

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI NAC DENGAN VITAMIN C DAN E TERHADAP STRES OKSIDATIF PADA HUVECs DIPAPAR PLASMA EKLAMPSIA

THE INFLUENCE OF THE COMBINATION OF NAC WITH VITAMIN C AND E TO OXIDATIVE STRESS ON HUVECS EXPOSED WITH ECLAMPSIA PLASMA

Siti Candra Windu Baktiyani

Laboratorium Obstetri & Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya/ RS dr. Saiful Anwar Malang

ABSTRACT

The blood plasma of preeclampsia contains oxidative stress factors. The oxidative stress is predicted as the cause of dysfunction and destruction of endothelial cell which will influence the severity of Preeclampsia and Eclampsia complications. Previous research showed that the treatment of antioxidant on preeclampsia was still controvertion. The objectives of this research is to investigate the influence of the combination of NAC and vitamin C or vitamin E or both of them on the level of H_2O_2 , MDA, NO and GSH/GSSG ratio of endothelial cell culture exposed with Eclampsia plasma. The method was an experimental study using HUVECs exposed with to 2% plasma Eclampsia as an Eclampsia model invitro. The HUVECs were than treated with NAC $2\mu M$ only (group 1), NAC $2\mu M$ + vitamin C $100\mu M$ (group 2), NAC $2\mu M$ + vitamin E $100\mu M$ (group 3), and NAC $2\mu M$ + vitamin C $100\mu M$ + vitamin E $100\mu M$ (group 4) for 24 hours. The parameter measured in this study were H_2O_2 , MDA, NO and GSH/GSSG ratio. Result showed that H_2O_2 , MDA, and NO concentration are unsignificantly different among treatment groups although there was a decreasing on group treated with combination of NAC, vitamin C and Vitamin E. GSH/GSSG ratio is significantly higher on the groups treated with NAC $2\mu M$ + vitamin C $100\mu M$ or NAC $2\mu M$ + vitamin C $100\mu M$ + vitamin E $100\mu M$ compared to addition of NAC $2\mu M$ or NAC $2\mu M$ + vitamin E $100\mu M$ ($p < 0.05$). It can be concluded that the combination of antioxidant NAC $2\mu M$ + vitamin C $100\mu M$ or NAC $2\mu M$ + vitamin C $100\mu M$ + vitamin E $100\mu M$ more optimal in increasing GSH/GSSG ratio.

Key words: HUVECs, Eclampsia plasma, Oxidative stress, Antioxidant

PENDAHULUAN

Preeklampsia merupakan keadaan patologis yang spesifik pada kehamilan manusia (1). Angka kejadian preeklampsia berkisar antara 7–10% dari seluruh kehamilan (2), kejadian eklampsia di Rumah Sakit Parkland Amerika Serikat berkisar 0,03 %– 0,043 % dari 3250 persalinan (3). Kejadian preeklampsia di Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang sekitar 7-12%, sedangkan kejadian eklampsia berkisar 0,81-1,08%(4).

Patomekanisme terjadinya pre-eklampsia sampai sekarang masih merupakan *disease of theories*. Preeklampsia disebabkan oleh pengurangan perfusi uteroplasental. Dijelaskan bahwa pengurangan perfusi uteroplasental disebabkan oleh 1) penyakit vaskuler pada maternal. 2) plasentasi abnormal dipengaruhi faktor genetik, imunologi dan inflamasi. 3) *Excessive trophoblast* (3). Pengurangan perfusi uteroplasental menyebabkan terjadinya kelainan iskemia - reperfusi pada plasenta akan

menghasilkan spesies oksigen reaktif yang ditransfer ke sirkulasi maternal (5). Spesies oksigen reaktif (SOR) yaitu superoksida (O_2^*), radikal hidrosil (OH^*), hidrogen peroksida (H_2O_2) pada sirkulasi maternal akan meningkatkan aktivasi neutrophil yang ditunjukkan dengan peningkatan neutrophil elastase. Aktivasi neutrophil akan melepaskan SOR yang menyebabkan lipid peroksidasi di membran sel, lisis sel endotel, reaktivitas vaskuler dan peningkatan permeabilitas vaskuler (6).

Pada penelitian pendahuluan didapatkan kadar vitamin C, vitamin B1, vitamin A dan Fe dengan metode *recall diet* asupan makanan pada ibu yang mengalami preeklampsia berat dan eklampsia lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan asupan makanan dari ibu kehamilan normal (7). Keadaan ini diduga berhubungan dengan peningkatan parameter H_2O_2 , NO (*Nitric oxide*), MDA (*Molunedialdehyde*) dan penurunan rasio GSH/GSSG (*Glutation* tereduksi/teroksidasi) yang menggambarkan keadaan stress oksidatif pada penderita preeklampsia. Dengan kurangnya asupan antioksidan yang berasal dari diet menyokong memberatnya preeklampsia, karena antioksidan semakin tidak cukup untuk menetralkan oksidan yang semakin meningkat seiring dengan meningkatnya usia kehamilan (8).

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXIII, No.3, Desember 2007
Korespondensi: Siti Candra Windu Baktiyani,
Laboratorium Obstetri Ginekologi Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang, Telp: (0341) 569117
HP: 08125289348

Penelitian selanjutnya dengan memaparkan plasma Kehamilan Normal, preeklamsia berat dan eklamsia HUVECs menunjukkan bahwa apabila plasma dari kehamilan preeklamsia berat dan eklamsia menyebabkan peningkatan oksidan H_2O_2 , MDA, NO dan penurunan kadar rasio GSH/GSSG. Hal ini menggambarkan plasma dari preeklamsia berat dan eklamsia sitotoksik terhadap sel endotel dan menyebabkan keadaan stress oksidatif pada HUVECs (4).

Stress oksidatif akan menyebabkan disfungsi sel endotel yang merupakan gambaran sentral dalam patogenesis preeklamsia (9). Stress oksidatif yang ada pada penderita preeklamsia perlu dikontrol dengan pemberian antioksidan dari luar (10). Antioksidan mempunyai 2 sifat yaitu larut dalam lemak dan larut dalam air. Glutathion dan vitamin C bersifat larut dalam air dan vitamin E bersifat larut dalam lemak. Tempat bekerjanya masing – masing antioksidan berbeda – beda. Antioksidan NAC disamping bertindak sebagai antioksidan sendiri, juga sebagai prekursor pembentukan GSH. Antioksidan GSH bekerja di sitosol, mitokondria dan nukleus (11). Sedangkan antioksidan vitamin E bekerja di membran sel dan vitamin C bekerja di sitosol dan di ekstrasel (12). Penelitian klinis yang pernah dilakukan dengan pemberian Vitamin E 100-300 mg/hari pada penderita preeklamsia tidak ada pengaruhnya pada tekanan darah dan proteinuri. Sedangkan pada pemberian kombinasi vitamin C dengan vitamin E pada ibu hamil di awal kehamilan secara randomisasi, dapat mencegah terjadinya preeklamsia (13).

Dengan pemberian 2 macam antioksidan dapat mencegah terjadinya preeklamsia. Oleh karena itu pada penelitian ini mencoba dengan memakai 3 macam antioksidan untuk mengetahui perubahan yang terjadi apabila NAC 2 μ M dikombinasi dengan vitamin C 100 μ M dan Vitamin E 100 μ M pada kultur sel endotel (HUVECs) yang dipapar plasma E.

METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan HUVECs yang dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal (kontrol negatif), dipapar dengan 2% plasma eklamsia sebagai model eklamsia in vitro (kontrol positif), setelah itu dilakukan penambahan paparan NAC 2 μ M (perlakuan 1), NAC 2 μ M + Vitamin C 100 μ M (perlakuan 2), NAC 2 μ M + Vitamin E 100 μ M (perlakuan 3), dan NAC 2 μ M + Vitamin C 100 μ M + Vitamin E 100 μ M (perlakuan 4). Inkubasi dilakukan selama 24 jam, kemudian dilakukan pemeriksaan H_2O_2 , MDA, NO dan rasio GSH/GSSG. Analisa statistik menggunakan SPSS 14, dilakukan uji beda *One Way*

Anova dengan tingkat kepercayaan 95%, kemudian untuk mengetahui pemaparan mana yang menunjukkan perbedaan ditunjukkan dengan uji BNT dengan tingkat kepercayaan 95%.

Metode pemeriksaan H_2O_2

(NWLSS™ Hydrogen Peroxide Assay): (14)

Pengukuran kadar H_2O_2 dilakukan pada medium kultur sel endotel HUVECs. Sebanyak 5 μ L *deionozed water* diletakkan pada setiap sumur dalam *microplate* 96, kemudian ditambahkan 20 μ L medium kultur. *Plate* digoyang-goyang selama 5 menit pada suhu ruangan. Setelah itu ditambahkan 200 μ L larutan Working XO:Fe pada setiap sumur. Diinkubasi selama 45 menit. Dibaca dengan *micrplate reader* pada panjang gelombang 560 nm.

Pemeriksaan MDA pada kultur sel endotel (HUVECs):

(15)

Kultur sel endotel diberi cairan yang mengandung 15% w/v trichloroacetic acid, 0,375 w/v thiobarbituric acid, 0,25 hydrihloric acid dan 0,2% triton X. Selanjutnya sel dikerok dan disuspensi dengan pemanasan 100°C selama 15 menit lalu disentrifugasi pada 4500 rpm selama 10 menit. Supernatan diukur dengan spektrofometer pada panjang gelombang 532 nm.

Pemeriksaan Nitrit (NWLSS™ Nitric Oxide Assay): (16)

Lima puluh mikroliter sampel ditambah 50 μ L reduction buffer, kemudian ditambah 50 μ L Griess reagent A dan terakhir ditambah 50 μ L griess reagent B. Diinkubasi 20 menit pada suhu ruang. Dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm.

Pemeriksaan Nitrat (NWLSS™ Nitric Oxide Assay): (16)

Sebanyak 60 μ L sampel dimasukkan ke *CD beat* yang telah bersih. Ditambahkan 60 μ L $ZnSO_4$, kemudian divortek. Ditambah 75 μ L NaOH divortek lagi. Disentrifuse 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil untuk diperiksa kadar nitrat. Diambil 100 μ L sampel + 100 μ L *reduction buffer*, kemudian divortek lagi. Ditambah 50 μ L Griess reagent A dan 50 μ L Griess reagent B. Diinkubasi 20 menit. Dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm.

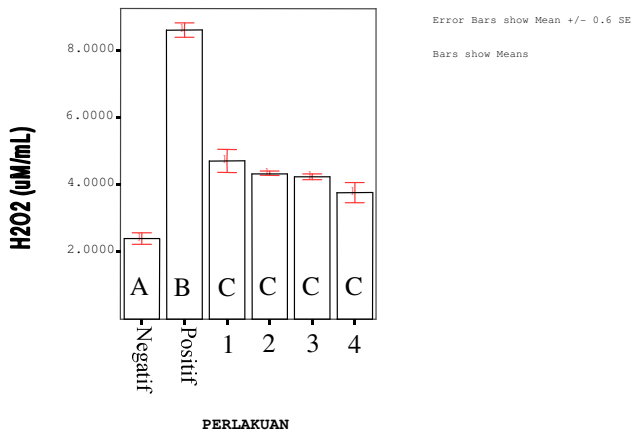
Pemeriksaan Rasio GSH/GSSH : (17)

Lima puluh mikroliter sampel dan standart dipipet serta dimasukkan pada setiap sumuran, kemudian ditambahkan 100 μ L *reaction mixture* (GSH : Mix 5 ml of DNTB, 5 ml of NADPH, 5.75 ml of buffer and 0.1 ml of GSH reductase; GSSH : Mix 5 ml of DNTB, 5 ml of NADPH, 5.75 ml of buffer). Dibaca dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm.

HASIL PENELITIAN

Kadar H₂O₂ pada Media HUVECs

Kadar H₂O₂ medium kultur HUVECs yang dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal (kontrol negatif), dipapar dengan 2% plasma eklampsia sebagai model eklampsia in vitro (kontrol positif), dilakukan penambahan paparan NAC 2 μM (perlakuan 1), NAC 2 μM + Vitamin C 100 μM (perlakuan 2), NAC 2 μM + Vitamin E 100 μM (perlakuan 3), dan NAC 2 μM + Vitamin C 100 μM + Vitamin E 100 μM (perlakuan 4) dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik kadar rata-rata ± SE H₂O₂ pada media kultur HUVECs semua kelompok.

Keterangan : * = signifikan (p < 0.05)

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

- = HUVECs dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal

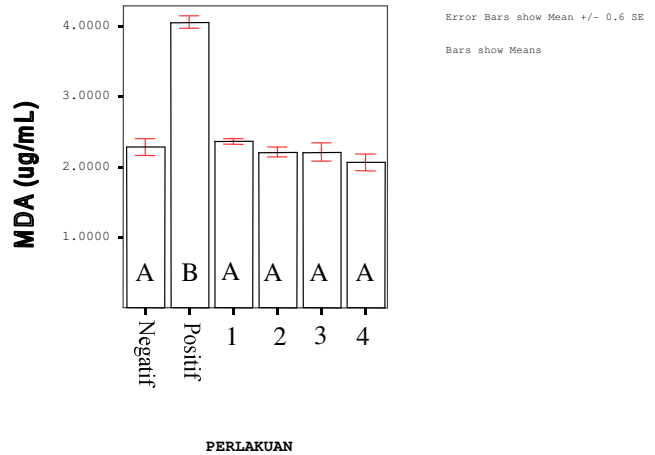
+ = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia

1. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM
2. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM + Vitamin C 100 μM
3. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM + Vitamin E 100 μM
4. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM + Vitamin C 100 μM + Vitamin E 100 μM

Gambar 1 menunjukkan Kadar H₂O₂ pada perlakuan 1, 2, 3 dan 4 lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kontrol positif (p=0,000). Kadar H₂O₂ antara perlakuan 2 dengan perlakuan 3 tidak berbeda signifikan (p=0,855), kadar H₂O₂ antara perlakuan 2 dengan perlakuan 4 tidak berbeda signifikan (p=0,328), kadar H₂O₂ antara perlakuan 3 dengan perlakuan 4 tidak berbeda signifikan (p=0,420). Kadar H₂O₂ antar perlakuan 1, 2, 3

dan 4 tidak berbeda signifikan. Kadar H₂O₂ antar perlakuan 1 dengan perlakuan 2, 3 dan 4 tidak berbeda secara signifikan. Kadar H₂O₂ antar perlakuan 1 dengan perlakuan 2, 3, dan 4 tidak berbeda secara signifikan.

Kadar MDA pada Sel Endotel HUVECs



Gambar 2. Grafik Kadar rata-rata dan SE MDA kultur HUVECs pada semua kelompok

Keterangan : * = signifikan (p < 0.05)

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

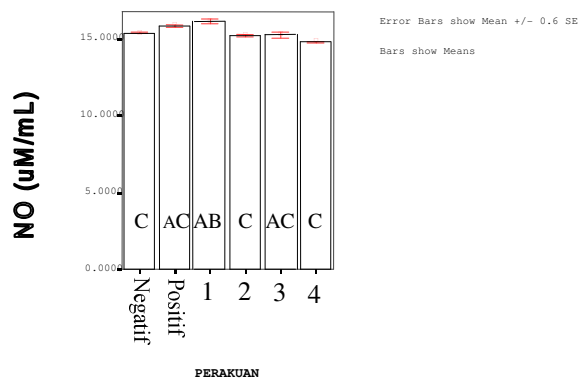
- = HUVECs dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal

+ = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia

1. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM
2. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM + Vitamin C 100 μM
3. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM + Vitamin E 100 μM
4. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 μM + Vitamin C 100 μM + Vitamin E 100 μM

Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar MDA antara perlakuan 1, dan perlakuan 3 dibandingkan dengan kontrol positif berbeda signifikan (p=0.000). Kadar MDA antara perlakuan 4 dibandingkan dengan kontrol positif signifikan (p=0.000), kadar MDA antara perlakuan 2 dibandingkan dengan perlakuan 3 tidak berbeda signifikan (p=1,000), kadar MDA antara perlakuan 2 dibandingkan dengan perlakuan 4 tidak berbeda signifikan (p=0,594), kadar MDA antara perlakuan 3 dengan perlakuan 4 tidak berbeda signifikan (p=0,594). Kadar MDA antara perlakuan 1 dengan perlakuan 2,3 dan 4 tidak berbeda signifikan

Kadar NO pada Media HUVECs



Gambar 3. Grafik Kadar rata-rata dan SE NO pada kultur sel endotel HUVECs.

Keterangan : * = signifikan ($p < 0.05$)

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

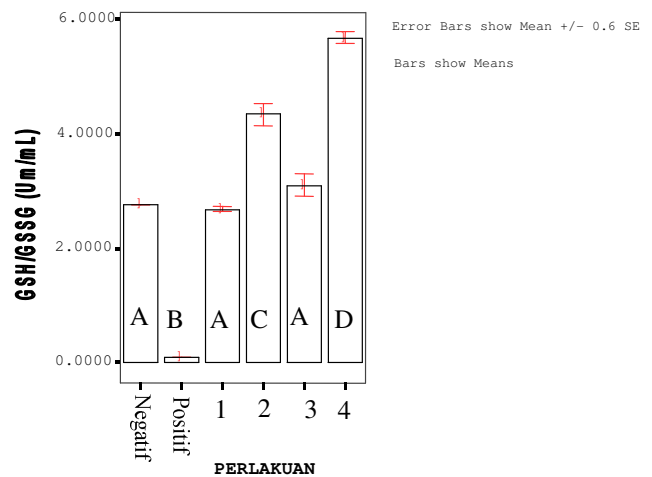
- = HUVECs dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal

+ = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia

1. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM
2. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM + Vitamin C 100 µM
3. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM + Vitamin E 100 µM
4. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM + Vitamin C 100 µM + Vitamin E 100 µM

Gambar 3 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara perlakuan 1 dan 3 dengan kontrol positif. Sebaliknya kadar NO lebih rendah secara signifikan pada perlakuan 2 ($p=0,044$) dan 4 ($p=0,006$) dibandingkan kontrol positif. Apabila dibandingkan dengan perlakuan 1, kadar NO pada perlakuan 2 ($p=0,006$), 3 ($0,008$) dan 4 ($p=0,001$) lebih rendah secara signifikan. Tidak ada perbedaan signifikan antara kadar NO pada perlakuan 2 dengan perlakuan 3 ($p=0,881$) dan 4 ($p=0,150$) juga antara perlakuan 3 dan 4 ($p=0,117$)

Kadar GSH/GSSG pada Media HUVECs



Gambar 4. Grafik Kadar rata-rata dan se GSH/GSSG pada kultur sel endotel HUVECs.

Keterangan : * = signifikan ($p < 0.05$)

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan.

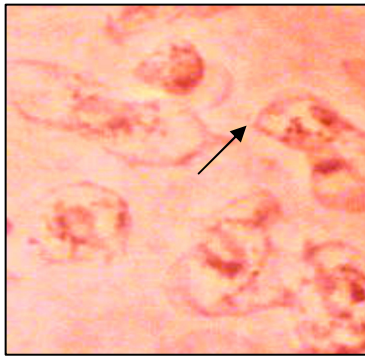
- = HUVECs dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal

+ = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia

1. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM
2. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM + Vitamin C 100 µM
3. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM + Vitamin E 100 µM
4. = HUVECs dipapar dengan 2% plasma eklampsia + NAC 2 µM + Vitamin C 100 µM + Vitamin E 100 µM

Gambar 4 menunjukkan bahwa rata-rata kadar rasio GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 2 dibandingkan dengan kontrol positif ($p=0.000$), kadar GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 3 dibandingkan dengan kontrol positif ($p=0.000$), kadar GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 4 dibandingkan dengan kontrol positif ($p=0.000$), kadar rasio GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 2 dibandingkan dengan perlakuan 1 ($p=0.000$), kadar GSH/GSSG tidak berbeda signifikan antara perlakuan 3 dibandingkan dengan perlakuan 1 ($p=0.188$), kadar GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 4 dibandingkan dengan perlakuan 1 ($p=0.000$), kadar GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 2 dibandingkan dengan perlakuan 3 ($p=0.002$), kadar GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 4 dibandingkan dengan perlakuan 2 ($p=0,001$), kadar GSH/GSSG signifikan lebih tinggi pada perlakuan 4 dibandingkan dengan perlakuan 3 ($p=0.000$).

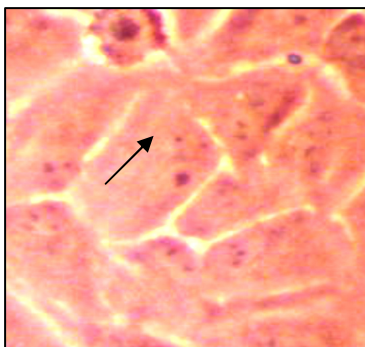
Sel Endotel (HUVECs) yang Dipapar 2% Plasma Eclampsia



Gambar 5: Kultur HUVECs yang dipapar 2% plasma Eclampsia dengan pembesaran 1000x.

Keterangan: Tanda panah menunjukkan bentuk selnya tidak normal, sel mengalami *shrinkage* dan tampak adanya *vacuola* yang menunjukkan sel mengalami apoptosis.

Sel Endotel (HUVECs) yang Dipapar 2% Plasma Eclampsia + NAC 2 μ M + Vitamin C 100 μ M dan Vitamin E 100 μ M



Gambar 6: Kultur (HUVECs) yang dipapar 2% Plasma Eclampsia + NAC 2 μ M + Vitamin C 100 μ M dan Vitamin E 100 μ M dengan pembesaran 1000x.

Keterangan: Tanda panah menunjukkan bentuk sel normal, kontak antar sel tampak jelas.

DISKUSI

Pada preeklampsia terjadi stress oksidatif ditandai dengan meningkatnya lipid peroksida dan menurunnya kadar antioksidan. Antioksidan dalam diet dari tumbuhan melindungi terhadap penyakit yang berhubungan dengan stress oksidatif, namun hasil dari percobaan intervensi dengan single vitamin E atau C atau β -carotene tidak mempunyai pengaruh perlindungan seperti perlindungan antioksidan dari diet (18,19). Pada penelitian pemberian antioksidan β -carotene telah menghasilkan efek samping yang merugikan dalam percobaan klinis. Satu alasan tidak efektifnya dari percobaan klinis adalah bahwa perlindungan dari buah-buahan dan sayuran merupakan hasil dari kerja sama

senyawa antioksidan yang ada dimakanan. Antioksidan dalam bekerjanya merupakan suatu *network*. (20).

Pada perlakuan 2, kadar H_2O_2 dan lipid peroksida lebih rendah dari perlakuan 1 meskipun tidak signifikan. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada perlakuan 2, antioksidan NAC 2 μ M sebagai prekursor terbentuknya GSH, GSH yang terbentuk dapat memungut radikal H_2O_2 dan lipid peroksida, sedangkan radikal GS^\bullet akan dipungut oleh vitamin C kembali ke bentuk GSH yang dapat dilihat dari peningkatan kadar rasio GSH/GSSG. GSH juga dapat mendonorkan atom H^+ -nya untuk memungut radikal vitamin C. Disamping itu vitamin C juga dapat memungut oksidan H_2O_2 dan lipid peroksida. Kombinasi NAC 2 μ M + Vitamin C 100 μ M saling bekerja sama dalam memungut radikal bebas, sehingga dapat lebih menurunkan radikal bebas dari pada hanya menggunakan NAC 2 μ M.

Kadar H_2O_2 dan lipid peroksida pada kombinasi NAC 2 μ M + Vitamin E 100 μ M lebih rendah meskipun tidak signifikan dari pada hanya NAC 2 μ M. Hal ini dapat dijelaskan bahwa GSH yang terbentuk dari pemberian NAC 2 μ M dapat memungut radikal H_2O_2 dan lipid peroksida, sedangkan radikal GS^\bullet akan dipungut oleh vitamin E kembali ke bentuk GSH yang dapat dilihat dari peningkatan kadar rasio GSH/GSSG. GSH juga dapat mendonorkan atom H^+ -nya untuk memungut radikal vitamin E. Disamping itu vitamin E juga dapat memungut radikal H_2O_2 dan lipid peroksida. Kombinasi NAC 2 μ M + Vitamin E 100 μ M saling bekerja sama dalam memungut radikal bebas, sehingga dapat lebih menurunkan radikal bebas dari pada hanya menggunakan NAC 2 μ M.

Vitamin C adalah antioksidan yang bisa menghentikan propagasi dari proses peroksidasi dengan cara mendonorkan atom H^+ -nya. Vitamin C juga membantu mengembalikan vitamin E dan GSH yang teroksidasi menjadi GSH bukan radikal. Pada percobaan randomisasi pemberian dengan suplementasi vitamin E dan C untuk pencegahan PE tidak memberikan manfaat (21). Pemberian vitamin E dan C menurunkan stress oksidatif bila diberikan pada awal kehamilan, menghasilkan lebih rendah kejadian Preeklampsia (13).

Pada kombinasi NAC 2 μ M + Vitamin C 100 μ M + Vitamin E 100 μ M, kadar radikal H_2O_2 dan lipid peroksida lebih rendah dari pada hanya diberi 1 atau 2 kombinasi, begitu juga dari kadar rasio GSH/GSSG paling tinggi dengan 3 kombinasi antioksidan. Keadaan ini dapat diterangkan bahwa ke 3 antioksidan ini saling sinergis dalam memungut radikal bebas. Glutathione, vitamin C dan vitamin E mendonorkan atom H^+ -nya pada waktu memungut radikal bebas H_2O_2 dan lipid peroksida akan terbentuk radikal GS^\bullet , vitamin C dan vitamin E. Vitamin C dan vitamin E dapat mendonorkan atom H^+ -nya untuk memungut radikal GS^\bullet mengembalikan ke bentuk GSH. *Glutathione* dapat mengembalikan radikal vitamin C dan

radikal vitamin E kembali ke bentuk vitamin C dan vitamin E bukan radikal. Vitamin C dapat mendonorkan atom H⁺-nya pada waktu memungut radikal vitamin E. Vitamin C bisa secara langsung berinteraksi dengan membran plasma memberikan elektron ke radikal vitamin E dalam aktivitas oksidoreduktase ke trans-plasma membrane (22).

Dengan ke 3 kombinasi antioksidan tersebut, aktivitas antioksidannya lebih efektif dan bisa bekerja lebih lama dalam memungut radikal bebas, sehingga lebih efektif dalam menurunkan stress oksidatif sel endotel HUVECs yang ditimbulkan oleh pemaparan 2% plasma E. Hal ini dapat dilihat dari viabilitas sel endotel HUVECs lebih baik pada paparan 3 kombinasi antioksidan

Kadar NO pada kombinasi NAC 2 µM + Vitamin C 100 µM, NAC 2 µM + Vitamin E 100 µM, NAC 2 µM +

Vitamin C 100 µM + Vitamin E 100 µM lebih rendah secara signifikan dengan hanya diberi NAC 2 µM. Penurunan kadar NO ini karena sel dalam keadaan seimbang antara oksidan dan antioksidan, sehingga sel endotel tidak terinduksi untuk memproduksi NO lebih tinggi.

KESIMPULAN:

Tiga kombinasi antioksidan NAC 2 µM + Vitamin C 100 µM + Vitamin E 100 µM lebih optimal dalam meningkatkan rasio GSH/GSSG.

SARAN:

Dilakukan uji klinik pemberian kombinasi antioksidan pada penderita Preeklampsia dengan terapi standart yang ada.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Many, A., Hubel, A.C., Fisher, J.S., Roberts, M.J., Zhou, Y. *Invasive Cytotrophoblasts Manifest Evidence of Oxidative Stress in Preeclampsia*, AM.J. Pathology. 2000; 158: 321-331.
2. Zhou, Y., Damsky, H.C., Fisher, J.S. *Preeclampsia Is Associated with Failure of Human Cytotrophoblasts to Mimic a Vascular Adhesion Phenotype*. JCI. 1997; 99.9:2152-2184.
3. Cunningham, G.F., Gant, F.N., Leveno, J.K., Larry, C.G., Hauth, C.J., Wenstrom, D.K. *Hipertensive Disorder in Pregnancy*, Williams Obstetrics. 2 1st. 2001; 587- 809.
4. Candra S, Muliarta, I.K., Suwanto, S., Widodo, A.M. *Kadar H₂O₂ dan Rasio GSH/GSSH pada kultur sel endothel (HUVECs) yang dipapar dengan 2% plasma kehamilan normal, PEB 2% dan eklampsia 2%*. Pertemuan Ilmiah Tahunan Fetomaternal. Jogja. 2007; March
5. Hung, H.T., Skepper, N.J., Graham, J., Burton, J.G.,. *In Vitro Ischemia-Reperfusion Injury in Term Human Placenta as a Model for Oxidative Stress in Pathological Pregnancies*, AM.J. Pathology. 2001; 159:1031-1043.
6. Lyall, F., and Greer, A.I. *The Vascular Endothelium in Normal Pregnancy and Pre-eclampsia*, Review of Reproduction. 1998;1:107-118.
7. Candra S, Muliarta, I.K., Suwanto, S., Widodo, A.M. *Gambaran Kadar Vitamin B1, Vitamin C dan Vitamin A dari Asupan Makanan Ibu Kehamilan Normal, PEB dan Eklampsia*. Pertemuan Ilmiah Tahunan Obstetri dan Ginekologi ke XV. 2007; Mataram. Juli 11
8. Candra S, Muliarta, I.K., Suwanto, S., Widodo, A.M. *Kadar MDA dan Rasio GSH/GSSG pada Kehamilan Normal, Preeklampsia Berat dan Eklampsia di Malang*. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2007; 22(1):35-39
9. Wang, J., & Trudinger, B. *Endothelial Cell Dysfunction in Preeclampsia*, Journal of Nephrology. 1998; 11(2):53-58.
10. Kharb, S. *Vitamin E and C in Preeclampsia*, Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2000;93(1):37-39.
11. Beinder, E., Scalera, F., Schlembach, D. *Influence of Reduced Intracellular Glutathione Availability on the Secretion of Vasoactive Substances by Human Umbilical Vein Endothelial Cells*, Hypertens Pregnancy. 2001; 20(1):45-58.
12. Chaudiere, J., Iliou, F.R. *Intracellular Antioxidants: From Chemical to Biochemical Mechanisms*, Food Chem Toxicol. 1999; 37: (9-10): 949-82
13. Chappell, L.C., Seed, P.T., Briley, A.L., et al. *Effect of Antioxidants on the Occurrence of Pre-eclampsia in Women at Increased Risk: a Randomised Trial*, Lancet. 1999; 4;354:810-6.
14. Purro S.A. et al. *Hydrogen Peroxide (H₂O₂) Levels were Assayed in the Culture Media*. Journal Neurochemistry; 103(1): 141-144.
15. Das, U.N, Elis, G, Begin, M.E, Horrobin, D.F. *Free Radical Bio. Med*. 1987; 3:9.
16. Oxford Biomedical Reseach. *Colorimetric NO-Enzymatic Assay for Nitric Oxide Product NO.NB 88*. Oxford Biomedical Reseach, Inc, USA, 2001.
17. Baker. *Micro-Glutathione Assay*. Anal. Biochem. 1990; 90:360.
18. Berg, V.D.R., Vliet, V.T., Broekmans, W.M., et al. *A Vegetable/fruit Concentrate With High Antioxidant Capacity Has no Effect on Biomarkers of Antioxidant Status in Male Smokers*. J Nutr. 2001;131 :1714 –1722.
19. Block, G, Norkus, E, Hudes, M, Mandel, S, Helzlsouer, K. *Which Plasma Antioxidants are Most Related to Fruit and Vegetable Consumption?* Am J Epidemiol. 2001;154 :1113 –1118.

20. Bente, L.H., Kari, H., Mari, C.W. M., *et al.* *Nutrient Requirements; Systematic Screening of Total Antioxidants in Dietary Plants*,. The American Society for Nutritional Sciences *J. Nutr.* 2002;132:461-471.
21. Carr, A and Frei, B. *Does Vitamin C Act as a Pro-oxidant Under Physiological Conditions?* The FASEB Journal. 1999;13:1007-1024.
22. Denisov, T.E., Afanas'ev, B.I. *Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology*. 2005;849-891.

