas perkembangan tulang, teramati pada fetus di usia kebuntingan 18

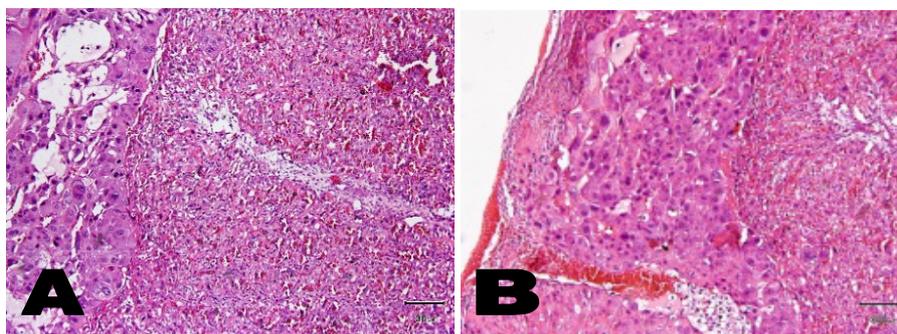
hari. Tulang rawan yang mengalami penulangan atau ruas yang mengalami penulangan berubah warna menjadi merah.



Gambar 1. Pewarnaan alizarin red pada fetus Keterangan (a) kontrol positif, (b) kontrol negatif

Defek utama terjadi pada plasenta, dimana terdapat invasi trofoblas yang tidak adekuat pada arteri spiralis yang menyebabkan hipoperfusi plasenta dengan akibat iskemia plasenta (**Gambar 2.B**). Pada kehamilan normal, invasi trofoblas ke dalam sel desidua menghasilkan suatu perubahan fisiologis pada arteri spiralis. Hasil akhir dari perubahan tersebut adalah arteri yang tadinya tebal dengan lapisan muskularis yang lebar, sekarang menjadi pembuluh darah yang berdinding tipis,

lemas dan berbentuk seperti kantong yang memungkinkan terjadinya dilatasi secara pasif untuk menyesuaikan dengan kebutuhan aliran darah yang meningkat. Pada **Gambar 2.B**, terlihat pembuluh darah di daerah labirin sinusoid maternal mengalami penyempitan dan nekrosis pada sel sintotrofoblas. Pada preeklamsia proses plasentasi tersebut tidak berjalan sebagaimana mestinya karena tidak semua arteri spiralis mengalami invasi oleh sel-sel trofoblas.



Gambar 2. Histopatologi pada plasenta (100x). Keterangan (A) Kontrol negatif; (B) Kontrol positif

Kelainan plasenta yang terjadi dapat dilihat adanya *ghost villi*. Kelainan pembuluh darah pada plasenta

preeklamsia disebabkan karena tidak terjadi atau hanya sebagian dari arteri spiralis yang diinvasi oleh sel-sel

trofoblas. Invasi yang terjadi adalah untuk menggantikan dinding dari arteri spiralis yaitu muskulo-elastik menjadi dinding yang diisi oleh material-material fibrinoid. Material fibrinoid pada dinding arteri spiralis memungkinkan arteri spiralis menyerupai kantong dan mempunyai dinding yang tipis sehingga dapat menyesuaikan dengan aliran darah yang dibutuhkan. Nekrosis terjadi karena kurangnya oksigen. akibat arteri spiralis dan trofoblas mengalami hipoksia. Akibatnya terjadi pengeluaran tromboksan sebagai faktor vasoaktif yang mengakibatkan terjadi trombosis. Tromboksan sebagai vasoaktif diproduksi sebagai kompensasi adanya kerusakan endotel. Kerusakan pembuluh darah juga memicu penurunan dari protasiklin yang dibentuk di endotel (Furukawa, 2011).

Menurut Mabie (2006), pada preeklamsia terjadi penyempitan lumen dan penurunan perfusi plasenta, yang menyebabkan aliran darah menuju ruang intervilli berkurang. Penurunan aliran

darah pada ruang intervilli menyebabkan perubahan gambaran histopatologi plasenta. Perubahan berupa proliferasi sel-sel sinsitorofoblas, nekrosis, berkurangnya sel darah merah di labirin dan penyempitan sinusoid.

Kerusakan endotel merupakan awal mula pembentukan aterosklerosis sehingga harus dihindari. ACE memegang peran penting dalam pembentukan angiotensin II yang merupakan salah satu penyebab hipertensi. Angiotensin II menyebabkan penyempitan pembuluh darah, yang dapat menaikkan tekanan darah. *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* membiarkan pembuluh darah melebar dan menyebabkan lebih banyak darah mengalir ke jantung, sehingga menurunkan tekanan darah (Cahyanti, 2012). Peningkatan tekanan darah terjadi setelah pemberian triponil sulfat. Peningkatan tekanan darah yang tinggi mengindikasikan adanya gejala klinis preeklamsia.

Tabel 1. Rataan tekanan darah

| No. | Perlakuan | Sebelum induksi (pmol/L) | Setelah induksi (pmol/L) |
|-----|-----------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | Kontrol - | 111 | 113,6667 |
| 2 | Kontrol + | 109 | 188,1667 |

KESIMPULAN

Kelainan plasenta yang terjadi pada K+ dapat dilihat adanya *ghost villi* kelainan pembuluh darah pada plasenta preeklamsia disebabkan karena tidak terjadinya ataupun hanya sebagian dari arteri spiralis yang diinvasi oleh sel-sel trofoblas.

DAFTAR PUSTAKA

Cahyanti, R. D. 2012. Hubungan Kadar Vitamin D dan *VEGF* dalam memicu Progressifitas dari Preeklamsia

Berat [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.

FurukawaS,. Seigo,U. Koji,A. Masayoshi, H. Soichiro, and O. Izumi. 2011. Toxicological Pathology in the Rat Placenta. US National Library of Medicine National Institutes of Health. *J ToxicolPathol.* 2011 Jun; 24(2): 95–111.

Jaya, R. 2010. Hubungan Faktor Biologik Terhadap Kadar SFLT-1 Serum Pada Wanita Hamil Dengan Preeklamsia Berat. Universitas Andalas.

- Mabie WC, BM Sibai. 2006. Hypertensive state of pregnancy. In : DeCherney AH, Pernoll ML, eds. *Current obstetric and Gynecologic diagnosis and treatment*. 8th ed. Connecticut : Appleton & Lange. P. 380-97.
- Manuaba I. B. G., 2007. Pengantar Kuliah Obstetri .Jakarta : EGC, pp 401-31.
- Rahmayanti, R. 2010. Faktor-Faktor Resiko Maternal yang Berhubungan dengan Kejadian Preeklamsia Berat Pada Ibu di RSUP DR. M. Djamil [Sikripsi].
- Padang.Santoso, H.B. 2004. Kelainan struktur Anatomi Skeleton Fetus Tikus Akibat Kafein. [Skripsi]. Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat. Banjarmasin