

PERBAIKAN FUNGSI TROFOBLAST PADA KADAR β hCG TIKUS BUNTING PREEKLAMPSIA PADA BAHAN BIOLOGIS TERSIMPAN PASCA PERLUKUAN DENGAN SPIRULINA

Adhiono, A.¹, Gondo, H.K.², Noer Kumala I³

^{2,3} Fakultas kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
e-mail: : noerkumala04176@gmail.com³

Abstract: Preeclampsia is multisystem specific disorder in pregnancy. Preeclampsia has signed by increased cytokine Interleukin-6 and β hCG (human Chorionic Gonadotropin). Spirulina is green-blue alga has bioactive compound namely antioxidant, vitamin, mineral. And has benefit namely antiinflammation. The aim of this research was to know how spirulina influence to repair trophoblast in Hcg concentration on rat pregnancy (biology material collecting). The type of this research is an experimental laboratoric with post test only control group design. A total of 25 rats with pre-eclampsia models induced by Interleukin 6 are divided into 5 groups: the untreated control group, the positive control group with Interleukin 6 induction for three days, the treatment group with a dose of 10 mg / day, 20 mg / day and 40 mg of spirulina. / day for five day, then the blood serum produced was measured with β hCG levels using ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). The results of the Spirulina 10 mg / day are higher at 85.11 ± 25.70 mIU / ml from a dose of spirulina 20 mg / day at 79.65 ± 10.65 mIU / ml . In the level of β hCG, the dose group of spirulina 10 mg / day and the group there is no significant difference ($0.730 > 0.05$), the β hCG level group of spirulina 40 mg / day was $93.28 \pm 17, 12$ mIU / ml from the dose group of spirulina 10 mg / day was 85.11 ± 25.70 mIU / ml. The administration of spirulina for five days was able to reduce β hCG levels at a dose of 10 mg / day, 20 mg / day and 40 mg / day and the dose that was most effective in reducing β hCG levels significantly ($P < 0.05$) was a dose of 10 mg than dose of 20 mg / day and 40 mg / day.

Keywords: Preeclampsia, Interleukin 6, β hCG, Spirulina

PENDAHULUAN

Salah satu faktor yang merupakan penyulit atau gangguan atau komplikasi yang menyertai ibu saat hamil adalah patologi kehamilan (Sujiyatini, 2009). Sekitar lebih dari 63.000 ibu meninggal setiap tahunnya didunia disebabkan preeklampsia. Angka kematian ibu tertinggi terdapat pada negara negara yang berpenghasilan rendah dan menengah, namun demikian preeklampsia juga berpotensi pada negara negara maju (Marie Bolin, 2012). Preeklampsia merupakan gangguan multisistem spesifik pada kehamilan yang ditandai dengan perkembangan hipertensi dan proteinuria (Lana K, 2004). Hingga saat ini preeklampsia masih merupakan "the disease of theories", dimana patofisiologinya masih belum jelas diketahui. Sebagai penanda terjadinya preeklampsia. Pada kasus preeklampsia terjadi

peningkatan kadar β hCG serum (Priyatini T, 2004).

Human chorionic gonadotropin (hCG) merupakan hormon glikoprotein terdiri dari dua subunit kovalen non , α dan β , dan diproduksi oleh sel sinsitiotrofoblas plasenta. Puncak dari kadar β hCG adalah minggu ke 8 – 10 kehamilan dan kadar paling rendah pada minggu 18 – 20 kehamilan. (Kanika Mandi Chaudhury *et al*, 2012). Fungsi β hCG pada kehamilan adalah sebagai penghasil progesteron, implantasi dan sebagai regulasi sistem kekebalan (W. Norris, 2011).

Spirulina platensis merupakan salah satu varian dari mikroalga Spirulina sp. yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat karena kandungan nutrisinya yang lengkap. (Oliveira *et al* 2008). Fikosianin merupakan salah satu dari tiga pigmen

(klorofil dan karotenoid)alami pada spirulina platensis yang bermanfaat sebagai antioksidan (Arlyza, 2005) dan mampu menghambat pembentukan imunomodulator (Adams, 2005). Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (electron donors) dan secara biologis antioksidan adalah senyawa yang mampu mengatasi dampak negatif oksidan dalam tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh. Penelitian menunjukkan bahwa fikosianin dari spirulina berpotensi meningkatkan sistem imun yang mempunyai keuntungan menghambat perkembangan imuomodulator (Pirenantyo, 2008).

Berdasarkan permasalahan tersebut tentang kegunaan spirulina dalam bidang penelitian maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian bagaimana pengaruh spirulina terhadap perbaikan fungsi trofoblast pada kadar β hCG tikus bunting preeklampsia pada bahan biologis tersimpan.

METODE PENELITIAN

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Desain ini melibatkan subjek secara random pada salah satu dari lima kelompok. Tiga kelompok diberi perlakuan dan dua kelompok kontrol; satu dari kelompok perlakuan dan satu dari kelompok kontrol diberi perlakuan eksperimental (Emzir, 2007).

P0 = Kelompok perlakuan Interleukin 6 dengan dosis 5 mg/hari (i.v).

P1 = Kelompok perlakuan Interleukin 6 (i.v) dan Spirulina dengan dosis 10 mg/hari per oral.

P2 = Kelompok perlakuan Interleukin 6 (i.v) dan Spirulina dengan dosis 20 mg/hari per oral.

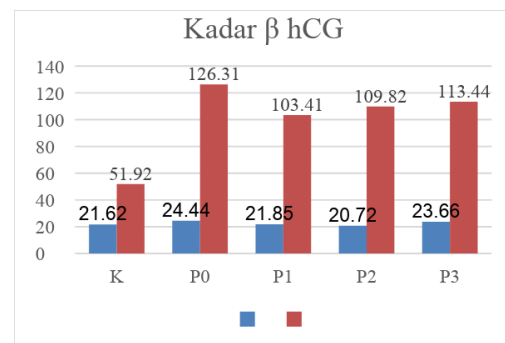
P3 = Kelompok perlakuan Interleukin 6 (i.v) dan Spirulina dengan dosis 40 mg/hari per oral.

Penelitian ini menggunakan ELISA Reader dengan metode Sandwich untuk mengukur β hCG maka dari itu menggunakan antigen berupa serum β hCG dan antibody yaitu anti-hCG (Mab). Tujuan dari metode ini adalah untuk mengukur kadar antigen yaitu β hCG yang terdapat pada serum.

Cara kerja ELISA pada penelitian ini diawali dengan (1) proses tawing yaitu pengenceran serum yang ada didalam mikrotube yang sebelumnya disimpan dilemari es. (2) Memasukkan serum tersebut kedalam microplate sebanyak 50 μ Lsetiap kelompok 5 lubang microplate. (3) Masukkan 100 μ L hCG Kit yaitu anti-hCG (Mab) kesemua microplate, (4) tutupi mikroplate dan inkubasi selama 60 menit dengan temperatur ruangan (18-26° C), (5) bersihkan semua serum/cairan dari mikroplate dengan cara dibilas menggunakan buffer dan letakkan kertas blot/absorbent. (6) tambahkan 100 μ L TMB substrat kesemua mikroplate. (7) inkubasi selama 10 menit pada temperatur ruangan. (8) Tambahkan 50 μ L stop solution pada semua microplate, aduk hingga mencampur (9) Baca absorbansi pada ELISA reader 450 nm dalam waktu 15 menit setelah stop solution diberikan (Sigma Aldrich, 2014).

HASIL PENELITIAN

A. Analisa β hCG setelah diinduksi Interleukin-6

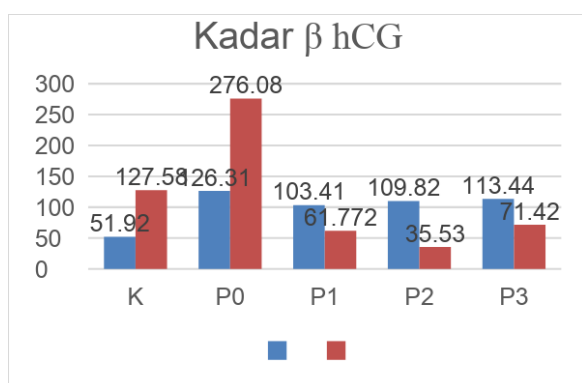


Hasil tersebut menunjukkan bahwa induksi Interleukin-6 dengan dosis 5 mg/hr selama 3 hari mampu meningkatkan kadar β hCG dari kelompok P0 sebelum diinduksi Interleukin-6 sebesar $24,44 \pm 6,49$ mIU/ml menjadi $126,31 \pm 47,09$ mIU/ml setelah diinduksi Interleukin 6. Pada kelompok P1

sebelum diinduksi Interleukin 6 sebesar $21,85 \pm 3,23$ mIU/ml menjadi $103,41 \pm 28,30$ mIU/ml setelah diinduksi Interleukin 6. Pada kelompok P2 sebelum diinduksi Interleukin 6 sebesar $20,72 \pm 4,98$ mIU/ml menjadi $109,82 \pm 20,87$ mIU/ml setelah diinduksi Interleukin-6.

Pada kelompok Dosis P3 sebelum diinduksi Interleukin-6 sebesar $23,66 \pm 4,98$ mIU/ml menjadi $113,44 \pm 20,18$ mIU/ml setelah diinduksi Interleukin-6.

B. Analisa kadar β hCG setelah pemberian Spirulina yang diinduksi Interlekin 6



Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian spirulina dengan dosis 10 mg/hr, dosis 20 mg/hr, dan dosis 40 mg/hr selama 5 hari mampu menurunkan kadar β hCG. Pada kelompok P1 sebelum diberi spirulina sebesar $103,41 \pm 28,30$ mIU/ml menjadi $61,772 \pm 18,44$ mIU/ml setelah diberi spirulina. Pada kelompok P2 sebelum diberi spirulina sebesar $109,82 \pm 20,87$ mIU/ml menjadi $35,53 \pm 8,61$ mIU/ml setelah diberi spirulina. Pada kelompok P3 sebelum diberi spirulina sebesar $113,44 \pm 20,18$ mIU/ml menjadi $71,42 \pm 15,99$ mIU/ml setelah diberi spirulina.

DISKUSI

A. Pengaruh Interleukin 6 pada kadar Hcg tikus bunting putih

Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih bunting dilakukan dengan cara diinduksi Interleukin 6 dengan dosis 5mg selama 3 hari untuk menjadikan model preeklampsia, analisa β hCG dilakukan untuk mengetahui peningkatan kadar hcg. Menurut penelitian Gadonski et all, 2006 penambahan Interleukin 6 mampu meningkatkan tekanan darah dan meningkatkan sitokin proinflamasi TNF alfa dan GFR. Menurut penelitian (Gokdeniz et all, 1999) Pada 3 wanita yang preeklaampsia didapatkan peningkatan β hCG dari pada wanita yang tidak preeklampsia. Hasil penelitian tersebut sesuai dengan penelitian ini bahwa pemberian Interleukin 6 dengan dosis 5 mg selama 3 hari mampu meningkatkan kadar kadar β hCG dari $22,66 \pm 42,7$ mIU/ml ke $113,24 \pm 29,11$ mIU/ml ($0,001 < 0,005$).

B. Penngaruh spirulina terhadap kadar β hcg pada tikus putih bunting yang terinduksi Interleukin 6

Spirulina adalah mikroalga yang memiliki cyanobacterium mikroskopik berfilamen, mengandung bahan C-fikosianin yang merupakan zat dengan aktivitas kemopreventif kanker yang poten (Ravi M *et al*, 2010). Zat ini mampu menginduksi apoptosis dengan cara memfragmentasi DNA dan kondensasi nukleus. Penelitian yang lain menyebutkan bahwa C-fikosianin dari spirulina memiliki kemampuan untuk menurunkan regulasi protein anti apoptosis dan meningkatkan regulasi protein proapoptosis

(Belay A, 2002), juga mempunyai fungsi sebagai antioksidan yang mampu menghambat perkembangan imunomodulator (Arylza, 2005; Adams, 2005).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian spirulina dengan kadar β hCG kelompok P1 tidak berbeda signifikan dengan kelompok Dosis 20 ($0,537 > 0,05$), kadar β hCG P1 lebih tinggi yakni $61,772 \pm 18,44$ mIU/ml dari P2 sebesar $35,53 \pm 8,61$ mIU/ml. Pada Kadar β hCG kelompok P1 dan Kelompok P3 tidak terdapat perbedaan signifikan ($0,820 > 0,05$), kadar β hCG Kelompok P3 lebih tinggi yakni $61,772 \pm 18,44$ mIU/ml sedangkan Kelompok P1 sebesar $71,42 \pm 15,99$ mIU/ml.

C. Dosis Efektif Spirulina

Sampel terdiri atas 24 ekor tikus jantan dipilih dengan cara *random sampling* untuk dibagi dalam. Dalam penelitian ini pemberian spirulina diberikan dalam 3 dosis bertingkat yaitu 10 mg/hr, 20 mg/hr, dan 40 mg/hr. dari ketiga dosis spirulina yang diberikan tersebut didapatkan hasil dosis efektif yaitu 10 mg karena pada dosis tersebut sudah dapat menurunkan kadar β hCG secara efektif dibanding spirulina dosis 20 mg dan 40 mg karena pada antioksidan pada dosis berlebih akan menjadi radikal bebas yang dapat berbahaya bagi kesehatan.

Menurut penelitian Kansas State University tahun 2010 mengatakan bahwa penambahan antioksidan dalam jumlah berlebih fungsinya tidak lagi menjadi antioksidan, melainkan menjadi prooksidan, Sehingga Spirulina yang berfungsi sebagai antioksidan menjadi radikal bebas yang dapat merusak trofoblas dan uterus. Dalam penelitian Spirulina dalam dosis 20 mg/hr dan 40 mg/hr menjadi prooksidan karena dosisnya berlebih sehingga dapat menurunkan kadar β hCG tetapi tidak signifikan.

KESIMPULAN

1. Pemberian Interleukin-6 dengan dosis 5mg selama 3 hari pada tikus bunting mampu meningkatkan kadar β hCG secara signifikan ($P < 0,05$) yakni dari $22,66 \pm 42,7$ mIU/ml ke $113,24 \pm 29,11$ mIU/ml.
2. Pemberian Spirulina selama 5 hari mampu menurunkan kadar β hCG secara signifikan yakni dari $108,89 \pm 23,11$ mIU/ml ke $56,24 \pm 14,34$ mIU/ml.
3. Dosis efektif Spirulina adalah 10 mg karena Kadar β hCG lebih rendah dari kelompok Dosis 10 mg dan Dosis 40 mg.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati PN. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague dawley. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Amha Belay. 2002. The Potential Application of Spirulina (*Arthrospira*) as a Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management. The Journal of the American Nutraceutical Association Vol 5, no 2, Spring
- Asanoma K, Kubota K, Chakraborty D, Renaud SJ, Wake N, Fukushima K, Soares MJ, Rumi MA. SATB homeobox proteins regulate trophoblast stem cell renewal and differentiation. J Biol Chem. 2012;287: 2257–2268.
- Arylza, I.S. 2005. Phycocyanin dari Mikroalga Bernilai Ekonomis Tinggi sebagai Produk Industri. Oseana. XXX(3): 27-36.
- Bolin, marie. 2012. *Pre-eklampsia – possible to predict ?*. Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of

- Medicine 835. 66 pp. Uppsala. ISBN 978-91-554-8523-8.
- Boussiba, S. and Richmond, A. 1979. Isolation and Purification of Fikosianin from The Blue Green Alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbiol., 120: 155-159.
- Casey ML, Mac Donald DC, Simpson ER. Endocrinological changes of pregnancy. IN : Williams text book of endocrinology. 8th ed. WB. Saunders Co. 1992 : 987 - 89.
- Cunningham, F.G., 2005. *Obstetri Williams: Gangguan Hipertensi dalam Kehamilan*. Edisi 21. Jakarta: EGC, 624-640.
- Emzir. 2007. Metodologi Penelitian Pendidikan Kuantitatif dan Kualitatif. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Fisher DA. Endocrinology of fetal development In: Williams text book of endocrinology. 8 th ed. WB. Saunders Co. Philadelphia, 1992 : 1049 - 71.
- Galazios, G., Tsoulou, S., Zografu, C., Tripisianis, G., Koutlaki, N., Papazoglou, D., Tsikouras, P., Maltezos, E., and Liberis, V., 2011, The role of cytokines IL-6 and IL-8 in the pathogenesis of spontaneous abortions. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine vol24 (10)hal 1283-1285
- Ganong, W.F. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Giovani Gadonski. 2006. Hypertension Produced by Reductions in Uterine Perfusion in the Pregnant Rat Role of Interleukin 6. Departments of Physiology and Obstetrics–Gynecology and Center for Excellence in Cardiovascular–Renal Research, University of Mississippi Medical Center, Jackson, Miss. pages 711-715
- Gökdeniz, R.; Ariguloglu, E.; Bazoglu, N. & Balat, Ö. Elevated serum b-hCG levels in severe preeclampsia. Turk. J. Med. Sci., 30(1):43-6, 2000
- Guerin, L.R., Prins, J.R., Robertson, S.A., 2009. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? Hum. Reprod. Update 15, 517–535.
- Hall DO, Rao KK. 1999. Photosynthesis six edition. Cambridge: Cambridge university press
- Hery Winarsi, Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, (Yogyakarta: Kanisius, 2007), hlm. 17
- Jaringan Nasional Pelatihan Klinik-Kesehatan Reproduksi. 2007. *Asuhan persalinan Normal & Inisiasi Menyusu dini*. Jakarta: JNPK-KR
- Jongkon P., Siripen T dan Richard D. L. 2008. *Phytoremediation of Kitchen Wastewater by Spirulina platensis (Nordstedt) Geiteler: Pigment content, Production Variable Cost and Nutritional Value*. Maejo International Journal of Science and Technology. Vol. 2 No. 02 hal. 159 – 171.
- Jürgen Scheller et all. 2011. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research Volume 1813, Issue 5, May 2011, Pages 878-888
- Kabede, E and Ahlgren, G. 1996. Optimum Growth Conditions and Light Utilization Efficiency of *Spirulina platensis* (*Arthrospira fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia. Hydrobiol., 332:99---109.
- Kabinawa, I.N.K. 2001. Mikroalga sebagai Sumber Daya Hayati (SDH) Perairan dalam Perspektif Bioteknologi. Puslitbang Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan. Bogor
- Kanika Mandi Chaudhury, Munmun Das, Sulekha Ghosh, Debasis Bhattacharya, Tapan Kumar Ghosh : Value of serum beta hcg in

- pathogenesis of preeclampsia. *Journal of clinical Gynaecology and obstetrics*. volume 1, number 4-5, oct. 2012, pg 71-75
- Kansas State University. 2010. Study shows potential negative from antioxidants. *US: Lifelines* vol 5 No.2.
- Karen A, Williams H, Decherney AH. The endocrinology of pregnancy. In: *Medicine of fetus & mother*. JB Lippincott Co. Philadelpa 1992 : 97 - 116.
- Kishimoto,, T. 2005. Interleukin-6: from basic science to medicine— 40 years in immunology. *Annu. Rev. Immunol.*
- Kozlenko, R, dan Henson, RH. 1998. Spirulina: Effects on the AIDS Virus, Cancer and the Immune System. *Spirulina Health Library*.www. Spirulina.com. (1 Nopember 2000).
- LaMarca B, Brewer J, Wallace K. IL-6-induced pathophysiology during pre-eclampsia: potential therapeutic role for magnesium sulfate? *International journal of interferon, cytokine and mediator research : IJIM*. 2011;2011(3):59-64. doi:10.2147/IJICMR.S16320.
- Liu Y, Lizhi X, Cheng N, Lin L, Zhang C. 2000. Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cell. *Applied Phycology* 12:125-130
- Lunghi et al. 2007. Control of human trophoblast function. *Reprod Biol Endo*.5:1477-7827.
- M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka. 1988. *Micro-algal biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press
- Masojidek, J., M. Koblizek, and G. Torzillo. 2004. Photosynthesis in Microalgae in: A. Richmond (Ed). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blakwell Science Ltd., Iowa. p.20-39.
- Mochtar Rustam. *Sinopsis Obstetri* jilid 1: *Obstetri Fisiologi, Obstetri Patologi*. 2nd ed. Jakarta: EGC; 1998. p35-59.
- Oliveira EG, Rosa GS, Moraes MA, Pinto LAA. 2008. Phycocyanin Content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. *Journal of Food Process Engineering*, 31(1): 34-50.
- Pamungkas, A. 2005. *Sistem Taksonomi hewan dan tumbuhan*. ANDI , Bandung.
- Perubahan Anatomi pada Ibu Hamil Tiap Trimester [Internet]. Semarang: *Jurnal Bidan Diah*; 2012 [updated 2012 Nov 15; cited 2012 Dec 3]. Available from: http://jurnalbidandiah.blogspot.com/2012/11/perubahan-anatomi-pada-ibu-hamil-tiap_2825.html
- Pirenantyo, p., Limantara, L. 2008. *PIGMEN SPIRULINA SEBAGAI SENYAWA ANTIKANKER*. Magister Biologi Universitas Satya Wacana.
- Prawirohardjo, S. *Fisiologi Kehamilan, Persalinan, Nifas, dan Bayi Baru Lahir*. In: Saifuddin AB, Wiknjosastro GH (eds.) *Ilmu Kebidanan*. 4th ed. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2008. p174-187.
- Priyambodo. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Priyatini T, Wiknjosastro GH. 2004. *Angka Kejadian Preeklampsia Berat dan Eklampsia di Rumah Sakit Umum Pusat Cipto Mangunkusumo Jakarta*
- Ravi M et all. 2011. The beneficial effects of spirulina focusing on its immunomodulatory and antioxidant properties. Department of Human Genetics, Faculty of Biomedical Sciences, Technology and Research, Sri Ramachandra University, Porur, Chennai, India

- Robinson. 1979. Taxonomi and genetic. in Beker HJ, Lindsay JR, and Weisbroth S, editor. The Laboratory Rat. London (GB): Academic Pr.
- Sarada, R., M.G. Pillai, dan G.A. Ravishankar. 1999. Phycocyanin from *Spirulina* sp.: Influence of Processing of Biomass on Phycocyanin Yield, Analysis of Efficiency of Extraction Methods and Stability Studies on Phycocyanin. *J. Proc. Biochem.* 34:795-801.
- sigma-Aldrich Co. LLC. 2014. Human Chorionic Gonadotropin (hCG) ELISA. US
- Sirois, 2005, *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*, Elsevier, USA.
- Sujiyatni, dkk. 2009. *Asuhan Patologi Kebidanan*. Jakarta: Nuha Medika.
- Wagner, Lana K. 2004. *Diagnosis and Management of Preeclampsia*. Mexico: Diagnosis and Management of Preeclampsia
- Wendy Norris, et al. 2011. Review: Hcg, Preeclampsia and Regulatory T cells. NIH Public Access: Department of Pediatrics, Women and Infants Hospital-Warren Alpert Medical School of Brown University, Providence, Rhode Island, USA
- Yaron Y, Cherry M, Kramer RL et al. Maternal serum fetoprotein, hCG, estriol and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstetgynecol* 1999; 181; 968 – 74
- Yasa GP. *Peranan peroksidase lipid pada patogenesis preeklampsia*. Bali: Bagian Obstetri dan Ginekologi FK Unud/RSUP Sanglah Denpasar; 2013.

