

**KADAR 2,3-DINOR-6-KETO-PROSTAGLANDIN-F1 ALPHA
DALAM URIN WANITA PASCAMENOPAUSE ALAMI DAN
PRAMENOPAUSE YANG MINUM ASPIRIN 100 MG**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
MAGISTER ILMU BIOMEDIK (M. Biomedik)**

**ZITA ARIESELIA
NPM: 0706170791**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
KEKHUSUSAN FARMAKOLOGI
JAKARTA
JUNI 2009**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Tesis ini adalah hasil karya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Zita Arieselia

NPM : 0706170791

Tanda Tangan : 

Tanggal : 26 Juni 2009

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : Zita Arieselia
NPM : 0706170791
Program Studi : Ilmu Biomedik Kekhususan Farmakologi
Judul Tesis : Kadar 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ dalam urin wanita pascamenopause alami dan pramenopause yang minum aspirin 100 mg

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Biomedik pada Program Studi Ilmu Biomedik Kekhususan Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dra. Arini Setiawati, PhD (*A. Setiawati*)
Pembimbing : Prof. Dr. Med Ali Baziad, SpOG (K) (*Ali Baziad*)
Penguji I : Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, Sp FK (*Rianto Setiabudy*)
Penguji II : Prof. Dr. Mohammad Sadikin, DSc (*Mohammad Sadikin*)
Penguji III : Dr. dr. Erni H. Purwaningsih, MS (*Erni H. Purwaningsih*)

Ditetapkan di : Jakarta
Tanggal : 26 Juni 2009

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedis

Septelia Inawati Wanandi

Dr.rer.physiol.dr.Septelia Inawati Wanandi

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas anugerah dan berkat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis ini dibuat dalam rangka memenuhi persyaratan untuk menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik dengan kekhususan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Dalam menyelesaikan tesis ini banyak bantuan dan bimbingan yang saya dapatkan sejak masa perkuliahan hingga menyelesaikan penulisan tesis. Oleh karena itu, saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

- (1) Prof. Dra. Arini Setiawati, PhD, selaku dosen pembimbing yang telah banyak menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran dalam mengarahkan, membimbing, mengevaluasi, dan mendukung saya dalam penyusunan tesis ini.
- (2) Prof. Dr. Med. Ali Baziad, SpOG (K), selaku dosen pembimbing yang telah banyak menyediakan waktu dan tenaga dalam usaha memperoleh data yang diperlukan dalam penyusunan tesis ini.
- (3) Prof. DR. Dr. Rianto Setiabudy, SpFK, yang telah memberikan dukungan dan bimbingan dalam penelitian ini.
- (4) Marcia Dewi Hartanto, Apt, M.Biomed, sahabat dan rekan peneliti atas kerjasamanya yang menyenangkan.
- (5) Seluruh staf pengajar dan karyawan di Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI.
- (6) Dra. Neneng Gusniarti, Abdiyanah Mahyuni, dan Faridatunisa dari Departemen Makmal Endokrinologi, RSCM, FKUI yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam pemeriksaan sampel subyek.
- (7) Dr. Marina Astrid Rumawas, M.Biomed dan Robby Zulkarnaen, M.Biomed yang telah memberikan dukungan dan bantuan informasi dalam penelitian.

- (8) Laboratorium Prodia yang telah mengizinkan untuk menggunakan *plate reader* dengan panjang gelombang 412 nm.
- (9) Fakultas Kedokteran Unika Atma Jaya yang telah memberikan dukungan dan bantuan informasi dan material selama masa studi dan penelitian.
- (10) dr. Satya Joewana, SpKJ(K) sebagai Dekan FKUAJ periode 2004-2008 dan dr. Felicia Kurniawan, MPH sebagai Dekan FKUAJ periode 2008-2012. dr. Christianto Sandjaja sebagai kepala bagian Farmakologi FK Atmajaya, dr. Hermawan Setiadi, MS, dr. Erwan Setiadi, dr. PJ Gunadi Budipranoto, DSFK, dr. Sandy Vitria Kurniawan, dan dr. Lina Hananta, SpFK staf Farmakologi FK Atmajaya. Terima kasih atas bimbingan dan dukungan moril selama penulis menjalankan pendidikan di FKUI.
- (11) Papa Fransiskus Wirya dan mama Anna Suherman sebagai orang tua yang begitu besar perannya dalam mendidik dan membimbing semenjak kecil.
- (12) Dr. Jonny Setiawan, suami yang selalu memberikan dukungan berupa pengertian, perhatian, masukan berupa saran dan material selama masa studi dan penelitian.
- (13) Semua sukarelawan atas partisipasinya dalam penelitian ini.
- (14) Teman-teman yang tidak bisa disebutkan namanya satu persatu. Dan semua guru yang telah mendidik semenjak kecil hingga sekarang. Serta semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan tesis ini.

Sebagai akhir kata, saya berharap agar tesis ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jakarta, Mei 2009

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zita Arieselia
NPM : 0706170791
Program Studi : Pasca Sarjana Ilmu Biomedik
Departemen : Farmakologi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Kadar 2,3-dinor-6-keto-Prostaglandin- $F_{1\alpha}$ dalam urin wanita pascamenopause alami dan pramenopause yang minum aspirin 100 mg

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 26 Juni 2009

Yang Menyatakan



(Zita Arieselia)

ABSTRAK

Nama : Zita Arieselia

Program studi : Magister Biomedik – Kekhususan Farmakologi

Judul : Kadar 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ dalam urin wanita pascamenopause alami dan pramenopause yang minum aspirin 100mg

Prevalensi penyakit kardiovaskular meningkat dengan tajam pada wanita pascamenopause. Pada wanita pascamenopause terjadi peningkatan produksi trombosit dan penurunan produksi prostasiklin. Aspirin dosis rendah (75 – 150 mg) telah lama dikenal sebagai penghambat agregasi trombosit. Aspirin bekerja dengan menghambat produksi tromboksan (suatu zat proagregasi trombosit dan vasokonstriktor poten) serta produksi prostasiklin (suatu zat antiagregasi trombosit dan vasodilator poten).

Studi ini merupakan uji klinik tidak tersamar dengan 2 kelompok paralel. Kelompok pertama terdiri dari 15 orang wanita pramenopause (≥ 40 tahun) dan kelompok kedua 15 orang wanita pascamenopause yang telah henti haid selama 3 - 5 tahun. Urin 24 jam dikumpulkan dari setiap subyek sebelum dan sesudah minum aspirin 100 mg selama 7 hari berturut-turut. Kadar prostasiklin dalam urin dalam bentuk metabolitnya, 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$, dianalisis menggunakan metode EIA (*Enzyme Immunoassay*). Tromboksan, dalam bentuk metabolitnya (11-dehidro-tromboksan- B_2), juga diukur dalam sampel urin ini pada studi terdahulu.

Studi terdahulu menunjukkan bahwa aspirin menurunkan kadar tromboksan secara bermakna pada kedua kelompok dengan persentase penurunan yang lebih besar secara bermakna pada wanita pascamenopause dibandingkan wanita pramenopause. Hasil studi ini menunjukkan bahwa aspirin menurunkan kadar prostasiklin secara bermakna pada wanita pramenopause (selisih = 78,44 ng/g kreatinin; $p = 0,001$) maupun wanita pascamenopause (selisih = 35,71 ng/g kreatinin; $p < 0,001$), namun persentase penurunan antara kedua kelompok tidak berbeda bermakna (46,26% vs. 40,94%; $p = 0,574$). Penurunan kadar tromboksan dan prostasiklin oleh aspirin perlu dibandingkan (dalam bentuk penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ dalam urin) untuk menilai efikasi aspirin sebagai antitrombotik. Perhitungan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ sebelum pemberian aspirin jauh lebih tinggi pada wanita pascamenopause dibandingkan wanita pramenopause (4,09 vs. 1,13; $p = 0,001$). Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ oleh aspirin jauh lebih besar pada wanita pascamenopause dibandingkan wanita pramenopause (1,91 vs. 0,17; $p = 0,022$).

Dengan demikian disimpulkan bahwa aspirin menurunkan kadar prostasiklin secara bermakna pada masing-masing kelompok dengan persentase penurunan yang tidak berbeda antara kedua kelompok, namun menurunkan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ yang jauh lebih besar pada wanita pascamenopause dibandingkan pada wanita pramenopause.

Kata kunci:

2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$, aspirin dosis rendah, wanita pascamenopause, rasio tromboksan/prostasiklin

ABSTRACT

Name : Zita Arieselia
Study Program : Master Program in Biomedical Science
Title : Urinary 2,3-dinor-6-keto-Prostaglandin-F_{1α} in healthy postmenopausal women and premenopausal women receiving aspirin 100 mg

The prevalence of cardiovascular diseases in women increases sharply after menopause. In postmenopausal women, thromboxane production increases while prostacyclin production decreases. Low dose aspirin (75 – 150 mg) has long been known as an antiplatelet aggregator. Aspirin reduces the production of both thromboxane (potent thrombocyte aggregator and vasoconstrictor) and prostacyclin (anti thrombocyte aggregator and potent vasodilator).

The present study was an open-label clinical trial with 2 parallel groups. One group consisted of 15 premenopausal women (age ≥ 40 years) while the other group 15 postmenopausal women (for 3 – 5 years). Twenty-four hours urine was collected from each subject before and after aspirin 100 mg daily for 7 days. The concentration of prostacyclin was measured as its metabolite (2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α}) in urine using EIA (Enzyme Immunoassay). Thromboxane as its urinary metabolites (11-dehidro-tromboksian-B₂) was also measured in these same urine samples in the previous study.

Previous study showed that aspirin significantly reduced thromboxane in both groups, with significantly larger percentage reduction in postmenopausal women compared to premenopausal women. Results of the present study showed that aspirin reduced prostacyclin significantly in both premenopausal women (mean difference = 78.44 ng/g creatinine; p = 0.001) and postmenopausal women (mean difference = 35.71 ng/g creatinine; p < 0.001), but the percentage reduction between the groups was not significantly different (46,26% vs. 40,94%; p = 0,574). The decrease in thromboxane and prostacyclin should be compared (as the decrease in the ratio of 11-dehidro-tromboksian-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α}) to assess aspirin efficacy as an antithrombotic. Calculation of the ratio of 11-dehidro-tromboksian-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α} before aspirin consumption was much higher in postmenopausal women compared to that in premenopausal women (4.09 vs. 1.13; p = 0.001). The decrease in 11-dehidro-tromboksian-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α} ratio by aspirin was found much larger in postmenopausal women compared to that in premenopausal women (1.91 vs. 0.17; p = 0.022).

It was concluded that aspirin reduced prostacyclin significantly in each group with nonsignificant percentage reduction between groups, but reduced the 11-dehidro-tromboksian-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α} ratio much larger in postmenopausal women compared to that in premenopausal women.

Keywords:

2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α}, low dose aspirin, postmenopausal women, thromboxane/prostacyclin ratio.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
1 PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah.....	3
1.3. Tujuan penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum.....	4
1.3.2 Tujuan khusus.....	4
1.4. Hipotesis.....	5
1.5. Kerangka teori.....	5
1.6. Kerangka konsep.....	6
1.7. Manfaat penelitian.....	7
2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Tren penyakit kardiovaskular pada wanita.....	8
2.2. Wanita pascamenopause dan penyakit kardiovaskular.....	9
2.3. Pencegahan penyakit kardiovaskular pada wanita.....	12
2.4. Profil aspirin.....	13
2.4.1 Farmakokinetik aspirin.....	13
2.4.1.1. Absorpsi.....	13
2.4.1.2. Distribusi.....	13
2.4.1.3. Metabolisme dan ekskresi.....	14
2.4.2. Mekanisme kerja aspirin sebagai obat anti agregasi trombotik.....	14
2.5. Aspirin sebagai pencegahan primer penyakit kardiovaskular pada wanita.....	17
2.6. Penelitian kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ dalam urin wanita pascamenopause alami dan pramenopause sehat yang minum aspirin 100 mg.....	19
2.7. 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F _{1α} dalam urin.....	20
2.7.1. 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F _{1α}	20
2.7.2. ACE™ competitive enzyme immunoassay.....	21
2.7.3. Biokimia ACE™ EIA.....	22

3	METODE PENELITIAN.....	24
3.1.	Rancangan penelitian.....	24
3.2.	Tempat dan waktu penelitian.....	24
3.3.	Subyek penelitian.....	25
	3.3.1. Kriteria seleksi.....	25
	3.3.2. Besar sampel.....	26
3.4.	Variabel yang diukur.....	26
3.5.	Alat dan bahan penelitian.....	26
	3.5.1. Urin.....	26
	3.5.2. Alat.....	27
	3.5.3. Bahan.....	27
3.6.	Cara kerja.....	27
	3.6.1. Perlakuan terhadap subyek.....	27
	3.6.2. Perlakuan terhadap sampel urin.....	28
	3.6.3. Purifikasi.....	29
	3.6.4. Persiapan pereaksi spesifik.....	29
	3.6.4.1. Standar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	29
	3.6.4.2. Perunut 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	30
	3.6.4.3. Antibodi monoklonal 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	30
	3.6.5. Persiapan pereaksi tambahan.....	30
	3.6.5.1. Dapar EIA 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	30
	3.6.5.2. Standar EIA 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	30
	3.6.5.3. Sampel.....	30
	3.6.5.4. Perunut 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dan AChE.....	31
	3.6.5.5. Antibodi monoklonal 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	31
	3.6.6. Persiapan plat.....	31
	3.6.6.1. Inkubasi plat.....	31
	3.6.6.2. Pengembangan plat.....	31
	3.6.6.3. Pembacaan plat.....	32
3.7.	Analisis data.....	32
	3.7.1. Persiapan data.....	32
	3.7.2. Pembuatan kurva standar.....	32
	3.7.3. Penentuan kadar sampel.....	33
	3.7.4. <i>Recovery</i>	33
	3.7.5. Analisis statistik.....	33
4	HASIL PENELITIAN.....	36
4.1.	Karakter awal subyek penelitian.....	36
4.2.	Penetapan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	37
	4.2.1. Kurva kalibrasi.....	37
	4.2.2. Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam urin sebelum dan setelah pemberian aspirin 100 mg.....	38
	4.2.3. Perbandingan kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ dengan 2,3- dinor-6-keto-PGF _{1α} sebelum dan setelah pemberian aspirin 100 mg pada wanita pascamenopause dan pramenopause.....	42
4.3.	Analisis statistik.....	44

4.3.1. Data kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	44
4.3.2. Data rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ /2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	46
4.3.3. Data persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.....	48
5 PEMBAHASAN.....	50
5.1. Kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	50
5.2. Penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam urin.....	51
5.3. Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	52
5.4. Penurunan tromboksan lebih besar dibandingkan penurunan prostasiklin pada pemberian aspirin dosis rendah.....	53
5.5. Ringkasan.....	54
6 KESIMPULAN DAN SARAN.....	56
6.1. Kesimpulan.....	56
6.2. Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA... ..	57
LAMPIRAN.....	62
RIWAYAT HIDUP.....	94
DRAF ARTIKEL.....	95

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Klasifikasi risiko penyakit kardiovaskular pada wanita.....	12
Tabel 2	Ringkasan pemipetan.....	31
Tabel 3	Karakteristik awal subyek penelitian.....	36
Tabel 4	Hasil pemeriksaan penyaring hematologi rutin, fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lipid.....	37
Tabel 5	Data serapan standar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} terhadap kadar....	38
Tabel 6	Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam urin wanita pascamenopause sebelum dan setelah minum aspirin 100 mg..	40
Tabel 7	Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam urin wanita pramenopause sebelum dan setelah minum aspirin 100 mg.....	41
Tabel 8	Ringkasan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam urin wanita pascamenopause dan pramenopause sebelum dan setelah pemberian aspirin 100 mg.....	41
Tabel 9	Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pramenopause.....	42
Tabel 10	Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pascamenopause.....	43
Tabel 11	Rasio penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.....	44
Tabel 12	Ringkasan analisis statistik kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	45
Tabel 13	Ringkasan analisis statistik rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1	Perbandingan angka kejadian penyakit kardiovaskular pada <i>Framingham study</i> berdasarkan gender dan usia.....	9
Gambar 2	Diagram metabolisme asam arakidonat via siklooksigenase dan lipooksigenase.....	15
Gambar 3	Antagonisme fisiologik prostasiklin dan tromboksan.....	16
Gambar 4	<i>Recovery</i> sintesis prostasiklin pada otot polos aorta tikus setelah diberikan aspirin.....	17
Gambar 5	Laju kumulatif insidens stroke, infark miokard, stroke iskemik dan stroke hemoragik.....	19
Gambar 6	Biosintesis prostasiklin.....	21
Gambar 7	Kurva yang menggambarkan %B/B ₀ terhadap kadar standar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	38
Gambar 8	Kurva kalibrasi kadar standar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α}	39
Gambar 9	Kurva penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.....	46
Gambar 10	Kurva rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} sebelum dan sesudah pemberian aspirin 100 mg pada wanita pramenopause dan pascamenopause.....	48
Gambar 11	Kurva persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B ₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.....	49
Gambar 12	Estrogen meningkatkan ekspresi COX-2.....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat keterangan Lolos Kaji Etik Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian FKUI.....	62
Lampiran 2	Skema dan biokimia ACE™ <i>Competitive Enzyme Immunoassay</i>	63
Lampiran 3	<i>Case Report Form</i>	65
Lampiran 4	Karakteristik awal wanita pascamenopause.....	80
Lampiran 5	Karakteristik awal wanita pramenopause.....	81
Lampiran 6	Analisis statistik.....	82
Lampiran 7	Perhitungan sampel untuk penelitian lanjutan.....	93
Lampiran 8	Biodata diri.....	94
Lampiran 9	Draf artikel.....	95



DAFTAR SINGKATAN

1. *11-dTxB₂* : *11-dehydro-Thromboxane-B₂*
2. *AChE* : *Acetylcholine Esterase*
3. *B₀* : *Binding 0 (ikatan maksimal)*
4. *Blk* : *blanko*
5. *COX* : *cyclooxygenase*
6. *DSMB* : *Data Safe and Monitoring Board*
7. *Dtn* : *determination*
8. *EIA* : *Enzyme Immunoassay*
9. *Hb* : *hemoglobin*
10. *HDL* : *High Density Lipoprotein*
11. *HERS* : *Heart and Estrogen/ Progestin Replacement Study*
12. *HOT* : *Hypertension Optimal Treatment trial*
13. *HRT* : *Hormone Replacement Therapy*
14. *IP* : *Inositol Phosphate*
15. *LDL* : *Low Density Lipoprotein*
16. *NSB* : *Non Specific Binding*
17. *PG* : *prostaglandin*
18. *PPP* : *Primary Prevention Project*
19. *RCT* : *Randomized Controlled Trial*
20. *SA* : *satuan absorpsi*
21. *SD* : *standar deviasi*
22. *SGOT* : *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*
23. *SGPT* : *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase*
24. *Std* : *standar*
25. *TA* : *Total Activity*
26. *TIA* : *Transient Ischemic Attack*
27. *TLC* : *Thin Layer Chromatography*
28. *TX* : *tromboksan*
29. *WHI* : *Women Health Initiative Study*
30. *WHS* : *Women's Health Study*

BAB I PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Prevalensi penyakit kardiovaskular meningkat pada orang lanjut usia. Pada wanita pascamenopause angka kejadian penyakit kardiovaskular meningkat dengan curam. Satu dari 9 wanita usia 45 tahun - 64 tahun akan mengalami penyakit kardiovaskular, sedangkan 1 dari 3 wanita usia 65 tahun atau lebih akan mengalami penyakit kardiovaskular.¹ Wanita yang mengalami serangan jantung memiliki kemungkinan kematian 2 kali lebih besar dibandingkan pria pada 2 minggu pertama.¹ Studi mengenai penyakit kardiovaskular dahulu lebih banyak dilakukan pada pria karena persepsi bahwa penyakit jantung kebanyakan terjadi pada pria. Namun, belakangan ini studi penyakit kardiovaskular mulai menggunakan subyek wanita.

Perkembangan penyakit kardiovaskular pada wanita mengalami keterlambatan sekitar 10 tahun dibandingkan pada pria. Menurut *Framingham Point Score*, risiko penyakit kardiovaskular pada wanita mulai meningkat saat usia 40 tahun.² Hal ini disebabkan karena adanya faktor proteksi dari estrogen. Estrogen menjaga pembuluh darah dari kontraksi yang berlebihan.¹ Selain itu, progesteron meningkatkan produksi prostasiklin dengan cara meningkatkan ekspresi dan aktivitas COX-1 dan COX-2.³ Pada wanita pascamenopause terjadi ketidakseimbangan antara produksi tromboksan dan prostasiklin.⁴ Prostaglandin yang disintesis oleh enzim *cyclooxygenase* (COX) pada endotelium merupakan vasodilator poten dan inhibitor agregasi trombosit. Sedangkan tromboksan A₂ yang disintesis oleh COX-1 pada trombosit merupakan penyebab vasokonstriksi dan stimulus poten untuk agregasi trombosit.⁴

Aspirin dosis rendah (75 mg – 150 mg) telah lama dikenal sebagai penghambat agregasi trombosit. Mekanisme penghambatan agregasi trombosit oleh aspirin adalah melalui asetilasi enzim COX pada trombosit secara ireversibel. Pada proses ini, gugus asetil dari aspirin akan berikatan secara

kovalen dengan gugus hidroksil pada residu serin 529 dari COX-1. Proses asetilasi pada residu serin ini mengakibatkan terjadinya gangguan interaksi enzim COX-1 dengan substrat asam arakidonat. Akibat terganggunya enzim COX-1, maka asam arakidonat tidak dapat dikatalisasi menjadi endoperoxida dan akibatnya prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan tidak terbentuk. Trombosit yang telah diinaktivasi enzim COX-nya oleh aspirin tidak dapat membentuk tromboksan selama sisa hidupnya, yaitu \pm 10 hari, karena trombosit tidak mempunyai inti sel, sehingga tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim COX. Prostasiklin yang dihasilkan oleh sel endotel juga akan terhambat pembentukannya, namun karena sel endotel mampu melakukan sintesis protein, maka enzim COX yang telah diinaktivasi dapat disintesis kembali. Pada suatu penelitian dengan menggunakan otot polos dari aorta tikus, jumlah prostasiklin yang dilepaskan tergantung dari jumlah asam arakidonat yang tersedia. Setelah pemberian aspirin maka kemampuan untuk mensintesis prostasiklin akan rusak. Namun bila medium yang mengandung aspirin disingkirkan, maka kemampuan sel untuk mensintesis prostasiklin akan kembali dengan cepat. Kadar prostasiklin akan mencapai 2 kali kadar sebelum pemberian aspirin dalam waktu 4 jam.⁵

Penggunaan aspirin dosis rendah bersifat protektif pada pasien dengan peningkatan risiko kejadian oklusi pembuluh darah seperti pada infark miokard ataupun stroke nonhemoragik.⁶ Aspirin dosis rendah telah terbukti efektif sebagai pencegahan sekunder pada pasien dengan penyakit kardiovaskular, namun penggunaan aspirin dosis rendah sebagai pencegahan primer masih banyak menimbulkan kontroversi.

Women's Health Study yang dilakukan pada tahun 2005 mencoba mencari rasionalisasi penggunaan aspirin sebagai pencegahan primer terhadap penyakit kardiovaskular pada wanita > 45 tahun dengan *endpoint* klinis. Penelitian ini melibatkan 39.876 wanita sehat yang diberi aspirin 100 mg setiap 2 hari selama 10 tahun dengan pembandingan plasebo. Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat penurunan risiko stroke iskemik secara bermakna pada kelompok dengan intervensi aspirin 100 mg dibandingkan kelompok plasebo, sedangkan penurunan

risiko infark miokard tidak bermakna dan peningkatan stroke hemoragik juga tidak bermakna secara statistik.⁷

Pengukuran prostasiklin dalam penelitian ini menggunakan metabolitnya, yaitu 2,3-dinor 6-keto PGF-1 α dari urin subyek. Pengukuran prostasiklin dengan menggunakan darah tidak praktis karena prostasiklin tidak stabil dan perkiraan tidak langsung menunjukkan bahwa kadarnya dalam plasma < 1 ng/L.⁸ Pengukuran metabolit yang menggunakan bahan urin ini juga menguntungkan karena pengukurannya menjadi tidak invasif.

Prostasiklin dikonversi dengan cepat menjadi beberapa metabolitnya, termasuk 6-keto-PGF_{1 α} yang terbentuk akibat reaksi hidrolisis nonenzimatik dalam pembuluh darah dan jaringan lain dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} .⁹ Beta oksidasi 6-keto-PGF_{1 α} menjadi bentuk dinornya terjadi di hati.¹⁰

Teknik yang digunakan untuk mengukur 2 metabolit utama (6-keto-PGF_{1 α} dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α}) dari prostasiklin adalah *Enzyme ImmunoAssay* (EIA).¹¹ Kadar 6-keto-PGF_{1 α} dan metabolit dinor untuk pria dewasa normal adalah 107 (SD 45) dan 171 (SD 69) ng/g kreatinin (n=18) dan untuk wanita dewasa 45 (SD 22) dan 141 (SD 28) ng/g kreatinin (n=15).⁹

Penelitian ini ingin mengetahui kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dengan metode EIA sebelum dan setelah penggunaan aspirin pada wanita pramenopause berusia \geq 40 tahun dan wanita pascamenopause (telah berhenti haid 3 – 5 tahun) alami yang sehat untuk menilai penggunaan aspirin sebagai pencegahan primer bagi subyek tersebut. Karena penggunaan aspirin akan menurunkan kadar tromboksan dan prostasiklin, maka perlu dibandingkan penurunan keduanya sehingga diketahui apakah aspirin efektif sebagai pencegahan primer penyakit kardiovaskular pada wanita pramenopause \geq 40 tahun dan pascamenopause alami.

1.2. RUMUSAN MASALAH

Penggunaan aspirin dosis rendah sebagai pencegahan primer terhadap stroke iskemik pada wanita > 45 tahun telah terbukti pada WHS (berbeda bermakna dibandingkan placebo). Aspirin dapat menghambat agregasi trombosit dengan cara menginaktivasi enzim COX, sehingga tromboksan menurun.

Namun, prostasiklin yang merupakan vasodilator poten dan inhibitor agregasi trombosit juga menurun. Dalam penelitian ini ingin diketahui bagaimana kadar prostasiklin sebelum dan setelah penggunaan aspirin pada wanita pascamenopause alami dan wanita pramenopause. Kadar prostasiklin sebelum dan setelah penggunaan aspirin akan dibandingkan dengan penurunan tromboksan sebelum dan setelah pemberian aspirin untuk mengetahui apakah aspirin efektif sebagai antiagregasi trombosit. Perbandingan ini dilaporkan dalam bentuk rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada kelompok wanita pascamenopause dan wanita pramenopause yang diberi aspirin 100 mg sehari selama 7 hari berturut-turut. 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} merupakan metabolit yang stabil dari tromboksan dan prostasiklin dalam urin. Pengukuran kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dalam urin subyek penelitian yang sama telah dilakukan dan menunjukkan bahwa persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ lebih besar pada kelompok wanita pascamenopause dibandingkan pada kelompok wanita pramenopause.

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Menilai efek antitrombotik aspirin dosis rendah pada wanita pramenopause dan pascamenopause sehat.

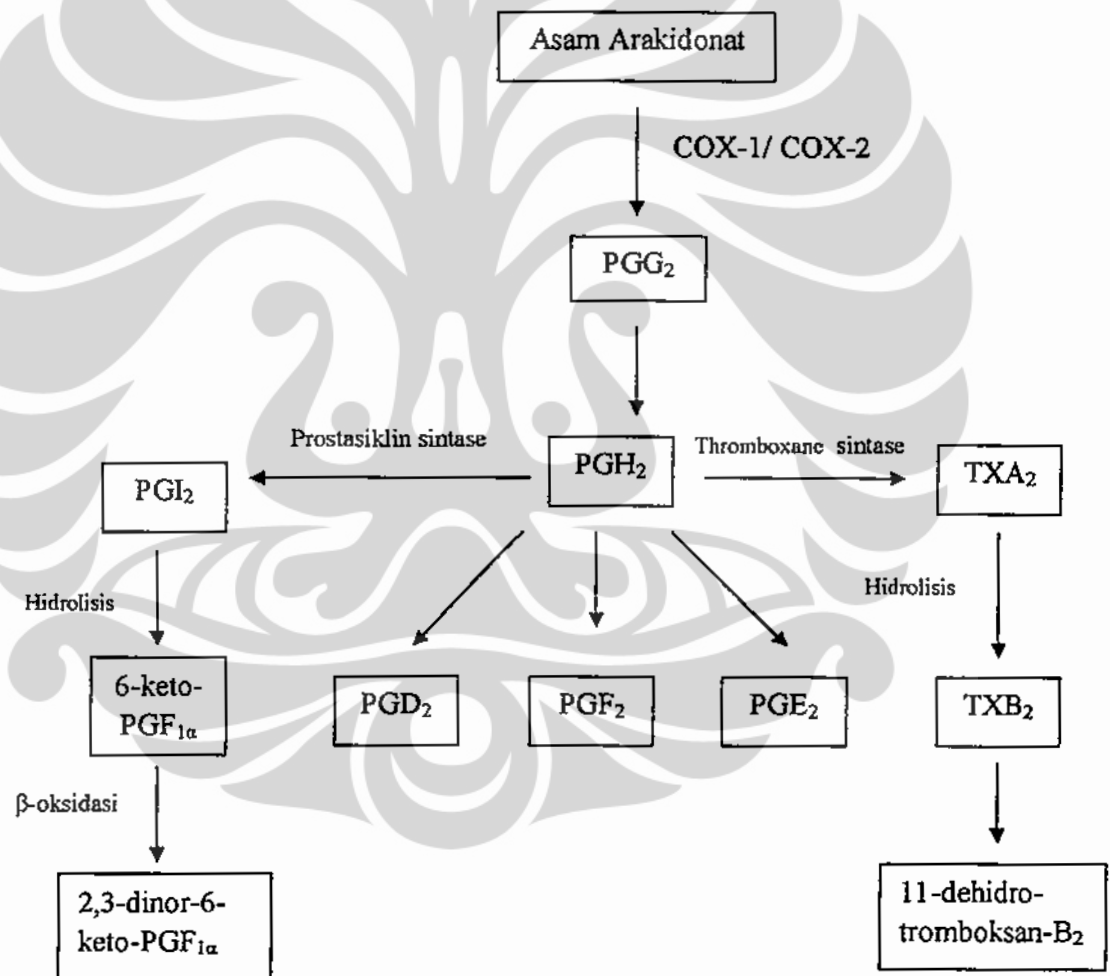
1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui hambatan produksi prostasiklin oleh aspirin melalui pengukuran kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin sebelum dan sesudah pemberian aspirin pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause sehat
2. Mengetahui rasio hambatan produksi tromboksan dan prostasiklin oleh aspirin pada wanita pascamenopause dan wanita pramenopause sehat dengan membandingkan penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin.

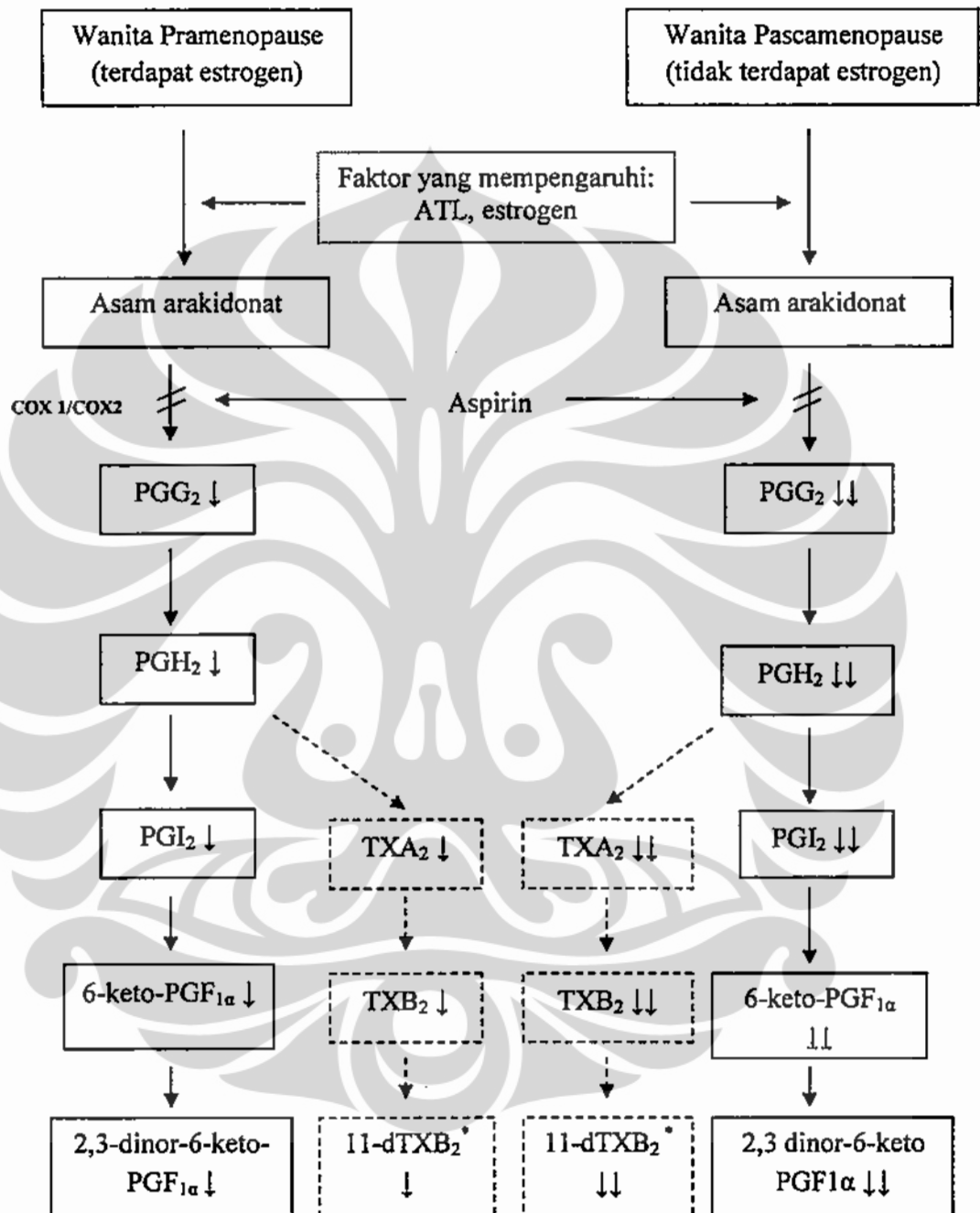
2.1. HIPOTESIS

1. Pemberian aspirin dosis rendah akan menyebabkan hambatan produksi 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin wanita pramenopause dan wanita pascamenopause, namun persentase hambatannya tidak berbeda bermakna antara wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.
2. Pemberian aspirin dosis rendah akan menghasilkan penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} yang lebih besar pada kelompok wanita pascamenopause dibandingkan pada wanita pramenopause.

2.1. KERANGKA TEORI



2.2. KERANGKA KONSEP



2.3. Manfaat Penelitian

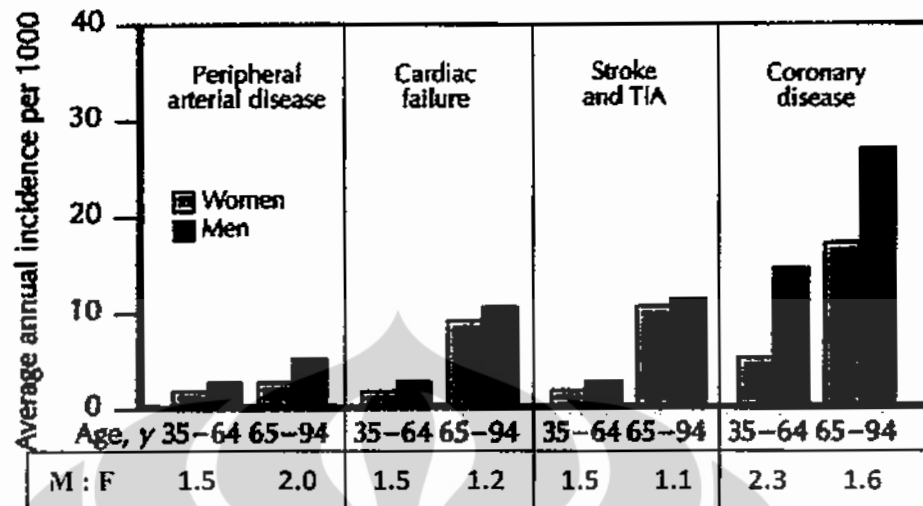
Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3- dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ pada wanita pascamenopause dapat digunakan sebagai masukan bahwa kondisi pascamenopause merupakan faktor risiko terhadap kejadian kardiovaskular. Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3- dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ akibat pemberian aspirin 100 mg/hari pada wanita pascamenopause yang dibandingkan dengan wanita pramenopause menunjukkan efek antitrombotik aspirin dosis rendah pada wanita pascamenopause. Hal ini dapat dipertimbangkan sebagai efektivitas penggunaan aspirin dosis rendah untuk pencegahan penyakit kardiovaskular pada wanita pascamenopause. Namun, penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan. Bila hipotesisnya terbukti maka diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang memadai untuk mengkonfirmasi hasil yang diperoleh pada penelitian ini.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. TREN PENYAKIT KARDIOVASKULAR PADA WANITA

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian terbesar di Amerika Serikat pada tahun 2004.¹¹ Penyakit kardiovaskular yang dimaksud adalah penyakit jantung koroner (angina pectoris tidak stabil dan infark miokard), gagal jantung dan stroke.¹² Penyakit ini disebabkan adanya oklusi pada pembuluh darah, yang merupakan manifestasi inflamasi kronis terhadap trauma maupun infeksi.¹³ Penyakit kardiovaskular bertanggung jawab terhadap 864 480 kematian di Amerika pada tahun 2005 (35,3% dari seluruh kematian).¹⁴ Walaupun penyakit-penyakit tersebut diatas mengalami penurunan insiden dan angka kematian, namun masih merupakan penyebab utama kematian. Penurunan insiden dan angka kematian disebabkan telah banyaknya penelitian yang mengangkat topik ini dan hasilnya telah banyak diterapkan untuk preventif dan terapi, seperti perubahan pola makan yang dapat menyebabkan obesitas, kebiasaan merokok, pengendalian tekanan darah tinggi, dan pengendalian terhadap kadar kolesterol.

Kejadian penyakit kardiovaskular pada wanita berbeda dengan pria. Walaupun prevalensi dan mortalitas pada wanita akibat penyakit kardiovaskular masih dibawah pria, namun terjadi peningkatan prevalensi pada wanita pascamenopause. Estrogen juga dianggap dapat memproteksi wanita terhadap penyakit kardiovaskular pada usia subur. Hal ini terbukti karena ternyata pada wanita usia subur yang memiliki faktor risiko yang sama dengan pria, seperti kebiasaan merokok, kadar kolesterol darah yang tinggi dan riwayat keluarga dengan penyakit kardiovaskular, memiliki prevalensi yang lebih rendah dibandingkan pria dengan usia yang sama. Namun proteksi ini bersifat sementara, karena pada wanita pascamenopause insiden penyakit kardiovaskular meningkat sejalan dengan bertambahnya usia.¹⁵



Gambar 1 : Perbandingan angka kejadian penyakit kardiovaskular pada Framingham study berdasarkan gender dan usia.¹⁴

2.2. WANITA PASCAMENOPAUSE DAN PENYAKIT KARDIOVASKULAR

Menopause adalah saat henti haid pada seorang wanita sebagai akibat dari penurunan fungsi ovarium.¹⁶ Kurun waktu 4-5 tahun sebelum menopause disebut masa pramenopause, sedangkan 3-5 tahun setelah menopause disebut pascamenopause. Masa pramenopause, menopause dan pascamenopause dikenal sebagai masa klimakterium sedangkan keluhan-keluhan yang terjadi pada masa tersebut disebut sindrom klimakterik.¹⁶ Secara endokrinologis, masa klimakterium ditandai dengan turunnya kadar estrogen dan meningkatnya sekresi gonadotropin. Gambaran klinis dari defisiensi estrogen dapat berupa gangguan neurovegetatif, gangguan psikis, gangguan somatik, dan gangguan siklus haid.¹⁶ Gangguan neurovegetatif/ vasomotor dapat muncul sebagai *hot flushes*, produksi keringat yang banyak, rasa kedinginan, sakit kepala, berdebar-debar, dan gangguan usus. Gangguan psikis muncul dalam bentuk mudah tersinggung, depresi, kelelahan, semangat berkurang, dan sulit tidur. Gangguan somatik berupa gangguan haid atau amenorea, kolpitis atrofikans, inkontinensia urin, disuria, penyakit kulit klimakterik, osteoporosis, artritis, aterosklerosis, sklerosis koroner, dan adipositas.¹⁶

Salah satu pilihan bagi wanita pascamenopause untuk mengurangi keluhan akibat defisiensi estrogen adalah dengan menggunakan *Hormone Replacement Therapy* (HRT). Saat ini banyak sekali pro dan kontra mengenai penggunaan HRT pada wanita pascamenopause. Hal ini menyangkut keuntungan dan kerugian yang akan dihadapi oleh pengguna HRT. Sebuah penelitian besar telah dilakukan oleh *Women's Health Initiative* (WHI), dengan melibatkan 161.809 wanita pascamenopause yang berusia 50-79 tahun.¹⁷ Tujuan dari studi WHI adalah untuk melihat kerugian dan keuntungan penggunaan HRT kombinasi pada wanita pascamenopause. Penelitian ini direncanakan berlangsung selama 8,5 tahun, dengan intervensi estrogen kudu 0,625 mg/hari dan medroksiprogesteron asetat 2,5 mg/hari. Studi WHI ini kemudian dianjurkan untuk dihentikan oleh *Data Safety and Monitoring Board* (DSMB) setelah berlangsung selama 5,2 tahun dengan alasan peningkatan kanker payudara. Kesimpulan dari studi WHI ini adalah bahwa penggunaan HRT kombinasi ini tidak dianjurkan untuk diberikan sebagai prevensi primer dari penyakit jantung koroner.¹⁷ Walaupun demikian, terdapat penurunan risiko kanker kolorektal dan osteoporosis.¹⁸

One Million Women Study merupakan studi kohort dengan subyek 1.084.110 wanita usia 50-64 tahun yang dilakukan di Inggris. Studi ini dirancang untuk mengetahui efek dari penggunaan HRT terutama terhadap kanker payudara. Dalam studi ini tipe HRT yang digunakan adalah estrogen saja dan kombinasi antara estrogen dan progesteron. Perekrutan subyek dimulai pada tahun 1996 dan berakhir pada tahun 2001. Hasil studi ini terhadap kanker payudara adalah bahwa pengguna HRT estrogen memiliki RR 1,30 [95% CI 1,21-1,40] sedangkan pengguna HRT kombinasi memiliki RR 2,00 [1,88 – 2,12].¹⁹ Hasil penelitian terhadap kanker endometrium untuk pengguna HRT estrogen memiliki RR 1,45 [95% CI 1,02 – 2,06] dan pengguna HRT kombinasi memiliki RR 1,05 [0,91-1,22].²⁰

Efek samping penggunaan HRT yang telah diketahui adalah kanker payudara, stroke, penyakit jantung dan tromboembolisme vena. Pada penelitian yang dilakukan oleh *Heart and Estrogen/ Progestin Replacement Study* (HERS), dikatakan bahwa risiko terjadinya tromboembolisme vena merupakan satu-satunya risiko yang memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok plasebo,

namun HRT tidak dianjurkan sebagai pencegahan terhadap penyakit kardiovaskular pada wanita pascamenopause.¹⁸

Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, angka kejadian penyakit kardiovaskular pada wanita meningkat dengan drastis pada usia diatas 50 tahun, dan pada usia ini kebanyakan wanita telah mengalami henti haid. Karena itulah diduga estrogen sebagai faktor proteksi wanita dari penyakit kardiovaskular. Penurunan estrogen menyebabkan perubahan profil lipid, yaitu penurunan kolestrol HDL (*high-density lipoprotein*) (-0,09 vs. 0,00 mmol/L; $p = 0,01$), peningkatan LDL (*low density lipoprotein*) (+0,31 vs +0,14 mmol/L; $p = 0,04$), peningkatan trigliserida, peningkatan tekanan darah sistolik, dan peningkatan kadar gula darah puasa. Perubahan profil lipid pada wanita pascamenopause ini menyebabkan peningkatan risiko penyakit jantung koroner.^{15,21}

Pada sebuah penelitian juga dibuktikan bahwa 17 beta estrogen yang diberikan secara intrakoroner kepada wanita pascamenopause normal menunjukkan perubahan diameter arteri koroner (mengecil 0,17 mm, $p < 0,005$), peningkatan aliran darah koroner (61 mL/menit, $p < 0,05$) dan penurunan kadar endotelin-1 bermakna yang berbanding terbalik dengan konstiksi arteri koroner ($r = -0,40$, $p = 0,03$) dan berbanding lurus dengan peningkatan aliran darah koroner ($r = 0,54$, $p = 0,01$).²²

Selain itu, pada penelitian lain disimpulkan bahwa pada wanita pascamenopause juga terjadi peningkatan produksi tromboksan A₂ dan penurunan prostasiklin yang terdeteksi lewat metabolitnya di urin (11-dehidro tromboksan-B₂ dan 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1 α}). Penelitian tersebut melibatkan 105 wanita pramenopause dan 106 wanita pascamenopause sehat. Tromboksan merupakan substansi proagregasi trombosit dan vasokonstriktor poten, sedangkan prostasiklin sebaliknya. Hal ini menyebabkan peningkatan timbulnya trombosis yang berakibat peningkatan risiko penyakit kardiovaskular pada wanita pascamenopause.⁴

Dengan demikian, keadaan pascamenopause sendiri merupakan faktor risiko terhadap penyakit kardiovaskular yang membutuhkan tindakan pencegahan primer, seperti halnya kebiasaan merokok ataupun kadar LDL yang tinggi.

2.3. PENCEGAHAN PENYAKIT KARDIOVASKULAR PADA WANITA

Penyakit kardiovaskular merupakan salah satu penyakit yang banyak diperhatikan karena angka kejadian dan mortalitas yang tinggi. Banyak usaha yang dilakukan dalam rangka menurunkan insidens dan mortalitas akibat penyakit kardiovaskular. *American Heart Association* mengeluarkan *guideline* untuk mencegah penyakit kardiovaskular pada wanita pada tahun 2007 berdasarkan klasifikasi risiko penyakit kardiovaskular.²³

Tabel 1 : Klasifikasi risiko penyakit kardiovaskular pada wanita.²³

Status risiko	Kriteria
Risiko tinggi	Penyakit jantung koroner yang nyata Penyakit serebrovaskular Penyakit arteri perifer Aneurisma aorta abdominal Penyakit ginjal kronis atau terminal Diabetes mellitus Perhitungan risiko 10 tahun berdasarkan skor Framingham > 20%
Risiko sedang	Terdapat ≥ 1 faktor risiko mayor untuk penyakit kardiovaskular, termasuk: Kebiasaan merokok Pola makan yang buruk Kurang olahraga Obesitas Riwayat keluarga dengan penyakit kardiovaskular premature (kejadian penyakit kardiovaskular pada pria < 55 tahun dan wanita < 65 tahun) Hipertensi Dislipidemia Terdapat penyakit vascular subklinis (contoh: kalsifikasi koroner) Sindrom metabolik Kapasitas latihan yang buruk pada tes <i>treadmill</i> dan/atau laju jantung yang abnormal setelah selesai latihan
Risiko rendah	Perhitungan risiko 10 tahun berdasarkan skor Framingham < 10 dan memiliki gaya hidup yang sehat tanpa faktor risiko apapun.

Berdasarkan *guideline* yang sama, disarankan bahwa aspirin tidak digunakan sebagai pencegahan primer pada wanita sehat berusia < 65 tahun. *Guideline* ini dibuat dengan alasan bahwa intervensi tersebut tidak berguna atau tidak efektif dan mungkin dapat membahayakan. Namun, dikatakan pula untuk kondisi tersebut hanya terdapat sedikit bukti atau keterbatasan data yang berasal dari penelitian-penelitian dengan randomisasi tersamar tunggal atau tanpa randomisasi.²³

2.4. PROFIL ASPIRIN

Aspirin (asam asetilsalisilat) merupakan obat yang pertama kali dipatenkan sebagai analgesik dan antipiretik pada tahun 1900. Salisin, yang merupakan bahan aktif dari aspirin, diisolasi dari pohon willow pada tahun 1829. Pada tahun 1960, diketahui bahwa aspirin dosis rendah juga memiliki efek antiagregasi trombosit.²⁴

2.4.1. Farmakokinetik aspirin²⁵⁻⁷

2.4.1.1. Absorpsi

Aspirin oral diabsorpsi dengan cepat, sebagian kecil oleh lambung dan sebagian besar oleh usus halus bagian proksimal. Laju absorpsi ditentukan oleh berbagai faktor, seperti waktu disintegrasi dan disolusi tabletnya, pH, dan waktu pengosongan lambung.

Absorpsi aspirin terjadi secara difusi pasif melewati membran gastrointestinal sehingga dipengaruhi pH lambung. Pada pH tinggi, aspirin lebih terionisasi, namun terjadi peningkatan solubilitas dan disolusi tablet aspirin, sehingga secara keseluruhan resultante yang didapatkan adalah peningkatan absorpsi. Adanya makanan akan menunda absorpsi aspirin.

Kadar tromboksan B₂ dalam serum setelah pemberian aspirin 20 mg secara oral menurun hingga mencapai kadar paling rendah pada ± menit ke-20 setelah pemberian aspirin, sedangkan kadar aspirin dalam plasma meningkat hingga mencapai puncaknya setelah menit ke-20.²⁶ Hal ini menunjukkan bahwa aspirin bekerja menurunkan tromboksan B₂ pada saat aspirin berada dalam sirkulasi presistemik.²⁶ Ini berarti, vena porta merupakan *site of action* dari efek antiagregasi trombosit aspirin dosis rendah.

2.4.1.2. Distribusi

Setelah diabsorpsi, aspirin didistribusikan hampir ke seluruh jaringan tubuh dan terutama dalam cairan transelular. Aspirin hanya dapat terdeteksi dalam plasma dalam waktu yang singkat karena ia akan terhidrolisis dalam plasma, hati dan eritrosit. Sebagian besar salisilat (80% - 90%) akan berikatan dengan protein plasma, terutama albumin.

2.4.1.3. Metabolisme dan ekskresi

Aspirin mengalami biotransformasi dalam banyak jaringan, namun yang terbanyak adalah dalam retikulum endoplasma hati dan mitokondria. Salisilat diekskresi dalam urin dalam bentuk asam salisilat bebas (10%), *salicyluric acid* (75%), *salicylic phenolic* (10%), asil glukuronida (5%) dan *gentisic acid* (<1%). Ekskresi salisilat bebas memiliki kadar yang bervariasi tergantung pada pH urin. Bila pH urin basa, maka 30% dari obat akan diekskresi dalam bentuk salisilat bebas, sedangkan bila urin asam, maka ekskresinya hanya 2%.

Waktu paruh aspirin \pm 15 menit. Kadar plasma asam salisilat dapat meningkat pada kondisi penurunan laju filtrasi glomerulus atau penurunan sekresi tubulus proksimal pada penyakit ginjal.

2.4.2. Mekanisme kerja aspirin sebagai obat antiagregasi trombosit

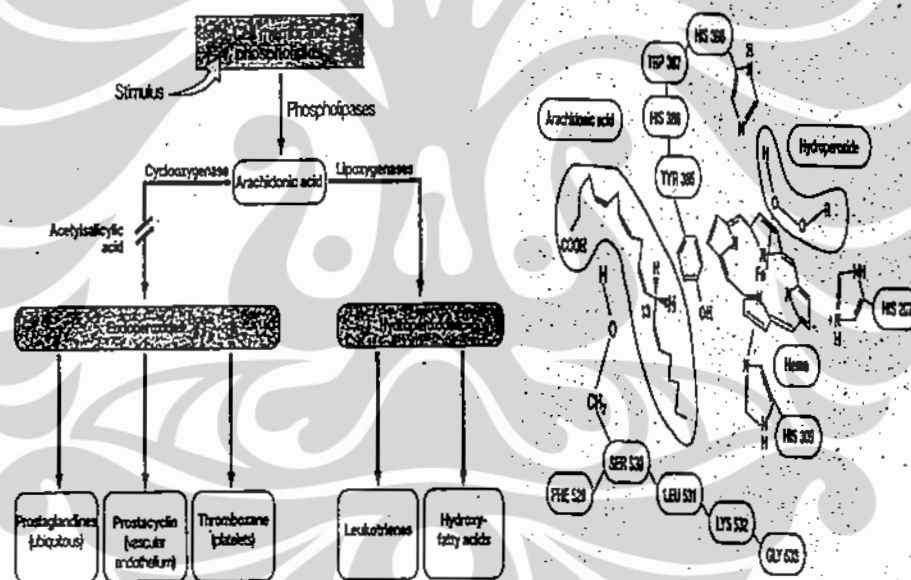
Trombosit berfungsi sebagai hemostatik pada daerah dengan trauma vaskular, namun trombosit juga berperan dalam trombosis patologis yang menyebabkan infark miokard, stroke dan trombosis vaskular perifer.

Proses yang menyebabkan trombosis, inflamasi, penyembuhan luka dan alergi dimodulasi oleh metabolit arakidonat teroksidasi dan eicosanoid. Mekanisme kerja dasar dari obat antitrombosis adalah gangguan pada sintesis eicosanoid ini.²⁵

Dosis yang paling efektif sebagai penghambat agregasi trombosit ini adalah 75-150 mg.⁶ Dosis yang lebih tinggi tidak memberikan efikasi yang lebih baik karena adanya hambatan terhadap produksi prostasiklin yang jauh lebih tinggi. Dosis yang lebih tinggi juga dikaitkan dengan peningkatan toksisitas, terutama perdarahan. Aspirin 100 mg salut enterik bioekuivalen dengan aspirin 75 mg tanpa salut.²⁷ Aspirin atau asam asetilsalisilat dengan dosis 100 mg sekali sehari telah diindikasikan untuk profilaksis infark miokard pada pasien dengan angina pektoris tidak stabil, profilaksis pada pasien dengan riwayat infark miokard terhadap serangan infark ulangan, profilaksis dari infark serebri setelah pasien mengalami *transient ischemic attack* (TIA), profilaksis pada pasien dengan riwayat infark serebri terhadap serangan infark ulangan, profilaksis dari tromboembolisme yang terjadi setelah operasi koroner atau vaskuler perifer dan

prosedur intervensional lainnya (seperti operasi *bypass*, angioplasti koroner, *A-V shunts* pada pasien yang akan dihemodialisis). Untuk mengurangi iritasi lambung, dibuat tablet *enteric-coated* yang pecah di usus halus.

Produk siklooksigenase pada trombosit yang utama adalah tromboksan A₂ yang merupakan perangsang agregasi trombosit dan vasokonstriktor poten. Mekanisme dari penghambatan agregasi trombosit oleh aspirin adalah melalui asetilasi enzim siklooksigenase pada trombosit secara ireversibel oleh aspirin. Pada proses ini, gugus asetil dari aspirin akan berikatan secara kovalen dengan gugus hidroksil pada residu serin 530 dari enzim siklooksigenase-1 (COX-1). Proses asetilasi pada residu serin ini mengakibatkan terjadinya gangguan interaksi enzim COX-1 tersebut dengan substrat asam arakidonat.



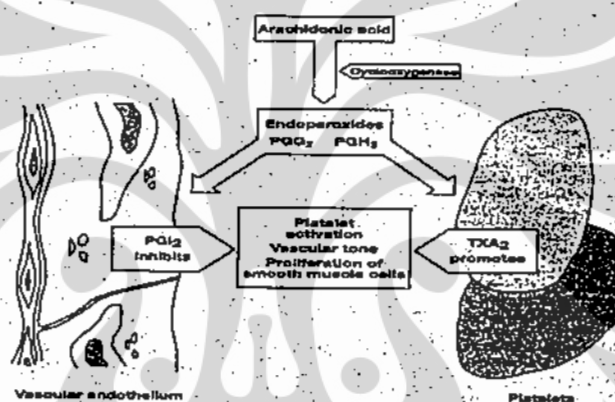
Gambar 2: Diagram metabolisme asam arakidonat via siklooksigenase dan lipooksigenase dengan blokade oleh asam asetil salisilat (kiri). Mekanisme molekular dari siklooksigenase yang dihambat oleh asam salisilat adalah melalui asetilasi serin-530 pada enzim siklooksigenase-1 pada sel trombosit manusia menyebabkan inhibisi ireversibel interaksi enzim dan substratnya, yaitu asam arakidonat (kanan).²⁴

Akibat terganggunya enzim COX-1, maka asam arakidonat tidak dapat dikatalisasi menjadi endoperoksidase, dan akibatnya prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan tidak terbentuk. Tromboksan yang dihasilkan oleh trombosit

Universitas Indonesia

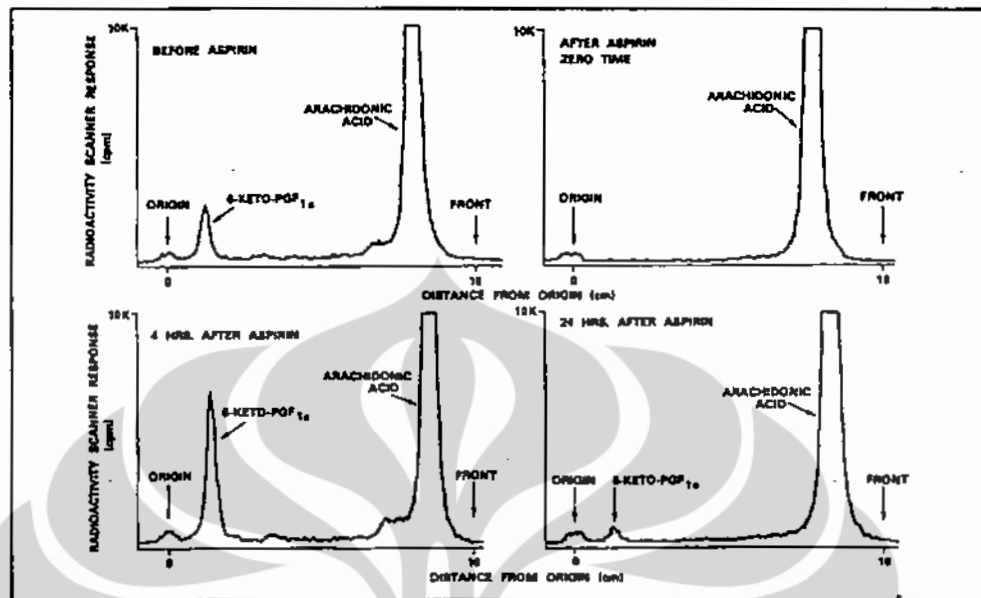
merangsang agregasi trombosit dan vasokonstriksi. Dengan dihambatnya siklooksigenase oleh aspirin, maka tromboksan pada trombosit tidak akan terbentuk. Trombosit yang telah diinaktivasi enzim siklooksigenasenya oleh aspirin tidak dapat membentuk tromboksan selama sisa hidupnya yaitu \pm 10 hari, karena trombosit tidak mempunyai inti sel sehingga tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim siklooksigenase.

Selain tromboksan, prostasiklin yang dihasilkan oleh sel endotel juga akan terhambat pembentukannya. Berlawanan dengan tromboksan, prostasiklin menyebabkan vasodilatasi dan bersifat menghambat agregasi trombosit.



Gambar 3: Gambaran antagonisme fisiologik dari prostasiklin yang dihasilkan oleh endotel dan tromboksan A₂ yang dihasilkan oleh trombosit.²⁴

Berbeda dengan trombosit, sel endotel mampu melakukan sintesis protein, sehingga enzim siklooksigenase yang telah diinaktivasi oleh aspirin dapat diresintesis kembali. Dalam sebuah penelitian dengan menggunakan otot polos dari aorta tikus, jumlah prostasiklin yang dilepaskan tergantung dari jumlah asam arakidonat yang tersedia. Setelah pemberian aspirin maka kemampuan untuk mensintesis prostasiklin dan prostaglandin akan rusak. Namun bila medium yang mengandung aspirin disingkirkan, maka kemampuan sel untuk mensintesis prostasiklin akan kembali dengan cepat. Kadar prostasiklin akan mencapai 2 kali kadar sebelum pemberian aspirin dalam waktu 4 jam.¹¹



Gambar 4: *Recovery* sintesis prostasiklin pada otot polos aorta tikus setelah diberikan aspirin. Kultur dari otot polos aorta diinkubasi dengan media HNCTC-135 yang mengandung aspirin 200 μ M pada suhu 37°C selama 30 menit. Medium kemudian digantikan dengan medium pertumbuhan yang mengandung serum 10%. Pada interval 4 dan 24 jam, medium diangkat, sel dicuci dan monolayer diberikan asam arachidonat [$1-^{14}$ C] selama 5 menit. Produknya kemudian diekstraksi dari medium dan dianalisis dengan TLC. Plat TLC dianalisis dengan Vanguard Scanner. Produk prostaglandin divisualisasi dengan radioautografi dan dikuantifikasi dengan menggunakan kerokan dari plat.¹¹

Sebagai hasil akhir, maka penurunan tromboksan akan lebih tinggi dibandingkan prostasiklin. Penurunan kadar tromboksan dan prostasiklin perlu dibandingkan untuk melihat efektivitas penggunaan aspirin mengingat kerja keduanya berlawanan. Perbandingan ini dilakukan dalam bentuk rasio kadar metabolit tromboksan/ metabolit prostasiklin.

2.5. ASPIRIN SEBAGAI PENCEGAHAN PRIMER PENYAKIT KARDIOVASKULAR PADA WANITA²⁸

Randomized Controlled Trial (RCT) dengan tujuan membuktikan aspirin dosis rendah sebagai pencegahan penyakit kardiovaskular pada wanita telah banyak dilakukan, di antaranya:

1. *Hypertension Optimal Treatment trial (HOT)*²⁹

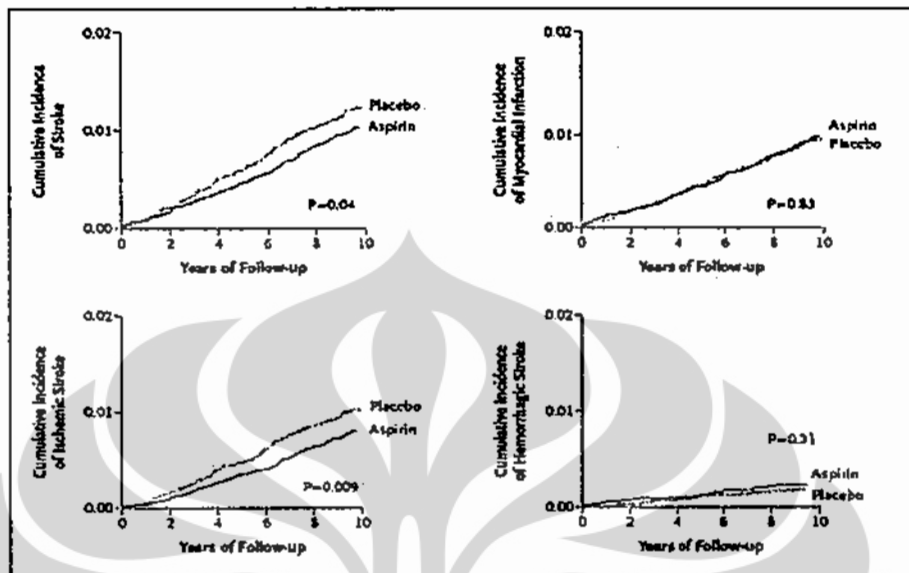
Penelitian ini melibatkan 18.790 subyek pria dan wanita (47%) dengan hipertensi yang diintervensi dengan aspirin 75 mg/hari selama 4 tahun. Aspirin menurunkan angka kejadian infark miokard (fatal dan nonfatal) sebanyak 36% [95% CI = 0,49 – 0,85 ; p=0,002] dan semua kejadian mayor yang berkaitan dengan penyakit kardiovaskular sebanyak 15% [95% CI = 0,73 – 0,99; p=0,03].

2. *Primary Prevention Project (PPP)*³⁰

Penelitian ini ingin membuktikan efikasi pemberian aspirin 100 mg/hari dengan atau tanpa vitamin E (300mg/hari) dengan desain faktorial 2x2, acak dan tidak tersamar. PPP melibatkan 4495 subyek pria dan wanita (58%) dengan faktor risiko kardiovaskular mayor ≥ 1 (seperti usia lanjut, hipertensi, diabetes melitus, obesitas, hiperkolesterolemia, dan riwayat keluarga infark miokard prematur) yang diintervensi aspirin 100 mg/hari selama 3,6 tahun. Hasilnya menunjukkan bahwa (*relative risk*) RR terhadap kematian adalah 0,56 [95% CI = 0,31 – 0,99; p < 0,05] dan terhadap kejadian kardiovaskular total 0,77 [95% CI = 0,62 – 0,95; p = 0,035].

3. *Women's Health Study (WHS)*⁷

Pada tahun 2005, dilakukan WHS yang menggunakan aspirin dosis rendah sebagai pencegahan primer penyakit kardiovaskular pada wanita. Penelitian ini melibatkan 39 876 wanita sehat dengan usia 45 tahun atau lebih. Intervensi yang diberikan berupa aspirin 100 mg yang diberikan setiap 2 hari dengan pembandingan plasebo. Subyek diintervensi selama 10 tahun dengan pengawasan terhadap kejadian kardiovaskular mayor pertama, yaitu infark miokard nonfatal, stroke nonfatal, atau kematian akibat gangguan kardiovaskular. Hasilnya menunjukkan bahwa terdapat penurunan risiko stroke iskemik yang bermakna pada kelompok dengan intervensi aspirin 100 mg dibandingkan kelompok plasebo, penurunan risiko infark miokard tidak bermakna, dan peningkatan stroke hemoragik tidak bermakna.



Gambar 5: Laju kumulatif insidens dari stroke, infark miokard, stroke iskemik dan stroke hemoragik.⁷

Sebuah metaanalisis dilakukan pada tahun 2006 untuk menganalisis penggunaan aspirin sebagai pencegahan primer penyakit kardiovaskular pada wanita. Metaanalisis ini menggunakan 3 penelitian yang telah disebutkan diatas, dan hasilnya adalah bahwa aspirin memberikan penurunan bermakna sebesar 12% pada kejadian kardiovaskular, OR 0,88 [95% CI = 0,79 – 0,99; p = 0,03] dan penurunan sebesar 17% pada stroke, OR 0,83 [95% CI = 0,70 – 0,97; p = 0,02].

2.6. PENELITIAN KADAR 11-DEHIDRO-TROMBOKSAN-B₂ DALAM URIN WANITA PASCAMENOPAUSE ALAMI DAN PRAMENOPAUSE SEHAT YANG MINUM ASPIRIN 100 MG³¹

Penelitian yang dilakukan pada bulan November 2008 di Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia ini bertujuan untuk menilai efek antitrombotik aspirin pada wanita pascamenopause dan pramenopause sehat dengan cara membandingkan hambatan produksi tromboksan A₂ oleh aspirin melalui pengukuran kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dalam urin sebelum dan sesudah diberikan aspirin 100 mg. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ sebelum dan sesudah pemberian aspirin 100 mg, baik pada kelompok wanita pascamenopause (p <

0,001; selisih = 0,58 pg/mg kreatinin; 95% CI = 0,47 – 0,68) maupun pada kelompok pramenopause ($p < 0,001$; selisih = 0,41 pg/mg kreatinin; 95% CI = 0,31 – 0,51). Kadar awal 11-dehidro-tromboksen-B₂ pada kelompok wanita pascamenopause lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan kadar awal 11-dehidro-tromboksen-B₂ pada kelompok wanita pramenopause ($p = 0,015$; 249,66 pg/mg kreatinin vs. 161,60 pg/mg kreatinin; 95% CI 1,585 – 5,888). Sedangkan kadar akhir 11-dehidro-tromboksen-B₂ tidak berbeda bermakna antara kedua kelompok ($p = 0,724$; 25,13 pg/mg kreatinin vs. 25,95 pg/mg kreatinin; 95% CI 0,726 – 1,578). Persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ pada wanita pascamenopause lebih besar secara bermakna dibandingkan wanita pramenopause ($p = 0,021$; 12,53% vs. 7,40%).

Dari penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian aspirin menghambat secara bermakna produksi 11-dehidro-tromboksen-B₂ baik pada wanita pramenopause, maupun pada wanita pascamenopause, namun persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ lebih tinggi secara bermakna pada wanita pascamenopause, dibandingkan dengan wanita pramenopause. Hal ini menyokong pemberian aspirin dosis rendah sebagai pencegahan primer terhadap penyakit kardiovaskular pada wanita pascamenopause.

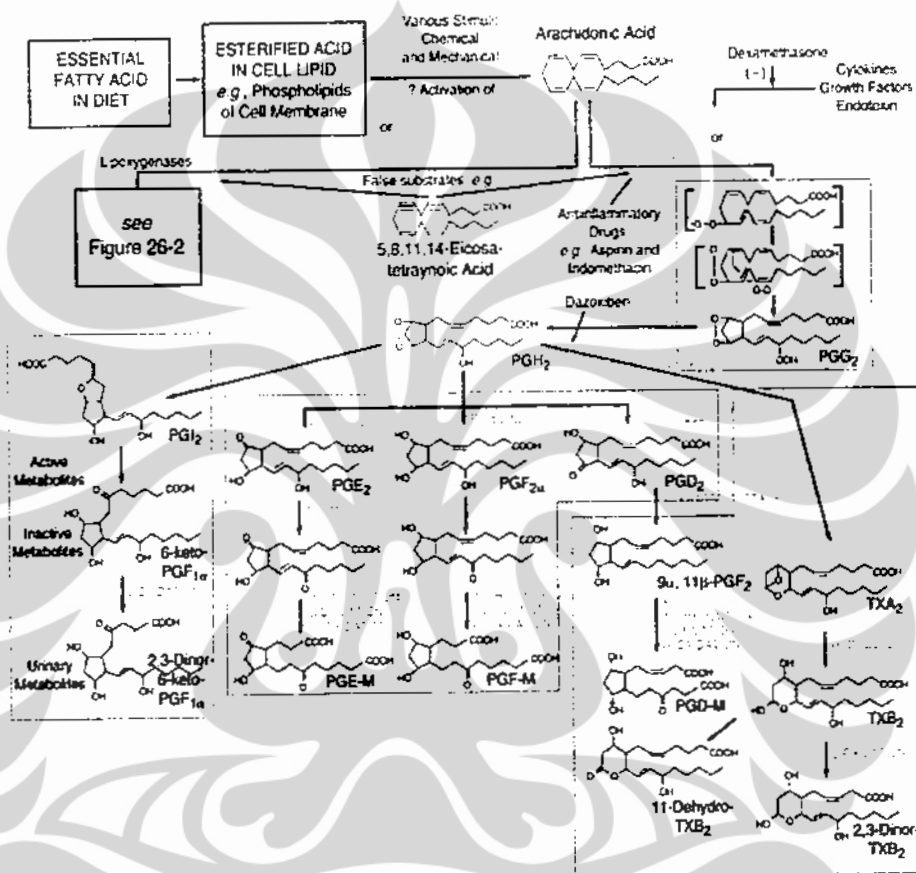
Namun, karena pemberian aspirin 100 mg ini juga menurunkan kadar prostasiklin yang merupakan faktor proteksi terhadap penyakit kardiovaskular (karena merupakan antiagregasi trombosit dan vasodilator kuat), maka perlu juga dilakukan analisis terhadap penurunan prostasiklin dibandingkan dengan penurunan tromboksen agar efikasi penggunaan aspirin lebih jelas.

2.7. 2,3-DINOR-6-KETO-PROSTAGLANDIN-F_{1α} DALAM URIN

2.7.1. 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}²⁵

Prostasiklin merupakan vasodilator poten. Pemberian prostasiklin secara intravena akan menyebabkan hipotensi yang nyata dan efek ini 5 kali lebih hebat dibandingkan PGE₂. Selain itu prostasiklin juga mempunyai sifat menghambat agregasi trombosit. Prostasiklin akan berikatan dengan reseptor IP (inositol fosfat) dan mengaktifasi adenilil siklase pada trombosit sehingga menghambat agregasi trombosit.

Prostasiklin terbentuk dari PGH_2 oleh prostasiklin sintetase dan dihidrolisis secara nonenzimatik menjadi metabolit inaktifnya yaitu 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ dengan waktu paruh 3 menit dalam plasma. 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ ini mengalami β oksidasi menjadi 2,3-dinor-6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ yang merupakan metabolit prostasiklin utama dalam urin.



Gambar 6: Biosintesis prostasiklin.²⁵

2.7.2. ACE™ Competitive Enzyme Immunoassay⁸

Kadar dinor dalam urin diukur dengan cara *Enzyme Immunoassay (EIA)*. Pengukuran berdasarkan persaingan ikatan antara 2,3-dinor-6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ dalam urin dan konjugat 2,3-dinor-6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ asetilkolinesterase sebagai perunut (*tracer*) dengan antibodi monoklonal 2,3-dinor-6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ mencit. Karena kadar perunut 2,3-dinor-6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ asetilkolinesterase konstan sedangkan kadar 2,3-dinor-6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ dalam sampel bervariasi,

Universitas Indonesia

maka ikatan perunut dengan antibodi monoklonal akan berbanding terbalik secara proporsional dengan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sampel dalam sumur. Kompleks ikatan antibodi dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (dalam sampel ataupun perunut) akan berikatan dengan IgG poliklonal kambing anti-mencit (*goat polyclonal anti-mouse IgG*) yang sudah menempel pada dinding sumur. Setelah sumur dicuci, ditambahkan reagen Ellman yang mengandung asetiltiokolin, suatu substrat asetilkolinesterase, dan *5,5-dithio-bis (2-nitro benzoic acid)*.

Hidrolisis dari asetiltiokolin oleh asetilkolinesterase menghasilkan tiokolin. Reaksi nonenzimatik antara tiokolin dengan *5,5-dithio-bis (2-nitro benzoic acid)* akan menghasilkan asam 5-thio-2-nitrobenzoat yang berwarna kuning dan mempunyai serapan maksimal pada panjang gelombang 412 nm. Hasil serapan berbanding terbalik secara proporsional dengan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam sampel.

2.7.3. Biokimia ACE™ EIA⁸

Asetilkolinesterase (AChE) merupakan enzim yang stabil dan dapat menghidrolisis asetilkolin dalam jumlah yang besar dengan cepat (64.000 molekul/detik). AChE yang digunakan berasal dari organ elektrik belut listrik (*Electrophorus electricus*) yang memiliki struktur tersier seperti daun semanggi (*clover leaf*) yang mengandung 3 tetramer yang berikatan dengan fibril yang memiliki struktur seperti kolagen.

Molekul analit yang berikatan secara kovalen dengan molekul AChE akan berperan sebagai perunut pada ACE™ EIA. Kuantifikasi perunut dilakukan dengan mengukur aktivitas AChE dengan bantuan pereaksi Ellman. Pereaksi Ellman mengandung asetiltiokolin dan *5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)*. Hidrolisis dari asetiltiokolin oleh AChE menghasilkan tiokolin dan reaksi nonenzimatik antara tiokolin dengan *5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)* akan menghasilkan *5-thio-2-nitrobenzoic acid* yang memiliki serapan maksimal pada panjang gelombang 412 nm ($\epsilon = 13.600$).

AChE memiliki beberapa keuntungan yang tidak dimiliki oleh enzim lain yang biasanya digunakan dalam EIA. Misalnya dibandingkan dengan horseradish peroxidase, AChE tidak mengalami inaktivasi selama *turnover*, sehingga bila

assay secara tidak sengaja tumpah, maka ia mengalami *redevelopment*. Selain itu, enzim ini sangat stabil dalam berbagai kondisi penelitian, memiliki rentang pH yang luas (pH 5 – 10), tidak dihambat oleh garam dapar atau pengawet pada umumnya. Karena AChE ini sangat stabil selama proses pengembangan, maka tidak diperlukan penggunaan pereaksi untuk menghentikan proses pengembangan, dan plat dapat dibaca kapan saja.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1. RANCANGAN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan uji klinik dengan desain paralel dan tidak tersamar. Subyek penelitian terdiri dari 2 kelompok yaitu wanita pramenopause dan wanita pascamenopause. Kedua kelompok diintervensi dengan minum aspirin salut enterik 100 mg selama 7 hari berturut-turut setelah makan pagi. Intervensi aspirin dosis rendah dilakukan selama 7 hari karena setelah 7 hari kadar metabolit tromboksan dan kadar metabolit prostasiklin sudah stabil dan tidak mengalami penurunan lagi.³² Sampel urin 24 jam untuk pengukuran kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} diambil sebelum dan setelah subyek minum aspirin selama 7 hari. Pengukuran kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dilakukan dengan metode *Enzyme Immunoassay* (EIA). Pengukuran kadar 11-dTxB₂ telah dilakukan dalam sampel urin yang sama dari subyek penelitian yang sama pada penelitian sebelumnya.

Analisis statistik terhadap penurunan rasio kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} / 11-dehidro-tromboksan-B₂ dalam urin sesudah pemberian aspirin dibandingkan dengan sebelum pemberian aspirin pada masing-masing kelompok wanita pascamenopause alami dan wanita pramenopause dilakukan dengan menggunakan uji t berpasangan. Selain itu perlu juga dibandingkan penurunan rasio kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} / 11-dehidro-tromboksan-B₂ dalam urin sesudah pemberian aspirin dari sebelum pemberian aspirin antara kedua kelompok wanita pascamenopause alami dan wanita pramenopause dengan menggunakan uji t tidak berpasangan.

3.2. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Departemen Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia serta Laboratorium Makmal Terpadu. Penelitian berlangsung dari November 2008 – Maret 2009.

Universitas Indonesia

3.3. SUBYEK PENELITIAN

3.3.1. Kriteria Seleksi

Subyek penelitian didapatkan melalui teknik *consecutive sampling* dari pengumuman di dalam lingkungan FKUI maupun di luar lingkungan FKUI. Semua subyek yang terlibat harus memenuhi kriteria seleksi yang telah ditetapkan sebelumnya. Kriteria seleksi dalam penelitian ini terbagi menjadi dua yaitu kriteria inklusi dan eksklusi.

a. Kriteria inklusi:

- Wanita pramenopause atau pascamenopause yang sehat berdasarkan pemeriksaan fisik, yaitu tidak terdapat kelainan pada laju nadi, laju pernapasan, suhu tubuh, tekanan darah, kepala dan leher, thoraks, abdomen, serta ekstremitas.
- Wanita pascamenopause sehat tersebut telah mengalami henti haid selama 3 – 5 tahun
- Usia ≥ 40 tahun
- LDL < 160 mg/dL
- Tekanan darah $< 140/90$ mmHg
- BMI (*Body Mass Index*) $\leq 27,5$ kg/m²
- Setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian ini dengan menandatangani formulir *informed consent*.

b. Kriteria eksklusi:

- Minum aspirin dalam 14 hari terakhir sebelum penelitian.
- Minum obat antiinflamasi nonsteroid dalam 14 hari terakhir sebelum penelitian.
- Riwayat gangguan perdarahan, perdarahan gastrointestinal, stroke hemoragik
- Alergi terhadap aspirin.
- Minum kontrasepsi hormonal / hormon estrogen/ campuran estrogen dan progesteron dalam 2 minggu terakhir bagi wanita pramenopause.
- Menggunakan kontrasepsi hormonal bentuk depo pada wanita pramenopause.

- Minum *hormone replacement therapy* pada wanita pasca-menopause.
- Terlibat dalam uji klinik lain selama 3 bulan terakhir.
- Riwayat ketergantungan obat atau alkohol, merokok.
- Diabetes Mellitus tipe I atau II
- Trombositopenia (jumlah platelet < 150.000/ μ L)
- Anemia (Perempuan dewasa, Hb < 10,0 g/dl)
- Gagal ginjal atau hati (kreatinin serum >1,4 mg/dL dan/atau transaminase serum > 1,5x batas atas nilai normal)

3.3.2. Besar Sampel

Subyek yang direkrut dalam penelitian ini adalah wanita pramenopause yang berusia ≥ 40 tahun dan wanita pascamenopause alami yang telah henti haid 3 – 5 tahun. Besar sampel untuk tiap kelompok 15 orang sebagai studi pendahuluan karena belum ada data yang diperlukan untuk perhitungan sampel, yaitu besarnya penurunan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} yang timbul akibat pemberian aspirin 100 mg oral selama 7 hari berturut-turut pada kedua kelompok subyek tersebut.

3.4. VARIABEL YANG DIUKUR

Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} diukur dalam urin yang dikumpulkan selama 24 jam. Pengambilan sampel urin dilakukan sebelum dan sesudah sukarelawan minum aspirin 100 mg selama 7 hari.

3.5. ALAT DAN BAHAN PENELITIAN

3.5.1. Urin

Urin yang digunakan dalam penelitian ini adalah urin 24 jam yang dikumpulkan oleh sukarelawan sebelum dan sesudah minum aspirin 100 mg selama 7 hari berturut-turut. Urin 24 jam dikumpulkan dalam wadah pendingin tanpa pengawet yang telah diberikan kepada subyek penelitian. Urin diukur volumenya, kemudian dikocok dan diambil 8 mL untuk disimpan pada suhu -80°C di Laboratorium Makmal Terpadu FKUI hingga analisis pengukuran kadar

2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dilakukan. Dalam sampel urin yang disimpan pada suhu -80°C, kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akan stabil hingga 1 tahun.⁸

3.5.2. Alat

- *Plate reader* dengan panjang gelombang 412 nm
- Mikropipet dan tips
- 2,3 dinor-6-keto-PGF 1α EIA *kit* (disimpan pada suhu -20°C)
- Pengocok orbital
- Alat-alat gelas
- Alat sentrifus
- Pendingin -80°C dan -20°C
- Wadah plastik

3.5.3. Bahan

- Aspirin salut enterik (100 mg)
- *Ultrapure water*
- Dapar sitrat 1M dengan pH 4,0
- Etilasetat
- Nitrogen cair

3.6. CARA KERJA

3.6.1. Perlakuan terhadap subyek

Subyek penelitian terdiri dari 2 kelompok, yaitu kelompok wanita pramenopause sehat dan kelompok wanita pascamenopause alami sehat. Masing-masing kelompok, yang terdiri dari 15 orang, mendapatkan perlakuan yang sama. Protokol penelitian telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian FKUI (Lampiran 1).

Setiap calon subyek diberi penjelasan mengenai latar belakang, tujuan, prosedur penelitian, keuntungan dan kerugian yang mungkin dialami oleh subyek penelitian secara lisan dan tertulis. *Informed consent* telah didapatkan sebelum skrining dimulai. Skrining terhadap setiap calon subyek meliputi anamnesis dan pemeriksaan fisik oleh dokter serta pemeriksaan laboratorium oleh laboratorium

Universitas Indonesia

Prodia. Pemeriksaan fisik meliputi pemeriksaan tanda-tanda vital (tekanan darah, laju nadi, laju napas dan suhu ketiak), kepala dan leher, toraks, abdomen, dan ekstremitas. Pemeriksaan laboratorium meliputi hematologi rutin (haemoglobin, hitung leukosit dan trombosit), profil lipid (kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida), fungsi hati (SGOT, SGPT), dan fungsi ginjal (ureum dan kreatinin).

Setiap subyek penelitian tidak boleh mengkonsumsi aspirin maupun obat antiinflamasi nonsteroid selama 14 hari sebelum penelitian dimulai. Selain itu, setiap subyek penelitian tidak boleh memiliki riwayat alergi aspirin, memakai kontrasepsi hormonal ataupun menggunakan *hormone replacement therapy*.

Calon subyek penelitian yang lolos skrining kemudian dihubungi untuk melakukan pengumpulan urin 24 jam sebagai penentuan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} awal (*baseline*) dalam wadah pendingin yang sudah diberikan. Urin 24 jam yang telah terkumpul diserahkan kepada peneliti di Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI keesokan harinya. Saat penyerahan urin, setiap subyek penelitian diberi aspirin 100 mg untuk diminum satu tablet setiap hari selama 7 hari. Aspirin 100 mg mulai diminum keesokan harinya, pada pk. 07.00 pagi setelah makan pagi, selama 7 hari berturut-turut. Pada hari ke-7, setelah minum aspirin, urin dikumpulkan kembali selama 24 jam dalam wadah pendingin yang telah diberikan, kemudian diserahkan kepada peneliti di Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI keesokan harinya.

Selama penelitian berlangsung, efek samping ditangani oleh dokter penanggung jawab. Efek samping yang muncul pada sukarelawan dinilai oleh dokter penanggung jawab dan dicatat dalam formulir *Adverse Event* dalam *Case Report Form* (Lampiran 3).

3.6.2. Perlakuan terhadap Sampel Urin

Sentrifugasi dilakukan pada sampel urin sebanyak 5 mL yang telah diperoleh untuk menghilangkan partikulat yang ada. Apabila pemeriksaan tidak dilakukan segera, maka sampel harus disimpan dalam suhu -80°C.

3.6.3. Purifikasi

Purifikasi sampel dilakukan dengan teknik ekstraksi cair-cair. Purifikasi untuk setiap sampel dilakukan 2 kali dengan menggunakan *spike* 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} 1000 pg/mL dan tanpa menggunakan *spike*. *Spike* merupakan zat yang ditambahkan untuk menghitung *recovery factor* akibat manipulasi sampel dengan membandingkan serapan *spike* dengan kadarnya. Purifikasi dilakukan dengan menggunakan tabung gelas dan tidak boleh dilakukan menggunakan vial plastik karena etil asetat yang akan digunakan dapat bereaksi dengan plastik dan mengganggu pemeriksaan.

Semua sampel (dengan atau tanpa *spike*) diasamkan dengan menggunakan 1 M dapar sitrat pH 4,0 dengan volume yang sama dengan sampel. Etilasetat sebanyak 4 kali volume sampel ditambahkan kemudian divorteks selama 2 x 10 detik. Fraksi etilasetat dipindahkan ke dalam tabung bersih. Prosedur diulang sebanyak 2 kali, dan ekstrak yang dihasilkan dicampur dalam satu tabung.

Ekstrak yang didapat dievaporasi dengan menggunakan aliran gas nitrogen hingga tersisa 500 μ L, kemudian divorteks. Sampel telah siap untuk digunakan dalam ELA.

3.6.4. Persiapan Pereaksi Spesifik

3.6.4.1. Standar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α}

Tip pipet dibilas dengan menggunakan etanol sebelum digunakan. Seratus μ L standar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dengan kadar 500 ng/mL dimasukkan ke dalam tabung bersih dengan menggunakan tip pipet yang telah dibilas, kemudian diencerkan dengan 900 μ L air yang *ultrapure*. Kadar larutan ini (larutan induk) menjadi 50 ng/mL.

Delapan tabung reaksi yang telah bersih diberi label 1 hingga 8. Sembilan ratus μ L larutan dapar EIA dimasukkan dalam tabung reaksi 1 dan 500 μ L dapar EIA dimasukkan dalam tabung reaksi 2-8. Seratus μ L larutan induk (50 ng/mL) dimasukkan ke dalam tabung 1 dan dicampur hingga homogen. Pengenceran serial dilakukan dengan memindahkan 500 μ L larutan dari tabung 1 ke tabung 2, kemudian dicampur hingga homogen, kemudian memindahkan 500 μ L larutan dari tabung 2 ke tabung 3 dan dicampur hingga homogen. Prosedur ini diulang

pada tabung ke 4 hingga 8. Standar yang telah diencerkan ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam sebelum digunakan.

3.6.4.2. Perunut 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} AChE

Seratus dtn (*determination*) perunut 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} AChE dilarutkan dalam 6 mL dapar EIA. Larutan ini dapat dipergunakan selama 4 minggu bila disimpan pada suhu 4°C.

3.6.4.3. Antibodi Monoklonal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}

Seratus dtn antibodi 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dilarutkan dalam 6 mL dapar EIA. Larutan ini dapat dipergunakan selama 4 minggu bila disimpan pada suhu 4°C.

3.6.5. Persiapan Pereaksi Tambahan

3.6.5.1. Dapar EIA 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}

Larutan dapar EIA sebanyak 150 μL ditambahkan ke dalam sumur *Non-Specific Binding* (NSB) dan 100 μL ditambahkan ke dalam sumur ikatan maksimal (B₀).

3.6.5.2. Standar EIA 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}

Dua sumur untuk standar (Std) dengan kadar terendah (S8) dimasukkan masing-masing 100 μL larutan dari tabung standar 8 yang telah dipersiapkan. Larutan dari tabung standar 7 dimasukkan ke dalam 2 sumur standar (S7) masing-masing 100 μL. Demikian seterusnya hingga semua sumur standar (S1 – S8) terisi. Untuk memindahkan standar ke dalam sumur, harus dipergunakan tip pipet yang sama. Sebelum memipet larutan standar, tip pipet harus dibilas dengan larutan standar tersebut.

3.6.5.3. Sampel

Sampel dimasukkan sebanyak 100 μL ke dalam sumur. Setiap sampel harus diukur pada minimum 2 kali pengenceran dan setiap pengenceran harus dibuat duplo.

3.6.5.4. Perunut 2,3 dinor-6-keto PGF_{1 α} AChE

Lima puluh μL perunut 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} AChE dimasukkan ke dalam setiap sumur, kecuali sumur *Total Activity* (TA) dan Blanko (Blk).

3.6.5.5. Antibodi Monoklonal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α}

Lima puluh μL antibodi monoklonal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dimasukkan ke dalam setiap sumur, kecuali sumur *Total Activity* (TA), *Non Specific Binding* (NSB), dan Blanko (Blk).

Tabel 2. Ringkasan Pemipetan

Sumur	Dapar EIA	Standar atau Sampel	Perunut	Anti-bodi	Reagen Ellman
Blanko (serapan reagen Ellman)	-	-	-	-	200 μL
<i>Total Activity</i> (TA) dari perunut	-	-	5 μl (saat pengembangan plat)	-	200 μL
<i>Non Specific Binding</i> (NSB) antara perunut dengan sumur	150 μl	-	50 μl	-	200 μL
B ₀ (ikatan maksimal)	100 μl	-	50 μl	50 μl	200 μL
Standar/Sampel	-	100 μl	50 μl	50 μl	200 μL

3.6.6. Persiapan Plat

3.6.6.1. Inkubasi Plat

Plat ditutup dengan film plastik dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 4°C.

3.6.6.2. Pengembangan Plat

Bila plat telah siap, maka 100 dtn pereaksi Ellman dilarutkan dalam 20 mL air *ultrapure*. Pereaksi Ellman yang telah dilarutkan harus dihindarkan dari cahaya selama tidak dipergunakan dan harus dipergunakan pada hari yang sama karena bersifat tidak stabil. Sumur yang akan dipergunakan dibilas sebanyak 5 kali dengan dapar pencuci, kemudian 200 μL pereaksi Ellman ditambahkan ke

dalam setiap sumur. Lima μL perunut dimasukkan ke dalam sumur *Total Activity* (TA). Kemudian plat ditutup dengan film plastik. Pengembangan plat optimal akan diperoleh bila menggunakan pengocok orbital dan plat dalam keadaan tertutup, sehingga reaksi berlangsung di tempat gelap (contohnya sumur $B_0 \geq 0.3$ S.A. (dikurangi blanko)) selama 90-120 menit.

3.6.6.3. Pembacaan Plat

Bagian bawah plat dibersihkan dari kotoran dan sidik jari dengan menggunakan *tissue* bersih. Penutup plat dipindahkan dengan hati-hati agar pereaksi Ellman tidak terpercik ke penutup plat. Kehilangan pereaksi Ellman dapat berpengaruh pada pembacaan penyerapan. Plat dibaca pada panjang gelombang 405 – 420 nm. Pembacaan dilakukan secara periodik hingga sumur B_0 mencapai minimum 0,3 S.A. (dikurangi blanko). Bila penyerapan melebihi 1,5, maka plat dicuci, ditambahkan pereaksi Ellman, dan dikembangkan kembali.

3.7. ANALISIS DATA

3.7.1. Persiapan Data

- Rata-rata absorpsi sumur NSB
- Rata-rata absorpsi sumur B_0
- Rata-rata B_0 dikurangi dengan NSB (B_0 terkoreksi)
- Perhitungan $\%B/B_0$ (% sampel atau ikatan standard dibanding ikatan maksimum) untuk sumur yang ada, dilakukan dengan mengurangi rata-rata absorpsi S1 dengan absorpsi NSB dan dibagi dengan B_0 yang dikoreksi, kemudian dikali 100. Perhitungan ini diulang untuk sumur S2-S8 dan seluruh sumur sampel.

3.7.2. Pembuatan Kurva Standar

Data dapat dibuat linear dengan menggunakan transformasi logit. Persamaan dari konversi ini adalah:

$$\text{Logit } (B/B_0) = \ln [B/B_0 / (1-B/B_0)]$$

Data diplot sebagai logit (B/B_0) terhadap nilai logaritma kadar.

3.7.3. Penentuan Kadar Sampel

Nilai $\%B/B_0$ dihitung untuk setiap sampel. Menentukan kadar setiap sampel menggunakan persamaan yang didapatkan dari kurva standar. Sampel dengan nilai $\%B/B_0$ lebih dari 80% atau kurang dari 20% harus diukur ulang karena biasanya berada di luar area linear dari kurva standar.

3.7.4. Recovery

Kadar yang sebenarnya dari sampel dan faktor *recovery* dapat ditentukan dengan metode:

$$\text{Faktor Recovery Purifikasi} = \left[\frac{Y - V}{S} \right]$$

2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (pg) dalam sampel yang telah dipurifikasi =

$$\left[\frac{V}{\text{Faktor Recovery}} \right] \times 0,5 \text{ mL}$$

Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam sampel (pg/mL) =

$$\frac{\text{2,3-dinor-6-keto-PGF}_{1\alpha} \text{ (pg) dalam sampel yang telah dipurifikasi}}{\text{Volume sampel yang digunakan dalam purifikasi (mL)}}$$

V = kadar sampel tanpa *spike* yang ditentukan dengan EIA (pg/mL)

S = kadar *spike* (pg/mL)

Y = kadar sampel dengan *spike* yang ditentukan dengan EIA (pg/mL)

3.7.5. Analisis Statistik

- Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah pemberian aspirin pada wanita pascamenopause dibandingkan dengan uji t berpasangan atau uji Wilcoxon (tergantung distribusi datanya), demikian juga pada wanita pramenopause.
- Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal (sebelum minum aspirin) pada wanita pramenopause dan pada wanita pascamenopause dibandingkan dengan uji t tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).

Universitas Indonesia

- Selisih kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah pemberian aspirin dibandingkan antara wanita pascamenopause dan wanita pramenopause dengan uji t tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).
- Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}* sebelum minum aspirin dibandingkan dengan sesudah minum aspirin dengan uji t berpasangan atau uji Wilcoxon (tergantung distribusi datanya) pada wanita pascamenopause maupun pada wanita pramenopause.
- Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal dibandingkan antara wanita pramenopause dan pascamenopause dengan uji t tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).
- Selisih rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah minum aspirin dibandingkan antara wanita pascamenopause dan pramenopause dengan uji t tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).
- Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pramenopause dibandingkan dengan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir (setelah minum aspirin) pada wanita pascamenopause dengan uji t tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).
- Persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada masing-masing kelompok wanita pramenopause dan wanita pascamenopause dibandingkan dengan uji t berpasangan atau uji Wilcoxon (tergantung distribusi datanya).
- Jika data kedua kelompok yang dibandingkan normal (diuji dengan uji Kolmogorov-Smirnov), maka data dibandingkan dengan uji parametrik (uji t berpasangan atau tidak berpasangan).
- Jika data kedua kelompok yang dibandingkan ada yang tidak normal, maka dilakukan transformasi data ke bentuk logaritmanya. Jika transformasi menghasilkan distribusi data yang normal untuk kedua kelompok, maka dilakukan uji parametrik pada data hasil transformasi, dan hasilnya di-antilog untuk mengembalikan ke data aslinya.

- Jika transformasi menghasilkan distribusi data yang masih tidak normal, maka dilakukan uji nonparametrik pada data asli (uji Wilcoxon atau Mann Whitney).
- * Kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 yang digunakan untuk perhitungan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ diambil dari penelitian sebelumnya yang dilakukan pada sampel urin yang sama dari subyek penelitian yang sama.



BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1. KARAKTERISTIK AWAL SUBYEK PENELITIAN

Subyek penelitian terdiri dari 15 wanita pramenopause dan 15 wanita pascamenopause sehat. Karakter awal masing-masing wanita yang diikutsertakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 4 dan 5.

Tabel 3. Karakteristik awal subyek penelitian

Karakteristik	Wanita Pascamenopause (n = 15)	Wanita Pramenopause (n = 15)	Total (n = 30)
Usia (tahun)			
Rerata (SD)	54 (6)	44 (10)	49 (12)
Waktu setelah menopause (tahun)			
Rerata (SD)	3,95 (0,77)	-	-
BMI			
Rerata (SD)	24,07 (2,05)	23,91 (3,09)	-
Tekanan darah sistolik (n)			
< 120 mmHg	4	8	12
120 – 129 mmHg	3	3	6
130 – 139 mmHg	8	4	12
Kolesterol LDL (n)			
< 100 mg/dL	2	1	3
100 – 129 mg/dL	7	7	14
130 – 159 mg/dL	6	7	13

Semua subyek yang diikutsertakan dalam penelitian telah melewati pemeriksaan penyaringan berupa anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Hasil anamnesis dan pemeriksaan fisik semua subyek yang diikutsertakan dalam penelitian adalah normal, sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Hasil pemeriksaan laboratorium berada dalam batas normal dan data tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan penyanging hematologi rutin, fungsi hati, fungsi ginjal dan profil lipid

Parameter	Rerata (SD)	
	Wanita Pascamenopause (n = 15)	Wanita Premenopause (n = 15)
Hematologi rutin		
Kadar Hb (g/dL)	12,69 (0,76)	12,75 (1,08)
Hitung trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	309,20 (9,04)	339,53 (53,24)
Fungsi hati		
SGOT (U/L)	24,00 (5,50)	22,23 (4,10)
SGPT (U/L)	21,27 (6,37)	18,60 (8,95)
Fungsi ginjal		
Ureum (mg/dL)	21,93 (6,41)	19,67 (5,54)
Kreatinin (mg/dL)	0,72 (0,13)	0,67 (0,08)

Data lengkap hasil pemeriksaan penyanging pada masing-masing subyek penelitian dapat dilihat pada Lampiran 4 dan 5. Karakteristik awal kedua kelompok dalam penelitian ini, yaitu kelompok wanita premenopause dan wanita pascamenopause seimbang dan hal ini dapat dilihat pada kedua tabel di atas.

4.2. PENETAPAN KADAR 2,3-DINOR-6-KETO-PGF_{1 α}

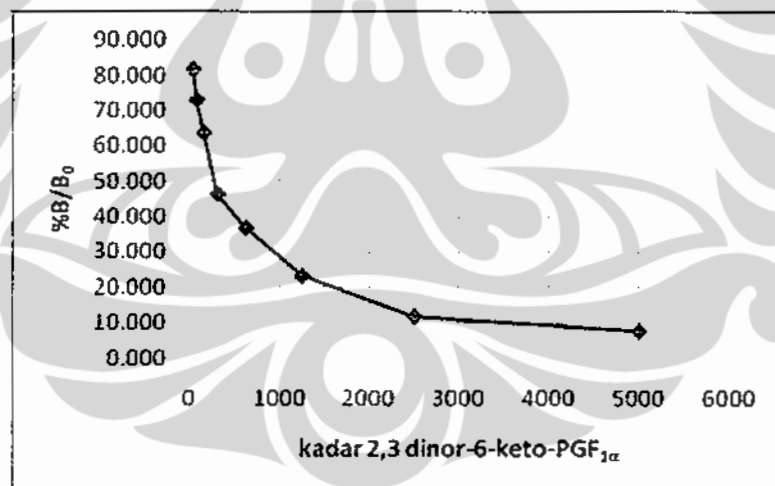
4.2.1. Kurva Kalibrasi

Kurva kalibrasi dibuat dengan mengurangi serapan standar (1 – 8) dengan serapan NSB (*Non Specific Binding*), kemudian hasilnya dibagi dengan B₀ yang sudah dikoreksi. Koreksi B₀ dilakukan dengan cara mengurangi rata-rata serapan B₀ dengan rata-rata serapan NSB. Absorpsi NSB menggambarkan ikatan non-imunologi yang terjadi antara perunut dengan sumur, karena tanpa keberadaan antibodi spesifik, perunut tetap berikatan dengan sumur dalam jumlah kecil dan serapan NSB digunakan untuk mengkoreksi serapan akibat ikatan non-imunologi tersebut. Rerata serapan NSB = 0,1805. Serapan B₀ menggambarkan jumlah maksimum perunut yang dapat diikat oleh antibodi tanpa keberadaan analit. Rerata serapan B₀ = 0,9225. Rerata serapan B₀ yang terkoreksi = 0,9225 – 0,1805 = 0,742. TA (*Total Activity*) merupakan aktivitas enzimatik total dari perunut yang terikat dengan AChE.

Absorpsi kadar setiap standar dibagi dengan B_0 dan dikali dengan 100 untuk menghasilkan $\%B/B_0$. Data serapan standar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} , NSB, B_0 , dan TA dapat dilihat dalam Tabel 5 berikut:

Tabel 5. Data serapan standar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} terhadap kadarnya

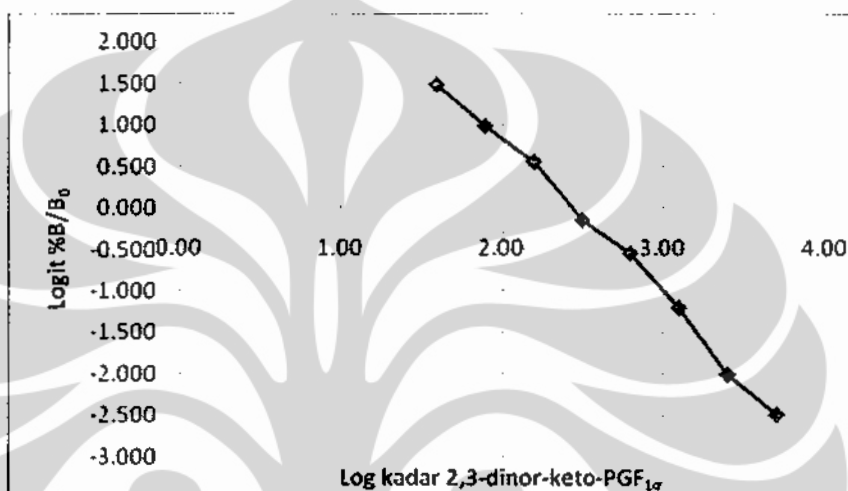
Kadar standar (pg/mL)	Rerata serapan	Serapan terkoreksi (rerata serapan – serapan NSB)	$\%B/B_0$
			$\left[\frac{\text{serapan terkoreksi}}{\text{serapan } B_0 \text{ terkoreksi}} \times 100 \right]$
5000	0,237	0,057	7,682
2500	0,268	0,088	11,860
1250	0,352	0,172	23,181
625	0,453	0,273	36,792
313	0,524	0,344	46,361
156	0,652	0,472	63,612
78	0,721	0,541	72,911
39	0,785	0,605	81,536



Gambar 7. Kurva yang menggambarkan $\%B/B_0$ terhadap kadar standar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α}

Agar kurva absorpsi standar linier, maka dilakukan transformasi data menjadi logit serapan $\%B/B_0$ (sumbu y) dan log kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} standar (sumbu x) (lihat Gambar 8).

Persamaan garis regresi linier yang diperoleh adalah $y = -2,043x + 5,143$, dengan koefisien korelasi $r = 0,998$.



Gambar 8. Kurva kalibrasi standar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α}

4.2.2. Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dalam urin sebelum dan sesudah pemberian aspirin 100 mg

Pengukuran 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dilakukan 2 kali untuk setiap subyek penelitian, yaitu saat sebelum minum aspirin 100 mg dan setelah 7 hari minum aspirin 100 mg. Serapan setiap sampel dihitung $\%B/B_0$ -nya dan diplot ke dalam kurva standar untuk mendapatkan kadar setiap sampel.

Rerata kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dalam urin wanita pramenopause adalah 150,98 ng/g kreatinin dan rerata kadar setelah diberikan aspirin 100 mg selama 7 hari adalah 72,54 ng/g kreatinin. Rerata penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} sebesar 46,26%. (Tabel 6)

Tabel 6. Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dalam urin wanita pramenopause sebelum dan sesudah minum aspirin 100 mg

No subyek	Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam Urin Wanita Premenopause			
	Sebelum (A) (ng/g kreatinin)	Sesudah (B) (ng/g kreatinin)	A - B (ng/g kreatinin)	Penurunan (% sebelum)
1	128,18	20,18	108,00	84,26
2	240,98	185,12	55,86	23,18
3	94,28	77,02	17,27	18,31
4	164,95	89,66	75,29	45,64
5	223,72	35,03	188,69	84,34
6	97,41	68,48	28,93	29,70
7	78,23	60,05	18,18	23,24
8	85,99	73,37	12,62	14,67
9	83,70	37,81	45,89	54,83
10	159,02	73,63	85,39	53,70
11	310,89	84,70	226,20	72,76
12	139,55	44,21	95,34	68,32
13	151,94	120,25	31,69	20,86
14	101,43	84,40	17,03	16,79
15	204,40	34,13	170,27	83,30
Rerata	150,98	72,54	78,44	46,26

Rerata kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} dalam urin wanita pascamenopause adalah 79,90 ng/g kreatinin dan rerata kadar setelah diberikan aspirin 100 mg selama 7 hari adalah 44,19 ng/g kreatinin. Rerata penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} sebesar 40,94%. (Tabel 7)

Tabel 7. Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin wanita pascamenopause sebelum dan sesudah minum aspirin 100 mg

No subyek	Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam Urin Wanita Pascamenopause			
	Sebelum (A) (ng/g kreatinin)	Sesudah (B) (ng/g kreatinin)	A – B (ng/g kreatinin)	Penurunan (% sebelum)
1	27,67	19,73	7,94	28,69
2	63,17	51,25	11,92	18,87
3	88,90	45,61	43,29	48,70
4	78,81	66,63	12,18	15,46
5	35,82	35,73	0,10	0,27
6	146,92	105,65	41,27	28,09
7	23,52	10,65	12,87	54,74
8	109,67	12,96	96,71	88,18
9	61,83	12,49	49,34	79,80
10	68,66	36,87	31,80	46,31
11	44,49	32,49	12,01	26,99
12	86,28	61,68	24,60	28,51
13	158,67	62,32	96,35	60,73
14	120,72	52,17	68,56	56,79
15	83,35	56,71	26,65	31,97
Rerata	79,90	44,19	35,71	40,94

Tabel 8. Ringkasan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin wanita pascamenopause dan pramenopause sebelum dan setelah pemberian aspirin 100 mg

	Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam Urin Wanita Pramenopause			Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} dalam Urin Wanita Pascamenopause		
	Sebelum aspirin (ng/g kreatinin)	Setelah aspirin (ng/g kreatinin)	Penurunan (%)	Sebelum aspirin (ng/g kreatinin)	Setelah aspirin (ng/g kreatinin)	Penurunan (%)
Rerata (SD)	150,98 (68,30)	72,54 (40,85)	46,26 (27,01)	79,90 (40,73)	44,19 (25,57)	40,94 (24,20)

Nilai awal kelompok pascamenopause (79,90 ng/g kreatinin) lebih rendah dibandingkan kelompok pramenopause (150,98 ng/g kreatinin). Demikian pula kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} setelah pemberian aspirin 100 mg selama 7 hari pada wanita pascamenopause (44,19 ng/g kreatinin) lebih rendah dibandingkan wanita pramenopause (72,54 ng/g kreatinin). Namun nilai reduksi lebih besar

pada kelompok wanita pramenopause (46,26%) dibandingkan dengan kelompok wanita pascamenopause (40,94%).

4.2.3. Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan setelah pemberian aspirin 100 mg pada wanita pascamenopause dan pramenopause

Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pramenopause mengalami penurunan sebesar 15,06% setelah diberikan aspirin 100 mg selama 7 hari (dari 1,13 menjadi 0,96). Data ini dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pramenopause

No subyek	Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pramenopause						
	Sebelum ASA			Sesudah ASA			Selisih rasio (sebelum – sesudah)
	11-dTxB ₂ (ng/g kreatinin)*	2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} (ng/g kreatinin)	Rasio	11-dTxB ₂ (ng/g kreatinin)*	2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} (ng/g kreatinin)	Rasio	
1	61,46	128,18	0,48	20,58	20,18	1,02	-0,54
2	339,62	240,98	1,41	93,66	185,12	0,51	0,90
3	58,15	94,28	0,62	33,6	77,02	0,44	0,18
4	131,38	164,95	0,80	74,12	89,66	0,83	-0,03
5	217,44	223,72	0,97	70,21	35,03	2,00	-1,03
6	143,29	97,41	1,47	47,13	68,48	0,69	0,78
7	158,13	78,23	2,02	72,24	60,05	1,20	0,82
8	130,66	85,99	1,52	71,57	73,37	0,98	0,54
9	105,91	83,70	1,27	34,17	37,81	0,90	0,36
10	168,31	159,02	1,06	81,29	73,63	1,10	-0,05
11	196,45	310,89	0,63	93,34	84,70	1,10	-0,47
12	104,21	139,55	0,75	19,21	44,21	0,44	0,31
13	303,26	151,94	2,00	82,91	120,25	0,69	1,31
14	99,28	101,43	0,98	31,83	84,40	0,38	0,60
15	198,89	204,40	0,97	72,24	34,13	2,12	-1,14
Re-rata	161,10	150,98	1,13	59,87	72,54	0,96	0,17

* Data diambil dari penelitian sebelumnya, menggunakan sampel urin yang sama dari subyek penelitian yang sama.

Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause juga mengalami penurunan sebesar 46,62 % setelah diberikan aspirin 100 mg selama 7 hari (dari 4,09 menjadi 2,18). Data ini dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause

No subyek	Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B ₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} pada wanita pascamenopause						
	Sebelum ASA			Sesudah ASA			Selisih rasio (sebelum - sesudah)
	11-dTxB ₂ (ng/g kreatinin)*	2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} (ng/g kreatinin)	Rasio	11-dTxB ₂ (ng/g kreatinin)*	2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} (ng/g kreatinin)	Rasio	
1	118,32	27,67	4,28	39,72	19,73	2,01	2,26
2	367,95	63,17	5,83	81,99	51,25	1,60	4,23
3	173,97	88,90	1,96	40,22	45,61	0,88	1,08
4	185,08	78,81	2,35	55,27	66,63	0,83	1,52
5	241,45	35,82	6,74	65,16	35,73	1,82	4,92
6	176,13	146,92	1,20	53,14	105,65	0,50	0,70
7	241,45	23,52	10,27	64,67	10,65	6,08	4,19
8	527,46	109,70	4,81	118,11	12,96	9,11	-4,30
9	287,41	61,83	4,65	21,11	12,49	1,69	2,96
10	87,52	68,66	1,28	26,73	36,87	0,73	0,55
11	408,14	44,49	9,17	80,53	32,49	2,48	6,69
12	186,15	86,28	2,16	65,82	61,68	1,07	1,09
13	237,91	158,67	1,50	90,89	62,32	1,46	0,04
14	235,65	120,72	1,95	65,67	52,17	1,26	0,69
15	270,32	83,35	3,24	70,32	56,71	1,24	2,00
Re-rata	249,66	79,90	4,09	62,62	44,19	2,18	1,91

* Data diambil dari penelitian sebelumnya, menggunakan sampel urin yang sama dari subyek penelitian yang sama.

Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pramenopause lebih rendah dibandingkan wanita pascamenopause baik pada kelompok sebelum diberikan aspirin 100 mg (1,13 dibandingkan dengan 4,09) maupun pada kelompok setelah diberikan aspirin 100 mg (0,96 dibandingkan dengan 2,18). Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pramenopause juga lebih rendah

dibandingkan dengan wanita pascamenopause (0,17 dibandingkan dengan 1,91). Data ini dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Selisih rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ sebelum dan sesudah aspirin pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.

	Rasio Kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ dalam Urin Wanita Premenopause			Rasio Kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ dalam Urin Wanita Pascamenopause		
	Sebelum aspirin (ng/g kreatinin)	Setelah aspirin (ng/g kreatinin)	Selisih rasio (sebelum - sesudah)	Sebelum aspirin (ng/g kreatinin)	Setelah aspirin (ng/g kreatinin)	Selisih rasio (sebelum - sesudah)
Rerata (SD)	1,13 (0,48)	0,96 (0,52)	0,17 (0,72)	4,09 (2,86)	2,18 (2,33)	1,91 (2,57)

4.3. ANALISIS STATISTIK

4.3.1. Data Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$

Sebelum dilakukan analisis statistik, distribusi data setiap kelompok diuji dengan uji Kolmogorov-Smirnov.

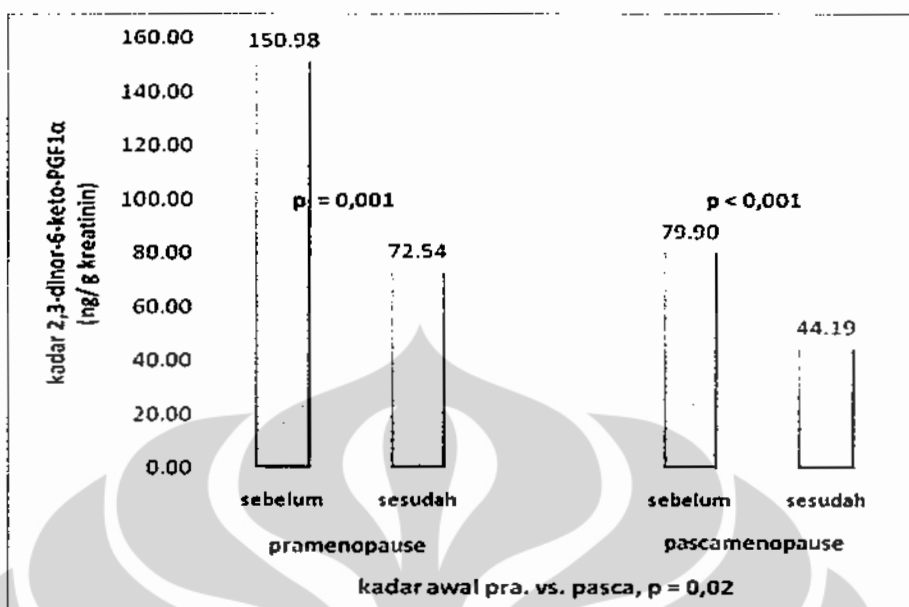
Analisis statistik dilakukan dalam masing-masing kelompok wanita pramenopause dan pascamenopause sebelum dan setelah minum aspirin 100 mg untuk melihat penurunan produksi prostasiklin setelah pemberian aspirin. Distribusi data selisih sebelum dan sesudah minum aspirin pada wanita pramenopause maupun wanita pascamenopause diuji dengan uji Kolmogorov-Smirnov dan menunjukkan bahwa distribusinya normal. Hasil analisis statistik menggunakan uji t berpasangan pada kelompok pramenopause memperlihatkan penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ bermakna pada kelompok sesudah minum aspirin dibandingkan kelompok sebelum minum aspirin ($p = 0,001$; selisih = 78,44 ng/g kreatinin; 95% CI = 40,61 \rightarrow 116,27) (Lampiran 6.1). Analisis statistik menggunakan uji t berpasangan pada kelompok pascamenopause menunjukkan adanya penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ bermakna pada kelompok setelah minum aspirin dibandingkan sebelum minum aspirin ($p < 0,001$; selisih = 35,71 ng/g kreatinin; 95% CI = 18,69 \rightarrow 52,72) (Lampiran 6.2).

Analisis statistik yang dilakukan antar kelompok pramenopause dan pascamenopause dilakukan untuk melihat perbedaan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} sebelum minum aspirin 100 mg dengan menggunakan uji t tidak berpasangan (dalam kedua kelompok terdistribusi normal). Hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} yang bermakna pada kadar awal (sebelum diberikan aspirin 100 mg) pada kelompok pramenopause dibandingkan dengan kelompok pascamenopause ($p = 0,002$; 150,98 ng/g kreatinin vs. 79,90 ng/g kreatinin; 95% CI = 28,60 \rightarrow 113,56). Kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} lebih tinggi pada wanita pramenopause dibandingkan wanita pascamenopause (Lampiran 6.3).

Hasil analisis statistik dengan uji t tidak berpasangan yang dilakukan pada persentase penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} oleh ASA pada kelompok pramenopause dan pascamenopause (data kedua kelompok terdistribusi normal) menunjukkan bahwa walaupun penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} oleh ASA pada kelompok wanita pramenopause lebih besar namun persentase penurunan tersebut tidak berbeda ($p = 0,574$; 46,26% vs. 40,94%; 95% CI = -13,86 \rightarrow 24,50) (Lampiran 6.4).

Tabel 12. Ringkasan analisis statistik kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α}

Analisis statistik	Uji yang digunakan	Nilai p	Rerata perbedaan	95% CI
Pramenopause: Kadar awal vs. akhir	Uji t berpasangan	0,001	78,44 ng/g kreatinin	40,61 \rightarrow 116,27
Pascamenopause: Kadar awal vs. akhir	Uji t berpasangan	< 0,001	35,71 ng/g kreatinin	18,69 \rightarrow 52,72
Kadar awal: Pramenopause vs. pascamenopause	Uji t tidak berpasangan	0,002	71,08 ng/g kreatinin	28,60 \rightarrow 113,56
% penurunan: Pramenopause vs. pascamenopause	Uji t tidak berpasangan	0,574	5,32 %	-13,86 \rightarrow 24,50



Gambar 9. Diagram balok penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} oleh ASA pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.

4.3.2. Data Rasio Kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}

Analisis statistik dilakukan dalam kelompok wanita pramenopause dan pascamenopause masing-masing sebelum dan setelah minum aspirin 100 mg untuk melihat penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} setelah pemberian aspirin dengan menggunakan uji t berpasangan. Analisis pada masing-masing kelompok wanita pramenopause dan pascamenopause dilakukan terhadap data asli, karena data selisih sebelum dan setelah ASA terdistribusi dengan normal (Lampiran 6.5 dan Lampiran 6.6). Hasilnya menunjukkan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} yang lebih kecil dan bermakna setelah diberikan aspirin 100 mg dibandingkan sebelum diberikan aspirin 100 mg pada kelompok pascamenopause ($p = 0,012$; selisih = 1,91; 95% CI = 0,49 → 3,33) (Lampiran 6.6), namun tidak terdapat perbedaan pada kelompok pramenopause ($p = 0,374$; selisih = 0,17; 95% CI = -0,23 → 0,57) (Lampiran 6.5).

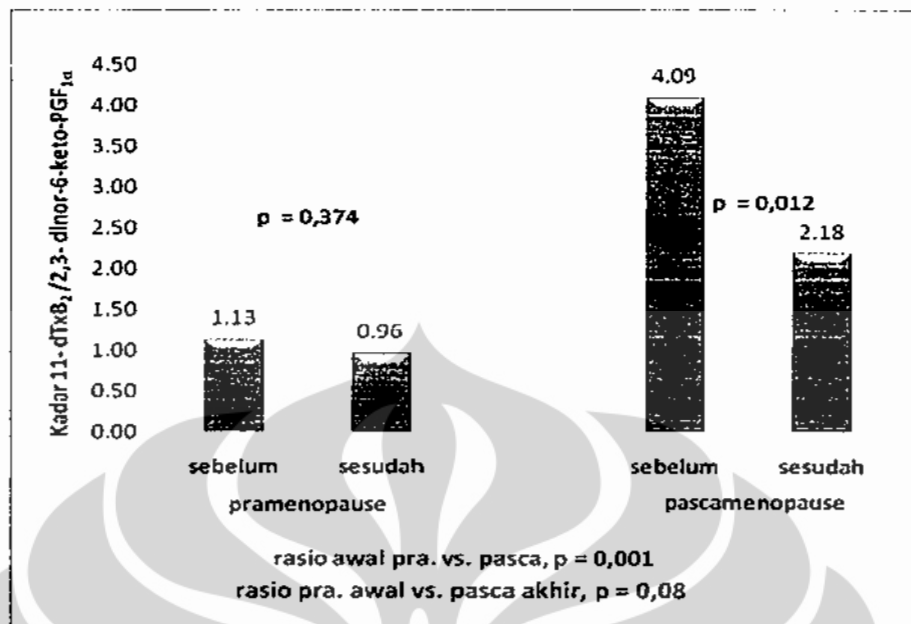
Analisis statistik terhadap data yang terdistribusi normal antar kelompok untuk membandingkan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-

PGF_{1α} awal (sebelum minum aspirin 100 mg) menunjukkan bahwa rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada kelompok pascamenopause lebih besar bermakna dibandingkan kelompok pramenopause ($p = 0,001$; 4,09 vs. 1,13; 95% CI = -4,56 → -1,37) (Lampiran 6.7).

Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} antara wanita pascamenopause dan wanita pramenopause dilakukan menggunakan uji t tidak berpasangan karena data kedua kelompok terdistribusi normal. Hasil uji menunjukkan bahwa kedua kelompok berbeda ($p = 0,022$; 1,91 vs. 0,17; 95% CI = -3,19 → -0,28) (Lampiran 6.8).

Tabel 13. Ringkasan analisis statistik rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}

Analisis statistik	Uji yang digunakan	Nilai p	Rerata perbedaan	95% CI
Pramenopause: Rasio awal vs. akhir	Uji t berpasangan	0,374	0,17	-0,23 → 0,57
Pascamenopause: Rasio awal vs. akhir	Uji t berpasangan	0,012	1,91	0,49 → 3,33
Rasio awal: Pramenopause vs. pascamenopause	Uji t tidak berpasangan	0,001	-2,96	-4,56 → -1,37
Penurunan rasio: Pramenopause vs. pascamenopause	Uji t tidak berpasangan	0,022	-1,738	-3,19 → -0,28



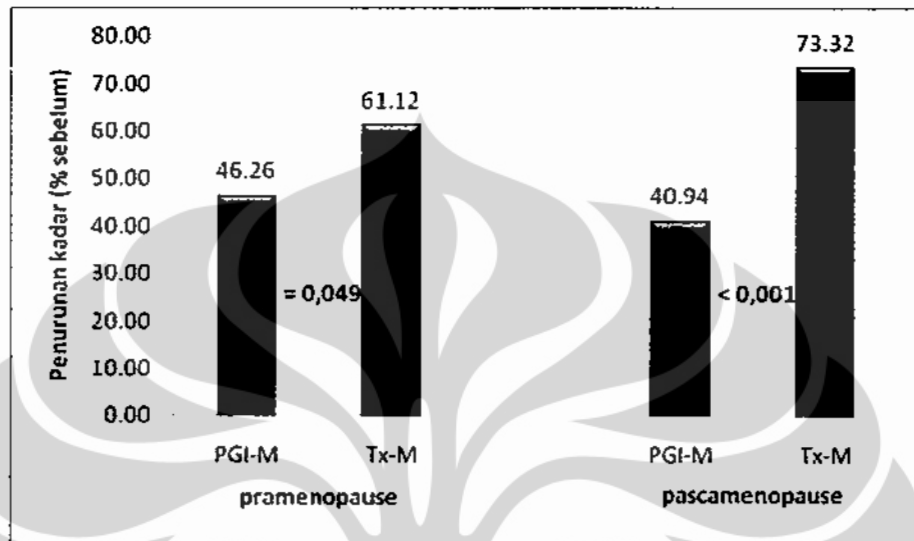
Gambar 10. Diagram balok rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ sebelum dan sesudah pemberian aspirin 100 mg pada wanita pramenopause dan pascamenopause

Analisis statistik yang dilakukan terhadap rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ awal wanita pramenopause terhadap rasio kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ akhir pascamenopause dengan uji t tidak berpasangan pada data hasil transformasi logaritmiknya menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok tersebut ($p = 0,08$; 1,13 vs. 2,18) (Lampiran 6.9).

4.3.3. Data persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 dan 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause

Uji statistik yang dilakukan terhadap data persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 dan 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ pada masing-masing kelompok wanita pramenopause dan wanita pascamenopause dilakukan terhadap data aslinya karena semua kelompok data terdistribusi normal. Hasil uji t berpasangan untuk membandingkan persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 dan 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ pada wanita pascamenopause

menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,001$; selisih = 32,38%; 95% CI = 19,75 \rightarrow 45,01) (Lampiran 6.11), demikian pula pada wanita pramenopause ($p = 0,049$; selisih = 15,63%; 95% CI = 1,33 \rightarrow 29,94) (Lampiran 6.10).



Gambar 11. Diagram balok penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (PGI) dan 11-dehidro-tromboksen-B₂ (Tx) pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan studi lanjutan dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dalam urin wanita pascamenopause alami dan pramenopause sehat yang minum aspirin 100 mg. Penelitian ini dilakukan untuk memberikan dasar pemikiran dan bahan pertimbangan dalam pemberian aspirin dosis rendah pada subyek wanita pascamenopause, dengan membandingkan penurunan tromboksan dan prostasiklin pada wanita pascamenopause dan pramenopause.

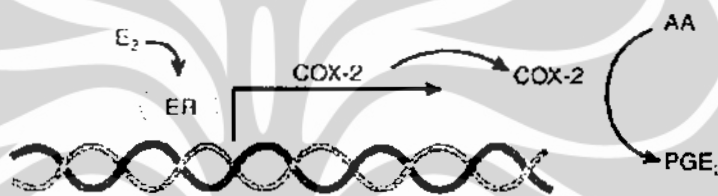
5.1. KADAR AWAL 2,3-DINOR-6-KETO-PGF_{1α}

Dalam penelitian ini didapatkan bahwa kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause (80 ng/g kreatinin) lebih rendah secara bermakna dibandingkan wanita pramenopause (151 ng/g kreatinin). Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Fischer dkk mengukur kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin beberapa kelompok subjek, yaitu kelompok wanita pramenopause (155 ± 23 ng/g kreatinin), pascamenopause (97 ± 24 ng/g kreatinin), wanita hamil trimester pertama (230 ± 50 ng/g kreatinin) dan wanita hamil trimester ke-3 (522 ± 53 ng/g kreatinin).³³

Kadar prostasiklin yang berbeda pada wanita pramenopause, wanita hamil dan wanita pascamenopause ini dikaitkan dengan kadar hormon seks, yaitu estradiol.³⁴ Kemudian diketahui bahwa penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause terkait dengan reseptor estrogen α. Sellers dkk meneliti peran reseptor estrogen terhadap produksi prostasiklin pada tikus.³⁵ Penelitian dilakukan terhadap tikus hipertensi yang dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu kelompok dengan ovarium yang utuh dan yang telah dibuang. Pemberian agonis selektif reseptor estrogen alfa pada tikus yang telah diovariectomi menghasilkan produksi prostasiklin yang lebih tinggi dibandingkan tikus dengan ovarium yang utuh ataupun yang telah dibuang tapi diberi agonis selektif reseptor estrogen beta. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa ERα (reseptor estrogen alfa) meningkatkan produksi prostasiklin dibandingkan dengan

ER β (reseptor estrogen beta).³⁵ Terkait dengan penelitian ini, maka penurunan produksi estrogen akan dapat menurunkan ikatan estrogen dengan ER α , sehingga produksi prostasiklin juga akan menurun. Demikian pula menjelaskan bahwa pada kehamilan akan terdapat peningkatan produksi prostasiklin sejalan dengan bertambahnya usia kehamilan karena adanya peningkatan estrogen.

Terdapat hubungan yang kuat antara estrogen, prostasiklin dan aterosklerosis. Penelitian lain menjelaskan bahwa vasodilatasi akibat pemberian estradiol pada wanita pascamenopause dimediasi oleh enzim siklooksigenase 2 (COX-2).³⁶⁻⁷ Jadi estrogen yang bekerja pada reseptor estrogen alpha akan meningkatkan produksi prostasiklin dengan cara mengaktivasi COX-2.³⁷



Gambar 12. Estrogen meningkatkan ekspresi COX-2.³⁸

Penurunan kadar prostasiklin pada wanita pascamenopause menyebabkan peningkatan aterogenesis yang dapat meningkatkan risiko infark miokard, stroke nonhemoragik dan kematian akibat gangguan kardiovaskular, seperti kematian akibat infark miokard, stroke, gagal jantung, aritmia, emboli paru atau pecahnya aneurisma aorta.³⁹

5.2. PENURUNAN KADAR 2,3-DINOR-6-KETO-PGF_{1 α} DALAM URIN AKIBAT PEMBERIAN ASPIRIN 100 MG

Pemberian aspirin 100 mg setiap hari selama 7 hari pada subyek wanita pramenopause menyebabkan penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} sebesar 46,26% dan pada wanita pascamenopause sebesar 40,94%. Perbedaan penurunan ini tidak bermakna ($p = 0,57$). Aspirin bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga asam arakidonat tidak dapat dikatalisasi menjadi prostaglandin G₂ (PGG₂). PGG₂ merupakan prekursor dari pembentukan

prostasiklin dan tromboksan. Penurunan prostasiklin akibat pemberian aspirin 100 mg perlu dibandingkan dengan penurunan tromboksan yang merupakan agen proagregasi trombosit dan vasokonstriktor, untuk menilai efek antitrombotik aspirin dosis rendah.

5.3. RASIO KADAR 11-DEHIDRO-TROMBOKSAN-B₂ / 2,3-DINOR-6-KETO-PGF_{1α}

Tromboksan merupakan proagregasi trombosit dan vasokonstriktor yang poten, sedangkan prostasiklin sebaliknya. Pemberian aspirin dosis 100 mg akan menghambat kerja enzim siklooksigenase 1 dan 2 secara nonspesifik, akibatnya terjadi penurunan produksi tromboksan dan prostasiklin. Untuk mengetahui dan menilai efek antitrombotik pemberian aspirin dosis rendah, maka perlu dilakukan evaluasi terhadap kedua prostanoid ini. Dalam sebuah penelitian, rasio kadar tromboksan dan prostasiklin dikatakan mewakili tonus vaskular.⁴⁰

Pada penelitian ini tromboksan dan prostasiklin diukur dari metabolitnya dalam urin yaitu 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}. Wanita pramenopause memiliki risiko penyakit kardiovaskular yang rendah dibandingkan wanita pascamenopause.³⁷ Sesuai dengan pernyataan tersebut, dalam penelitian ini didapatkan bahwa rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal (sebelum minum aspirin 100 mg) pada wanita pascamenopause lebih tinggi secara bermakna dibandingkan pada wanita pramenopause. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jendryczko dan Tomala yang mengatakan bahwa terjadi ketidakseimbangan ekskresi metabolit tromboksan dan prostasiklin dalam urin wanita pascamenopause.⁴

Setelah diberikan aspirin 100 mg selama 7 hari, maka terjadi penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada kedua kelompok. Penurunan rasio 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} berbeda bermakna antara kelompok wanita pramenopause dan pascamenopause (0,17 vs. 1,91; p = 0,022).

Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pramenopause (1,13) tidak berbeda bermakna (p = 0,08) dengan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir pada wanita

pascamenopause (2,18). Hal ini dapat diasosiasikan bahwa wanita pascamenopause yang minum aspirin 100 mg memiliki faktor proteksi terhadap aterogenesis dan gangguan vaskular yang sama dengan wanita pramenopause yang tidak mengkonsumsi aspirin 100 mg.

5.4. PENURUNAN TROMBOKSAN LEBIH BESAR DIBANDINGKAN PENURUNAN PROSTASIKLIN PADA PEMBERIAN ASPIRIN DOSIS RENDAH

Persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksen- B_2 akibat pemberian aspirin 100 mg lebih besar dibandingkan penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ pada subyek yang sama pada wanita pramenopause maupun pada wanita pascamenopause. Adapun kedua prostanoid ini memiliki jalur yang sama, yaitu jalur siklooksigenase dan dihambat oleh aspirin dengan cara yang sama. Ada beberapa hal yang dapat digunakan untuk menjelaskan fenomena ini, yaitu:

Pertama, aspirin dosis rendah sebagian besar bekerja pada trombosit di vena porta dan hanya sebagian kecil yang dapat lolos ke sirkulasi sistemik untuk bekerja pada sel endotel. Hal ini menyebabkan penurunan kadar tromboksen (yang dihasilkan oleh trombosit) akan lebih besar dibandingkan penurunan kadar prostasiklin (yang dihasilkan oleh endotel).²⁶

Kedua, karena banyaknya sel yang memproduksi prostasiklin lebih besar dibandingkan sel yang memproduksi tromboksen. Sel endotel terdapat dalam jumlah yang besar pada dinding pembuluh darah di seluruh tubuh, sehingga sedikit aspirin dosis rendah yang lolos ke sirkulasi sistemik tidak cukup untuk mempengaruhinya, tetapi dapat mempengaruhi sebagian besar trombosit di vena porta (yang jumlahnya jauh lebih sedikit dibandingkan endotel).⁴¹

Ketiga, *recovery* prostasiklin yang lebih cepat dibandingkan trombosit. Hal ini disebabkan karena aspirin memblok enzim siklooksigenase secara ireversibel. Karena trombosit tidak memiliki inti sel, maka ia tidak dapat mensintesis enzim siklooksigenase yang baru, sehingga trombosit tersebut tidak dapat membentuk tromboksen sepanjang usianya, sedangkan sel endotel mampu menghasilkan enzim siklooksigenase yang baru, sehingga prostasiklin dapat dihasilkan kembali.⁴²

5.5. RINGKASAN

Hasil penelitian ini yang mengukur metabolit prostasiklin dalam urin dan penelitian terdahulu yang mengukur metabolit tromboksan dalam sampel urin yang sama dari subyek penelitian yang sama, yakni wanita pramenopause dan pascamenopause sehat yang diberi aspirin 100 mg selama 7 hari dapat diringkaskan sebagai berikut:

- Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pramenopause lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan wanita pascamenopause (150,98 ng/ g kreatinin vs. 79,90 ng/ g kreatinin, $p = 0,002$)
- Pemberian aspirin 100 mg sehari selama 7 hari menurunkan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} secara bermakna baik pada wanita pramenopause (selisih = 78,44 ng/ g kreatinin, $p = 0,001$), maupun pada wanita pascamenopause (selisih = 35,71 ng/ g kreatinin, $p < 0,001$)
- Penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} tidak berbeda bermakna antara wanita pramenopause dan wanita pascamenopause (46,26 ng/ g kreatinin vs. 40,94 ng/ g kreatinin, $p = 0,574$)
- Rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pascamenopause lebih tinggi secara bermakna dibandingkan dengan wanita pramenopause (4,09 vs. 1,13, $p = 0,001$)
- Pemberian aspirin 100 mg sehari selama 7 hari menurunkan rasio kadar tersebut secara bermakna pada wanita pascamenopause (selisih = 4,09, $p = 0,012$), namun tidak bermakna pada wanita pramenopause (selisih = 0,17, $p = 0,574$).
- Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause lebih besar secara bermakna dibandingkan wanita pramenopause (1,91 vs. 0,17, $p = 0,022$)
- Dengan demikian, rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir pada wanita pascamenopause tidak berbeda dengan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pramenopause (1,57 vs. 1,04, $p = 0,08$)

- Persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan- B_2 dibandingkan dengan persentase penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ pada wanita pramenopause lebih besar secara bermakna (61,13% vs. 46,26%, $p = 0,049$) sedangkan pada wanita pascamenopause jauh lebih besar dan sangat bermakna (73,32% vs. 40,94%, $p < 0,001$).



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai kadar 2,3 dinor 6 keto PGF 1α dalam urin wanita pramenopause dan pascamenopause alami yang minum aspirin 100 mg, dapat disimpulkan bahwa:

1. Persentase penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF 1α tidak berbeda antara wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.
2. Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B $_2$ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF 1α lebih besar secara bermakna pada wanita pascamenopause dibandingkan pada wanita pramenopause

6.2. SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hasil penelitian pendahuluan ini dengan jumlah sampel yang lebih besar yaitu 104 orang tiap kelompok. Perhitungan sampel dapat dilihat pada Lampiran 7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rosenfield LE. Women and heart disease. In: Zaret BL, Moser M, Cohen LS, Morrow W, editors. Yale University School of Medicine Heart Book. Connecticut: Reed Business Information; 1992. p. 237- 43.
2. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97:1837-47
3. Hermenegildo C, Oviedo PJ, Martinez MCG, Perez MAG, Tarin JJ, Cano A. Progestogens stimulate prostacyclin production by human endothelial cells. *Human Reproduction*. 2005;20(6):1554-61.
4. Jendryczko A, Tomala J. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in women after the menopause. *Zentralbl Gynakol*.1993; 115(4): 163-66
5. Bailey JM, Muza B, Hla T, and Salata K. Restoration of prostacyclin synthase in vascular smooth muscle cells after aspirin treatment: regulation by epidermal growth factor. *J lipid res*.1985; 26 (1): 54-61.
6. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*.2002; 324: 71-86
7. Ridker PM, Cook NR, Lee IM, Gordon D, Gaziano JM, Manson JE, et al. A randomized trial of low-dose aspirin in the primary prevention of cardiovascular disease in women. *New Engl J Med*.2005; 352 (13): 1293-304
8. 2,3-dinor-6-keto prostaglandin F_{1α} EIA kit. Michigan: Cayman chemical; 2008. Available from: <http://www.caymanchem.com/pdfs/515121.pdf>
9. Zureick S, Nadler J, Yamamoto J, Horton R. Simultaneous measurement of two major prostacyclin metabolites in urine. *Clinchem*.1990;36(11): 1978-80.

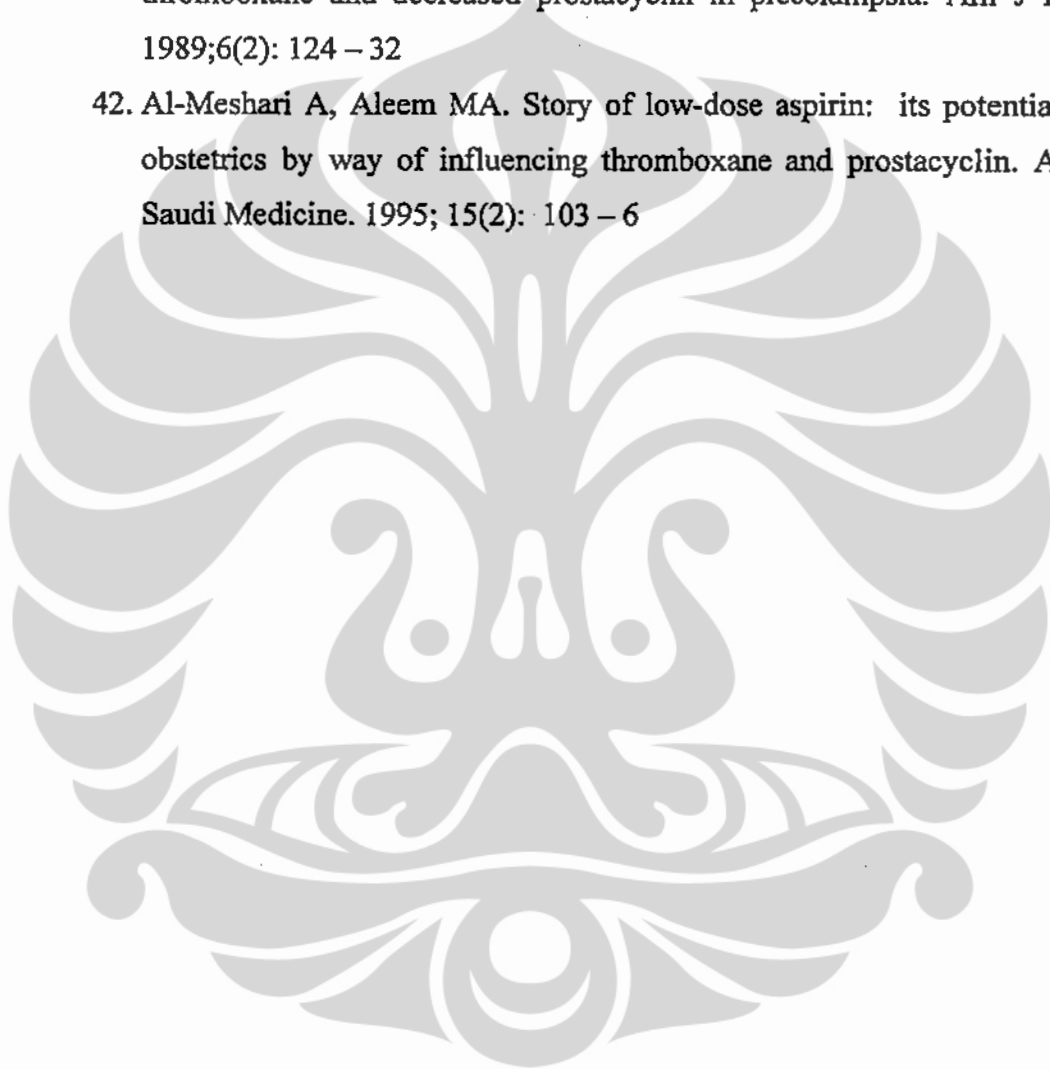
10. Wong PYK, Malik KU, Desiderio DM, McGift J, Sun FF. Hepatic metabolism of prostacyclin (PGI₂) in the rabbit. *Biochem Biophys Commun.* 1980;93:486-94.
11. Heron M. Deaths: leading causes for 2004. *National Vital Statistics Reports.* 2007; 56(5).
12. Davidson PM, Daly J, Hancock K, Jackson D. Australian women and heart disease: trends, epidemiological perspectives and the need for a culturally competent research agenda. *Contemporary nurse.* 2004; 16(2)
13. Chilton RJ. Pathophysiology of coronary heart disease: a brief review. *The Journal of the American Osteopathic Association.* 2004; 104(9): 5 – 8
14. Cardiovascular Disease Statistics. American Heart Association. 2009. Available from: <http://www.americanheart.org/presenter.jhtml?identifier=4478>
15. Matthews KS, Meilahn E, Kuller LH, Kelsey SF, Caggiula AW, Wing RR. Menopause and risk factors for coronary heart disease. *New Engl J Med.* 1989; 321: 641 – 6
16. Wiknjosastro H, Saifuddin AB, Rachimhadhi T. Ilmu kandungan. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. 1999: 96 – 101
17. Writing group for the women's health initiatives investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principle result from the women's health initiatives randomized controlled trial. *J Am Med Ass.* 2002;288(3):321-333
18. Humphries KH, Gill S. Risks and benefits of hormone replacement therapy: The evidence speaks. *Can Med J.* 2003; 168 (8)
19. Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet.* 2003;362(9392):419-27
20. Beral V. Endometrial cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet.* 2005; 365(9470):1543-51
21. Matthews KA, Kuller LH, Sutton TK, Chang YF, Tjetjen GE, Brey RL. Changes in cardiovascular risk factors during the perimenopause and

Universitas Indonesia

- postmenopause ang carotid artery atherosclerosis in healthy women. *Stroke*. 1002; 32(5): 1104 – 11
22. Kallikazaros I, Tsioufis C, Zambaras P, Skiadas I, Toutouza M, Tousoulis D, et al. Estrogen induced improvement in coronary flow responses during atrial pacing in relation to endothelin-1 levels in postmenopausal women without coronary disease. *Vasc. Health Risk Manag*. 2008;4(3): 705 – 14
23. Mosca L, Banka CL, Benjamin EJ, Berra K, Bushnell C, Dolor RJ, et al. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women: 2007 update. *Circulation*. 2007; 115:1481 – 501
24. Bellis M. History of Aspirin. Inventors: 1997. Available from: <http://inventors.about.com/library/inventors/blaspirin.htm>
25. Burke A, Smyth E, Fitzgerald GA. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents; pharmacotherapy of gout. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. New York: McGraw-Hill, 2006; 671-712, 1482
26. Pedersen AK, Fitzgerald GA. Dose-related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *New Engl J Med*. 1984; 311: 1206 – 11
27. Cox D, Maree AO, Dooley M, Conroy R, Byrne MF, Fitzgerald DJ. Effect of Enteric Coating on Antiplatelet Activity of Low-Dose Aspirin in Healthy Volunteers. *Stroke*. 2006; 37: 2153 – 8
28. Berger JS, Roncaglioni MC, Avanzini F, pangrazzi I, Tognoni G, Brown DL. Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events in women and men. *J Am Med Ass*. 2006; 295(3): 306-13
29. Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, Dahlof B, Almfeldt D, Julius S, et al. Effects of intensive blood-pressure lowering and low-dose aspirin in patients with hypertension: principal results of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomised trial. *Lancet*. 1998; 351: 1755-62.
30. Rosser WW. Aspirin for primary prevention of cardiovascular events. *Lancet*. 2001; 357: 84 – 5.

31. Hartanto MD. Kadar 11-dehidro tromboksan B₂ dalam urin wanita pascamenopause alami dan pramenopause sehat yang minum aspirin 100 mg. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2008.
32. Patrignani P, Filabozzi P, Patrono C. Selective Cumulative Inhibition of Platelet Thromboxane Production by Low-dose Aspirin in Healthy Subjects. *J Clin Invest.* 1982; 69(6): 1366-72
33. Fischer S, Bernutz C, Meier H, Weber PC. Formation of prostacyclin and thromboxane in man as measured by the main urinary metabolites. *PubMed.* 1986; 876(2): 194-9.
34. Farker K, Schweer H, Vollandt R, Massr N, Nagel U, Seyberth HW, et al. Measurements of urinary prostaglandins in young ovulatory women during the menstrual cycle and in postmenopausal women. *Science Direct.* 1997; 54(3): 655-64.
35. Sellers M, Xu F, Stallone. Selective estrogen receptor agonists enhance blood pressure, thromboxane and prostacyclin in aortic coarctation-induced hypertensive female rats. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal.* 2008; 22: 14
36. Egan KM, Lawson JA, Fries S, Koller B, Rader DJ, Smyth EM, et al. COX-2 derived prostacyclin confers atheroprotection on female mice. *The American Association for the Advancement of Science.* 2004; 306 (5703): 1954-7.
37. Calkin AC, Sudhir K, Honisett S, Williams MRI, Dawood T, Komesaroff PA. Rapid potentiation of endothelium-dependent vasodilation by estradiol in postmenopausal women is mediated via cyclooxygenase 2. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2002; 87(11): 5072 – 5
38. Ottem EN, Zuloaga DG, Breedlove SM. Brain gender: prostaglandins have their say. *Nature neuroscience.* 2004; 7: 570 – 2
39. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Qilong Y, Yusuf S. Aspirin resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation.* 2002: 1650 – 5

40. Kataoka M, Nagaya N, Satoh T, Itoh T, Murakami S, Iwase T, et al. A long-acting prostacyclin agonist with thromboxane inhibitory activity for pulmonary hypertension. *Am J Res Crit Care Med.* 2005; 172: 1575 – 80.
41. Walsh SW. Low-dose aspirin: treatment for the imbalance of increased thromboxane and decreased prostacyclin in preeclampsia. *Am J Perinatol.* 1989;6(2): 124 – 32
42. Al-Meshari A, Aleem MA. Story of low-dose aspirin: its potential use in obstetrics by way of influencing thromboxane and prostacyclin. *Annals of Saudi Medicine.* 1995; 15(2): 103 – 6



**Lampiran 1: Surat keterangan lolos kaji etik panitia tetap penilai etik
penelitian FKUI**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Salemba Raya No. 6 Jakarta Pusat
Pos Box 1358 Jakarta 10430
Kontes Salemba Telp. 31930371, 31930373, 3922977, 3927360, 3912477, 3153236, Fax. : 31930372, 3157288, e-mail : office@fkl.ui.ac.id

NOMOR : 569 /PT02.FK/ETIK/2008

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL -- CLEARANCE

Panitia Tetap Penilai Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:
The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:

"KADAR 11-DEHIDRO TROMBOKSAN B2 DAN 2.3-DINOR 6-KETO PROSTAGLANDIN F1 ALPHA DALAM URIN WANITA PRE-MENOPAUSE DAN PASCA-MENOPAUSE ALAMI YANG MEMINUM ASPIRIN 100 MG".

Peneliti Utama : MARCIA DEWI HARTANTO,Apt
Name of the principal investigator dr.ZITA ARIESELLA

Nama Institusi : FARMAKOLOGI FKUI

dan telah menyetujui protocol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

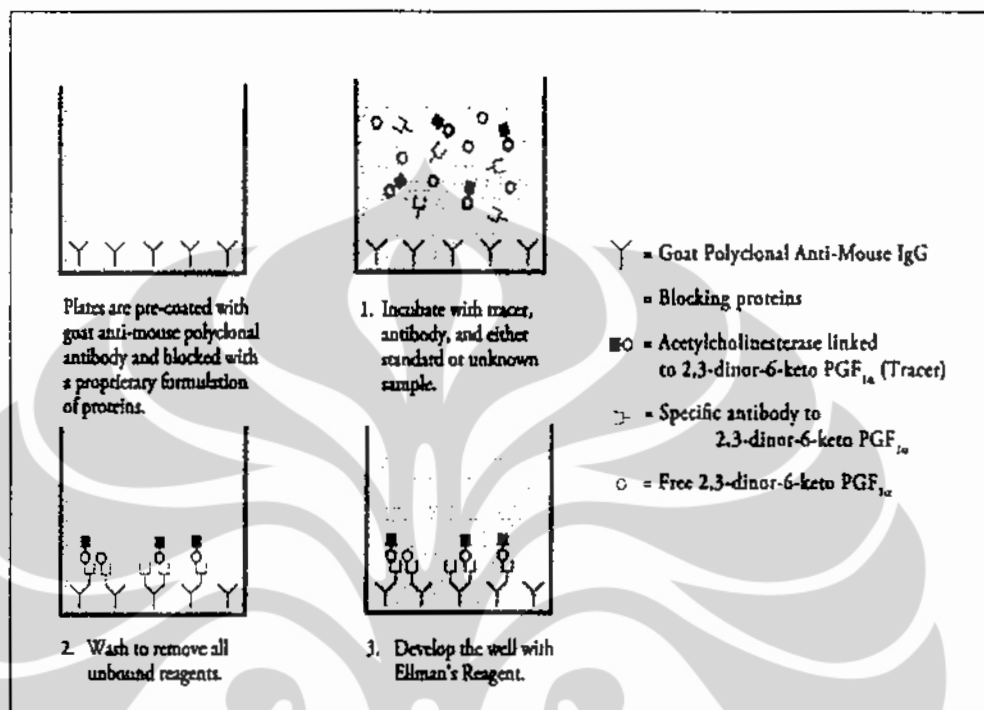
Jakarta, 3 November 2008

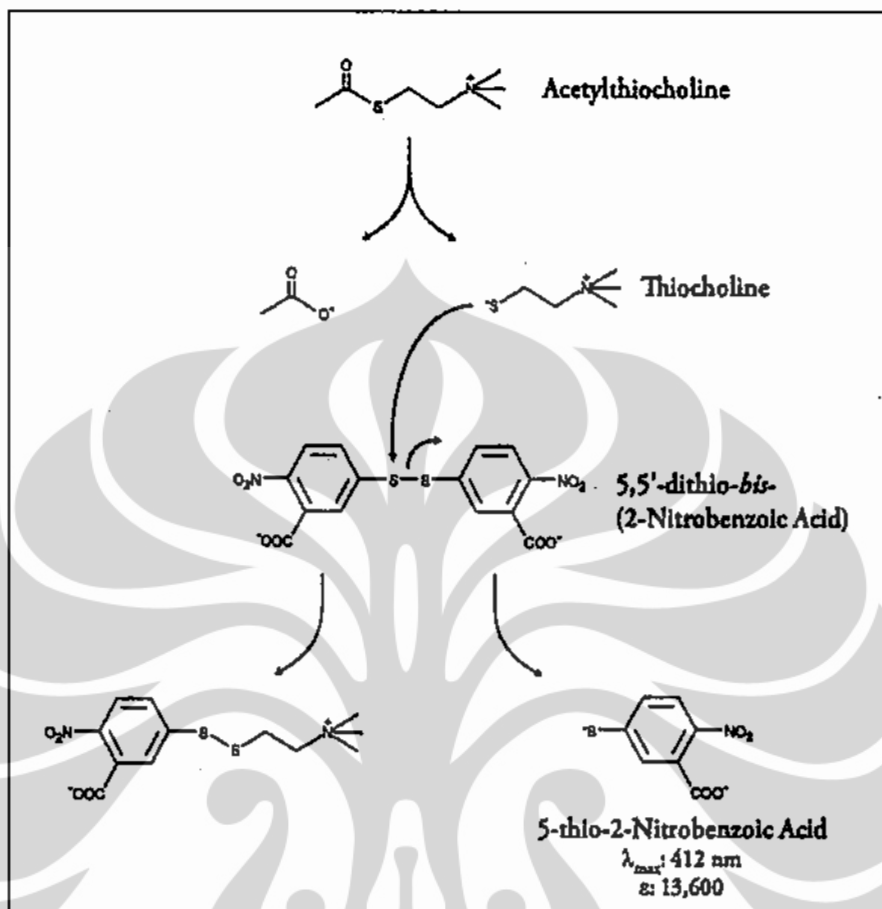
Chairman
Ketua

Prof. Dr. dr. Agus Firmansyah, SpA(K)

-Peneliti wajib menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian.

Lampiran 2: Skema dan biokimia ACE™ Competitive Enzyme Immunoassay





Lampiran 3: Case Report Form

**“ Kadar 11-Dehidro-tromboksen B₂ dan 2,3-Dinor-6-keto Prostaglandin F_{1α}
dalam Urin Wanita Pascamenopause alami dan Wanita Pramenopause
yang Minum Aspirin 100 mg “**

CASE REPORT FORM

Name of Investigator : Marcia Dewi Hartanto
Zita Arieselia

Name of Study Center : Departement of Pharmacology and Therapeutic,
Faculty of Medicine, University of Indonesia

Country : Indonesia (Jakarta)

Confidentiality Statement : The information contained in this CRF is the property of the investigator, and therefore provided to you in confidence as an investigator, potential investigator or consultant, for review by you in confidence. It is understood that the information in this CRF will not be disclosed to others without written authorization from investigators except to the extent necessary to obtain informed consent fro those persons to whom the investigational product may be administered.

INSTRUCTIONS FOR CRF COMPLETION

GENERAL INFORMATION

- The CRF pages are printed on A4 paper
- Please do not add anything to the copy pages
- All entries to paper CRF's must be made clearly in blue-point pen
- Ensure all entries are legible and In English
- Please note that the little numbers (codes) on the left side of the check boxes are only relevant for Data Management procedures
- Fill in all questions, do not leave any blank where data are expected.

PREMATURE DISCONTINUATION

- If an entire visit is not performed because the patient discontinues prematurely, the Study completion page must be completed.

HEADER BOX

Center ID/Patient No.

- Each patient receives a unique ID number based on the center and patient numbers. The first part represents the center number; the last part indicates the order of patient entry into the study.
- Once assigned, the patient number cannot be reissued to another patient
- Correct identification of the patient is crucial and the header box must be completed on each CRF page.

Patient's Initials

- Enter the patient's initials on every page using the first letter of the first name and family name (e.g. Marcia Dewi Hartanto = MDH)

Date

- Using the following date format (e.g. 130908) :
Day (2 digits): 01-31; Month (2 digits): 01-12; Year (2 digits): 08-09

MISSING DATA

- Enter one of the following, if data are not available:
UNK = Unknown
NA = Not Applicable
ND = Not Done (if a required evaluation is ND, an explanation must be recorded in the comments section)

PROCEDURE FOR CORRECTING CRF DATA

- Corrections are made by placing a single horizontal line through the incorrect entry, so that is still legible (e.g. ~~mistake~~), and placing the revised entry beside it.
- The revised entry must be Initialed and dated by a member of the investigator's staff authorised to make CRF entries.
- Correction fluid must not be used.

INFORMASI YANG DIBERIKAN KEPADA CALON SUBYEK PENELITIAN

PENELITIAN KADAR 11-DEHIDRO-TROMBOKSAN B₂ DAN 2,3-DINOR-6-KETO PROSTAGLANDIN F1 α DALAM URIN WANITA PRAMENOPAUSE DAN PASCAMENOPAUSE YANG MEMINUM ASPIRIN 100 MG

Kami, tim peneliti dari Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI ingin menilai bagaimana kerja aspirin dalam menghambat secara efektif pengentalan darah pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause. Penelitian ini mengikutsertakan 30 wanita yang terdiri dari 15 wanita pramenopause dan 15 wanita pascamenopause dan obat uji yang akan digunakan adalah obat pengencer darah (antiplatelet) yang telah lama dipasarkan di Indonesia dan seluruh dunia, yaitu aspirin.

Aspirin adalah obat yang berfungsi mencegah penempelan (adhesi) dan pengentalan darah (agregasi trombosit). Pada pembuluh darah yang sehat trombosit yang bersirkulasi tidak akan menempel (adhesi) dengan pembuluh darah. Usia yang semakin meningkat pada wanita pascamenopause diduga dapat meningkatkan perlekatan darah satu sama lain.

Pada penelitian ini, setiap sukarelawan akan mendapat 1 tablet aspirin dosis rendah (100 mg) setiap hari selama 7 hari berturut-turut yang diminum dengan segelas air putih. Sukarelawan diminta mengumpulkan air kencingnya pada hari pertama sebelum aspirin diberikan dan pada hari terakhir selama 24 jam setelah pemberian aspirin terakhir.

Jika Anda berminat ikut serta dalam penelitian ini, persyaratan berikut harus dipenuhi:

1. Bersedia menandatangani Surat Persetujuan Partisipasi Dalam Penelitian secara sukarela setelah mendapat penjelasan mengenai penelitian ini.
2. Wanita pramenopause dan pascamenopause sehat berdasarkan pemeriksaan fisik dan laboratorium (darah dan air kencing)
3. Bersedia menjalani kondisi berikut:
 - a. Puasa pada malam sebelum pengambilan air kencing hari pertama, minimal sepuluh jam.
 - b. Tidak makan aspirin 2 minggu sebelum penelitian
 - c. Tidak makan obat antiinflamasi nonsteroid 3 hari sebelum penelitian
 - d. Tidak menggunakan kontrasepsi oral / terapi hormonal / terapi hormon bentuk depo.
 - e. Tidak terlibat uji klinik dalam 3 bulan terakhir
 - f. Tidak ketergantungan obat atau alkohol
 - g. Tidak sedang hamil atau menyusui.

Jika Anda telah menandatangani Surat Persetujuan untuk ikut dalam penelitian ini, Anda akan diperiksa kesehatannya oleh seorang dokter, serta contoh darah dan air seni Anda akan diambil untuk diperiksa ke laboratorium klinik. Jika Anda memenuhi persyaratan sehat untuk penelitian ini dan bersedia untuk menjalani kondisi-kondisi tersebut diatas, maka Anda akan diikutsertakan dalam penelitian ini.

Pada pertemuan pertama, Anda akan diminta datang ke tempat penelitian pada pukul 7.30 pagi setelah berpuasa dahulu sejak pk. 21.00, malam sebelumnya (tidak boleh makan apapun kecuali minum air putih). Di tempat penelitian Anda diminta duduk dengan nyaman. Setelah itu, Anda diminta untuk mengumpulkan air kencing Anda pada pot plastik

yang diberikan, sebelum obat diberikan. Anda juga akan diambil darah 1 kali untuk pemeriksaan laboratorium.

Apabila Anda memenuhi syarat untuk ikut serta dalam penelitian ini, maka Anda diminta untuk mengumpulkan urin selama 24 jam pada hari yang telah ditentukan oleh peneliti. Urin dikumpulkan pada wadah yang telah diberikan. Setiap kali urin dikumpulkan, urin harus langsung disimpan dalam box pendingin yang telah diberikan.

Pada pertemuan kedua, Anda diminta datang ke tempat penelitian dengan menyerahkan urin 24 jam (Hari pertama). Sebelum pulang, Anda akan mendapat tablet aspirin untuk diminum keesokan harinya 1 tablet sekali 1 hari setelah makan pagi selama 7 hari berturut-turut.

Pada hari ketujuh pk. 07.00, Anda diminta untuk mulai mengumpulkan urin dalam wadah yang telah diberikan, dan setiap kali urin dimasukkan ke dalam wadah harus langsung dimasukkan ke dalam box pendingin. Urin dikumpulkan selama 24 jam, hingga pk. 07.00 hari kelima belas.

Pada hari kedelapan Anda kembali diminta datang ke tempat penelitian pada pukul 07.30. Anda diminta untuk menyerahkan air kencing 24 jam Anda dan diperiksa tekanan darahnya.

Hal-hal yang tidak diinginkan yang dapat terjadi akibat minum obat penelitian adalah gangguan lambung berupa nyeri lambung, mual dan muntah namun biasanya ringan dan dapat diatasi dengan pemberian obat maag. Semua sukarelawan berada dalam pengawasan seorang dokter selama periode pengambilan air kencing. Bagi sukarelawan yang mengalami gejala gangguan lambung berat, dan pendarahan saluran cerna yang diakibatkan oleh aspirin dan dengan demikian tidak meminum aspirin selama 72 jam terakhir, dinyatakan sebagai putus studi dan air kencingnya tidak akan diperiksa. Kami akan membantu mengobati efek samping yang timbul akibat penelitian ini.

Tidak ada manfaat langsung yang akan Anda peroleh dalam penelitian ini selain pemeriksaan kesehatan gratis, tetapi informasi ilmiah yang didapat nantinya akan bermanfaat banyak pada wanita pramenopause dan pascamenopause yang memiliki risiko terhadap penyakit jantung. Anda bebas menolak untuk ikut dalam penelitian ini, dan jika Anda sudah menyatakan bersedia ikut, Anda juga bebas untuk mengundurkan diri dari penelitian ini setiap saat yang Anda inginkan. Sebaliknya jika Anda tidak mematuhi instruksi yang diberikan oleh peneliti, Anda dapat juga dikeluarkan dari penelitian ini setiap saat.

Peneliti akan merahasiakan semua data identitas Anda. Data identitas Anda hanya akan dibuka jika diminta oleh pihak berwenang seperti Badan Pengawas Obat dan Makanan, Depkes RI, dan Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian FKUI. Anda akan menerima uang transport sebesar Rp. 300.000,- untuk partisipasi Anda dalam penelitian ini.

Jika ada hal-hal yang tidak diinginkan atau Anda memerlukan penjelasan lebih lanjut, Anda dapat menghubungi peneliti:

Marcia Dewi Hartanto, S.Farm., Apt. - HP 08179815056 / 5689148

Dr. Zita Arieselia – HP 08161146994 / 92902130

Departemen Farmakologi & Terapeutik FKUI, telp. 31930481 atau 3149632,.

Formulir Persetujuan Partisipasi Dalam Penelitian

Semua penjelasan di atas telah disampaikan kepada saya dan semua pertanyaan saya telah dijawab peneliti. Saya juga telah diberi waktu yang cukup (lebih dari 24 jam) untuk membaca "Informasi yang diberikan kepada calon subyek penelitian" dan telah memahami semua informasi penelitian ini.

Dengan menandatangani formulir ini, saya menyatakan secara sukarela setuju untuk berpartisipasi dalam penelitian ini. Saya bersedia untuk mematuhi segala aturan penelitian ini. Saya juga berhak untuk mengundurkan diri dari penelitian ini setiap saat tanpa dikenakan denda atau ganti rugi.

Tanda tangan sukarelawan:

Tanggal:



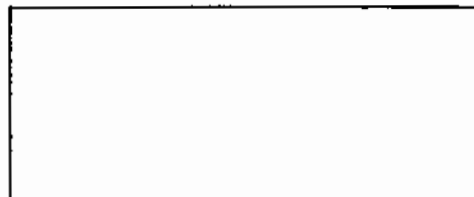
Nama lengkap :

Alamat :

Telp/HP :

Peta alamat :

Tanda tangan saksi :



Nama :

VISIT I - SCREENING

Date of visit : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

Date of informed consent : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

SUBJECT DEMOGRAPHIC

Date of birth : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

Age : ____ yrs. ____ mo.

Race : Javanese Sundanese Chinese

Others (specify) _____

Height : ____ m

Weight : ____ kg

BMI (weight/height²) : ____ kg/m²

Significant medical history

Name of disease	Date of last onset	Treatment

Investigator's signature : _____ ; Date : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

History of hypersensitivity : Yes No

Specify the allergen : _____

Current concomitant medication

Name of drug	Daily dosage	Indication

Menopause : Yes No

Date of menopause : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)
 Natural Hysterectomy Others (specify) _____

Using HRT : Yes No

Using IUD : Yes No

Using oral contraception / estrogen / combined estrogen-progesteron therapy:

Yes No

Using injectible or implant contraception:

Yes No

Using transdermal contraception :

Yes No

Smoking : Yes No Stop, since : ____ yrs. ago

Alcoholism : Yes No Stop, since : ____ yrs. ago

Drug abuse : Yes No Stop, since : ____ yrs. ago

Investigator's signature : _____ ; Date : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

CLINICAL DATA

Physical examination :

Date of physical examination : ___ / ___ / ___ (dd/mm/yy)

Heart rate : ___ x/min.

Respiratory rate : ___ x/min.

Body temperature : ___ °C

Blood pressure : ___ / ___ mmHg

Head and neck : _____

Thorax : _____

Abdomen : _____

Extremities : _____

Investigator's signature : _____ ; Date : ___ / ___ / ___ (dd/mm/yy)

Laboratory findings:

Date of sample taken : ___ / ___ / ___ (dd/mm/yy)

Date of results obtained : ___ / ___ / ___ (dd/mm/yy)

Laboratory tests : normal
 abnormal (specify below)
 not done

Examination	Result	Unit
Liver Function Tests :		
SGOT		U/L
SGPT		U/L
Lipid Profile :		
Cholesterol Total		mg/dL
Cholesterol LDL		mg/dL
Cholesterol HDL		mg/dL
Triglyceride		mg/dL
Kidney Function Tests :		
Urea N		mg/dL
Ureum		mg/dL
Creatinine		mg/dL
Hematology :		
Hemoglobin		g/dL
Thrombocyte		10 ³ /μL

Investigator's signature : _____ ; Date : ___ / ___ / ___ (dd/mm/yy)

Inclusion criteria:

- | | Yes | No | |
|----|--------------------------|--------------------------|--|
| 1. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Healthy postmenopausal women or premenopausal (age ≥ 40 year) |
| 2. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | LDL < 160 mg/dL |
| 3. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Blood Pressure < 140/90 mm Hg |
| 4. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Agrees to participate in this study |

Exclusion criteria:

- | | Yes | No | |
|-----|--------------------------|--------------------------|--|
| 1. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Ingestion of aspirin within 2 weeks before study |
| 2. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Ingestion of a nonsteroidal antiinflammatory drug within 2 weeks before the study |
| 3. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | History of bleeding disorders, gastrointestinal bleeding, hemorrhagic stroke, or allergy to aspirin. |
| 4. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Ingestion of oral contraception / estrogen / combined estrogen-progesteron therapy. |
| 5. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Use of injectable or implant contraception |
| 6. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Ingestion of hormone replacement therapy (HRT). |
| 7. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Use of transdermal HRT |
| 8. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Involve in other clinical study during the last three months. |
| 9. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Drug or alcohol dependent history |
| 10. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Diabetes Mellitus type I or II |
| 11. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Thrombocytopenia (platelet count < 150000/ μ L) |
| 12. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Anemia (Woman, Hb < 10.0 g/dL) |
| 13. | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | Renal or liver impaired (Serum creatinine >1,4 mg/dL and/or serum transaminase > 1,5x ULN) |

Eligibility

Is this subject eligible for the study?

- Yes No, continue to resume (CRF page 16)

Investigator's signature : _____ ; Date : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

VISIT III – FOLLOW UP 2

Date of Visit : [] [] - [] [] - [] [] (dd/mm/yy)

Baseline of 11-dehydro Thromboxane B₂ and 2,3-Dinor-6 Keto PGF_{1α} from 24 hours urine

Date of 1st intake : [] [] - [] [] - [] [] (dd/mm/yy)

Date of 7th intake : [] [] - [] [] - [] [] (dd/mm/yy)

Was urine sample taken?

Yes No, specify the reason _____

Was urine collected 24 hours ?

Yes No, specify the reason _____

Starting time of urine collection: [] [] : [] [] until [] [] : [] []
24-hr clock 24-hr dock

Date of sample taken: [] [] - [] [] - [] [] (dd/mm/yy)

Date of sample taken: [] [] - [] [] - [] [] (dd/mm/yy)

Concentrations of :

11-Dehydro Thromboxane B₂ = _____

2,3-Dinor-6 Keto PGF_{1α} = _____

Study Drug

No. of drug returned : _____ tabs

Investigator's signature : _____ ; Date : ____ / ____ / ____ (dd/mm/yy)

ADVERSE EVENT AND CONCOMITANT MEDICATION

Any adverse events

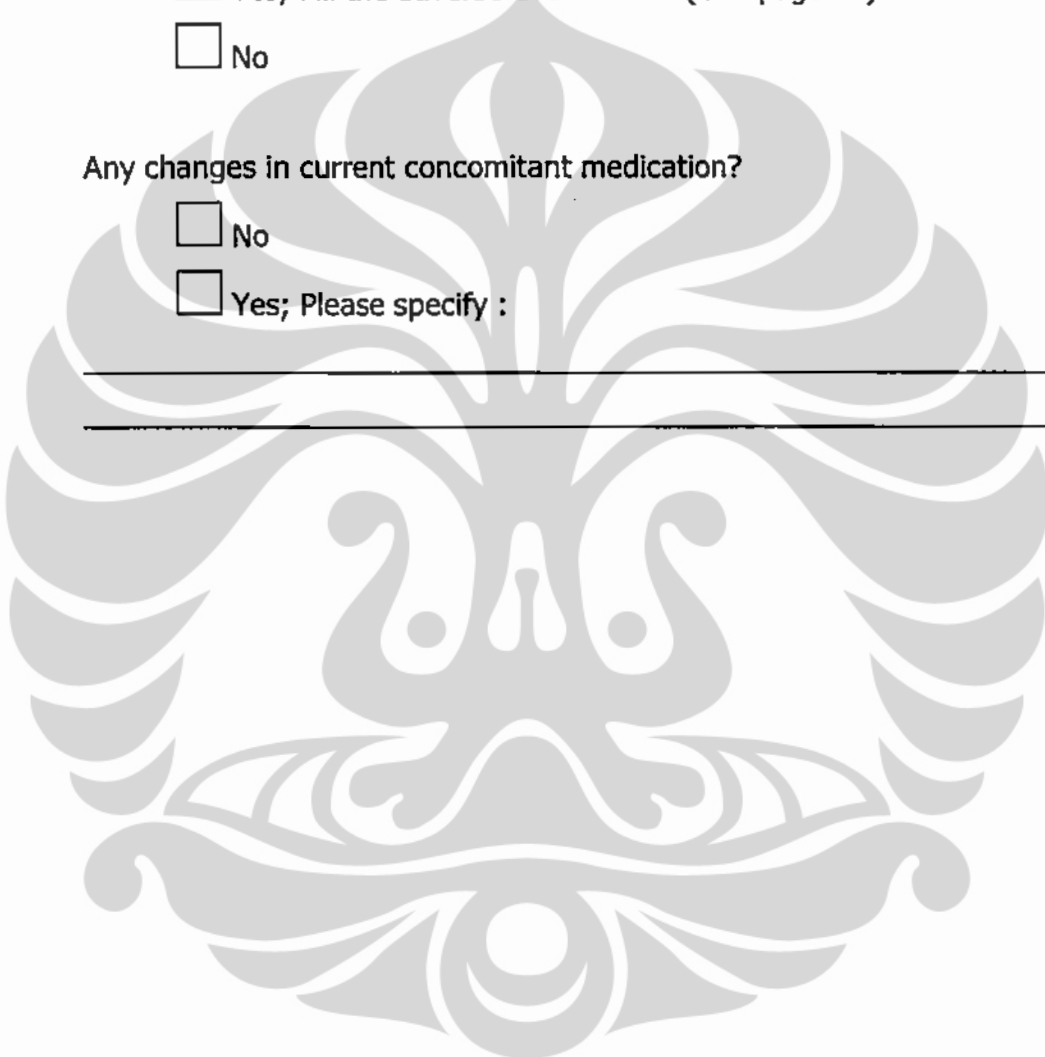
Yes; Fill the adverse events form (CRF page 14)

No

Any changes in current concomitant medication?

No

Yes; Please specify :



ADVERSE EVENTS			
Record all adverse events since the last dose, and whether or not considered drug related. Specify diagnosis, not individual symptoms.			
<input type="checkbox"/> No Adverse Event			
Adverse Event			
Date of onset	___ / ___ / ___	___ / ___ / ___	___ / ___ / ___
Date resolved or ongoing	___ / ___ / ___ <input type="checkbox"/> Ongoing	___ / ___ / ___ <input type="checkbox"/> Ongoing	___ / ___ / ___ <input type="checkbox"/> Ongoing
Pattern of Events (check all that apply)	<input type="checkbox"/> C - Constant <input type="checkbox"/> I - Intermittent <input type="checkbox"/> A- Immediately after dosing	<input type="checkbox"/> C - Constant <input type="checkbox"/> I - Intermittent <input type="checkbox"/> A- Immediately after dosing	<input type="checkbox"/> C - Constant <input type="checkbox"/> I - Intermittent <input type="checkbox"/> A- Immediately after dosing
Severity	<input type="checkbox"/> 1 - Mild <input type="checkbox"/> 2 - Moderate <input type="checkbox"/> 3 - Severe <input type="checkbox"/> 4 - Life-threatening*	<input type="checkbox"/> 1 - Mild <input type="checkbox"/> 2 - Moderate <input type="checkbox"/> 3 - Severe <input type="checkbox"/> 4 - Life-threatening*	<input type="checkbox"/> 1 - Mild <input type="checkbox"/> 2 - Moderate <input type="checkbox"/> 3 - Severe <input type="checkbox"/> 4 - Life-threatening*
Effect on Study Drug Dosing	<input type="checkbox"/> 0 - None <input type="checkbox"/> 1 - Reduced <input type="checkbox"/> 2 - Interrupted <input type="checkbox"/> 3 - Discontinued	<input type="checkbox"/> 0 - None <input type="checkbox"/> 1 - Reduced <input type="checkbox"/> 2 - Interrupted <input type="checkbox"/> 3 - Discontinued	<input type="checkbox"/> 0 - None <input type="checkbox"/> 1 - Reduced <input type="checkbox"/> 2 - Interrupted <input type="checkbox"/> 3 - Discontinued
Action / Outcome (check all that apply)	<input type="checkbox"/> 0 - None <input type="checkbox"/> 1 - Treatment given <input type="checkbox"/> 2 - Hospitalization* (New or Prolonged) <input type="checkbox"/> 3 - Disability (permanent)* <input type="checkbox"/> 4 - Death* <input type="checkbox"/> 5 - Additional Study Visit	<input type="checkbox"/> 0 - None <input type="checkbox"/> 1 - Treatment given <input type="checkbox"/> 2 - Hospitalization* (New or Prolonged) <input type="checkbox"/> 3 - Disability (permanent)* <input type="checkbox"/> 4 - Death* <input type="checkbox"/> 5 - Additional Study Visit	<input type="checkbox"/> 0 - None <input type="checkbox"/> 1 - Treatment given <input type="checkbox"/> 2 - Hospitalization* (New or Prolonged) <input type="checkbox"/> 3 - Disability (permanent)* <input type="checkbox"/> 4 - Death* <input type="checkbox"/> 5 - Additional Study Visit
Relationship to Study Drug	<input type="checkbox"/> 0 - Unlikely <input type="checkbox"/> 1 - Possible <input type="checkbox"/> 2 - Probable	<input type="checkbox"/> 0 - Unlikely <input type="checkbox"/> 1 - Possible <input type="checkbox"/> 2 - Probable	<input type="checkbox"/> 0 - Unlikely <input type="checkbox"/> 1 - Possible <input type="checkbox"/> 2 - Probable
Serious AE* Date Sponsor/CRC Notified	<input type="checkbox"/> Yes* <input type="checkbox"/> No ___ / ___ / ___ D M Y	<input type="checkbox"/> Yes* <input type="checkbox"/> No ___ / ___ / ___ D M Y	<input type="checkbox"/> Yes* <input type="checkbox"/> No ___ / ___ / ___ D M Y
Name of Person Notified	_____	_____	_____
* Sponsor must be notified within one working day			

RESUME

- Patient completed the study
- Patient was withdrawn:
 - At screen
 - During treatment

Reason for withdrawal

- Laboratorium abnormality, recorded on CRF page 9
- Adverse event, recorded on CRF page 14
- Serious adverse event, recorded on CRF page 14
- Lost to follow up (Patient could not be contacted by phone or any other means)
- Protocol violation, specify : _____
- Withdrew consent
- Did not meet eligibility criteria, specify : _____
- Others, specify : _____

Date of discontinuation : [] [] - [] [] - [] [] (dd/mm/yy)
or unknown

Comments/ Details:

I have reviewed and confirmed that all data pertaining to this subject are complete and accurate:

Responsible investigator's signature: _____ ; ____ / ____ / ____
(dd/mm/yy)

Lampiran 4: Karakteristik awal wanita pascamenopause

No	Inisial	Umur (tahun)	BB (kg)	TB (M)	BMI	Tekanan darah (mmHg)	Hb (g/dL)	Trombosit x 1000 (/mm ³)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Ureum (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	LDL (mg/dL)
1	ASS	44	61	1,55	25,4	130/80	13,5	355	21	18	15	0,6	127
2	BAT	43	57,5	1,58	23,0	100/70	12,4	350	16	8	17	0,7	132
3	DRS	41	58	1,60	22,7	130/70	13,2	342	27	43	17	0,7	103
4	ELI	46	47	1,55	19,6	120/80	11,2	300	22	19	13	0,7	118
5	EVL	40	60	1,52	25,9	120/70	12,0	331	14	7	15	0,6	82
6	FSJ	40	58	1,50	25,8	130/90	12,1	236	24	23	26	0,6	143
7	LVR	52	54	1,55	22,5	130/90	13,6	433	26	27	21	0,7	127
8	MRN	45	61	1,56	25,1	100/80	12,8	360	25	17	24	0,6	139
9	MYN	50	55	1,50	24,4	110/70	15,1	357	24	23	17	0,7	147
10	NNS	46	62	1,52	26,8	120/70	11,8	439	29	24	28	0,6	122
11	NMP	45	54	1,52	24,0	100/70	11,8	298	20	13	17	0,7	124
12	RTN	46	60	1,57	24,3	110/70	12,8	324	24	19	32	0,9	158
13	TRK	45	54	1,53	23,1	100/70	13,6	278	21	13	21	0,7	153
14	WWI	40	50	1,53	21,4	110/80	11,4	315	24	13	15	0,7	120
15	ZKH	41	60	1,49	27,0	110/70	13,9	375	18	12	17	0,9	156

Lampiran 5: Karakteristik awal wanita pascamenopause

No	Inisial	Umur (tahun)	Meno-pause (tahun)	BB (kg)	TB (M)	BMI	Tekanan darah (mmHg)	Hb (g/dL)	Trombosit x 1000 (/mm ³)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Ureum (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	LDL (mg/dL)
1	ELS	53	3,5	50	1,55	20,8	100/70	12,3	329	21	18	13	0,5	130
2	JNT	53	4	56	1,54	23,6	130/70	11,4	415	25	19	19	0,6	120
3	HVT	53	4	55	1,53	23,5	130/90	12,5	329	22	15	19	0,7	132
4	RNK	58	4,5	45	1,51	19,7	120/80	11,9	236	26	18	21	0,7	82
5	DSM	49	3,5	60	1,52	26,0	130/80	12,2	285	28	26	17	0,8	140
6	WNP	47	3	49	1,58	19,6	110/70	11,6	280	24	20	28	0,9	158
7	NNN	59	4,75	68	1,54	26,6	130/80	12,5	255	26	26	19	0,9	108
8	RDS	55	3	58,5	1,57	23,7	110/80	13,0	327	23	19	19	0,6	99
9	IGT	59	5	48	1,58	19,2	100/70	12,9	292	14	12	19	0,7	103
10	VJS	60	5	65	1,60	25,4	120/80	12,9	255	22	18	34	0,6	109
11	LNN	56	5	54	1,50	24,0	135/80	13,8	397	22	17	17	0,6	118
12	ANS	55	3	64	1,60	25,0	120/60	14,2	294	30	32	21	0,7	119
13	RDH	53	4	65	1,58	26,0	130/80	12,9	339	18	20	34	0,9	118
14	CVT	53	4	54	1,50	24,0	130/80	13,0	388	38	36	19	0,9	154
15	SHN	46	3	69	1,53	27,5	130/80	13,3	217	21	23	30	0,7	131

Lampiran 6 : Uji statistik

6.1. Uji t berpasangan untuk membandingkan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (ng/g kreatinin) wanita pramenopause sebelum dan sesudah pemberian ASA (*acetylsalicylic acid*)

Subyek No.	Sebelum minum ASA	Sesudah minum ASA	Selisih sebelum dan sesudah minum ASA	Selisih sebelum dan sesudah minum ASA (% sebelum)
1	128,183	20,180	108,003	84,257
2	240,982	185,122	55,860	23,180
3	94,282	77,015	17,267	18,314
4	164,949	89,662	75,286	45,642
5	223,723	35,034	188,689	84,341
6	97,409	68,480	28,929	29,698
7	78,225	60,049	18,176	23,235
8	85,992	73,373	12,619	14,674
9	83,699	37,811	45,888	54,825
10	159,018	73,628	85,389	53,698
11	310,890	84,695	226,195	72,757
12	139,545	44,205	95,340	68,322
13	151,938	120,248	31,690	20,857
14	101,427	84,401	17,026	16,786
15	204,400	34,133	170,267	83,301
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,093 (normal)	p = 0,2 (normal)	p = 0,097 (normal)
Mean	150,978	72,536	78,442	46,259
SD	68,302	40,847	68,306	27,010
t berpasangan	$= \text{mean}_{\text{diff}} / (\text{SD}_{\text{diff}} / \sqrt{n})$ $= 78,442 / (68,306 / \sqrt{15})$ $= 4,448$			
p	= 0,001 (2-tailed, df = 14)			
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(14)} \times \text{SE}$ $= 78,442 \pm 2,145 \times \text{SDd} / \sqrt{15}$ $= 78,442 \pm 2,145 \times 68,306 / 3,87$ $= 78,442 \pm 37,830$ $= 40,612 \rightarrow 116,272$			

6.2. Uji t berpasangan untuk membandingkan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (ng/g kreatinin) sebelum dan sesudah ASA pada wanita pascamenopause

Subyek No.	Sebelum minum ASA	Sesudah minum ASA	Selisih sebelum dan sesudah minum ASA	Selisih sebelum dan sesudah minum ASA (% sebelum)
1	27,666	19,728	7,939	28,694
2	63,167	51,247	11,920	18,870
3	88,896	45,605	43,291	48,698
4	78,810	66,628	12,182	15,458
5	35,823	35,727	0,096	0,269
6	146,919	105,647	41,272	28,092
7	23,517	10,645	12,872	54,736
8	109,669	12,963	96,706	88,180
9	61,830	12,490	49,340	79,800
10	68,660	36,865	31,795	46,308
11	44,494	32,485	12,009	26,990
12	86,278	61,681	24,597	28,509
13	158,669	62,318	96,351	60,725
14	120,721	52,165	68,556	56,789
15	83,352	56,707	26,645	31,967
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	79,898	44,193	35,705	40,939
SD	40,726	25,569	30,723	24,200
t berpasangan	$= \frac{\text{mean}_{\text{diff}}}{(\text{SD}_{\text{diff}}/\sqrt{n})}$ $= \frac{35,705}{(30,723/\sqrt{15})}$ $= 4,501$			
p	< 0,001 (2-tailed, df = 14)			
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(14)} \times \text{SE}$ $= 35,705 \pm 2,145 \times \text{SDd}/\sqrt{15}$ $= 35,705 \pm 2,145 \times 30,723/3,87$ $= 35,705 \pm 17,016$ $= 18,689 \rightarrow 52,721$			

6.3. Uji t tidak berpasangan untuk membandingkan kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (ng/g kreatinin) wanita pramenopause dan pascamenopause

Subyek No.	Wanita pramenopause (A)	Wanita pascamenopause (B)
1	128,183	27,666
2	240,982	63,167
3	94,282	88,896
4	164,949	78,810
5	223,723	35,823
6	97,409	146,919
7	78,225	23,517
8	85,992	109,669
9	83,699	61,830
10	159,018	68,660
11	310,890	44,494
12	139,545	86,278
13	151,938	158,669
14	101,427	120,721
15	204,400	83,352
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	150,978	79,898
SD	68,302	40,726
SE _{diff}	$= \sqrt{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]}$ $= \sqrt{[(68,302^2/15) + (40,726^2/15)]}$ $= 20,533$	
t	$= (\text{mean}_1 - \text{mean}_2) / \text{se}_{\text{diff}}$ $= (150,978 - 79,898) / 20,533$ $= 3,462$	
df	$= \frac{[(sd_1^2/n_1) + (sd_2^2/n_2)]^2}{\frac{[(sd_1^2/n_1)^2/(n_1-1)] + [(sd_2^2/n_2)^2/(n_2-1)]}{[(68,302^2/15) + (40,726^2/15)]^2}}$ $= \frac{[(68,302^2/15)^2/(15-1)] + [40,726^2/15)^2/(15-1)]}{22,838}$ $= 22,838$	
p	= 0,002 (2-tailed, df = 23)	
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(23)} \times \text{SE}_{\text{diff}}$ $= (150,978 - 79,898) \pm 2,069 \times 20,533$ $= 71,080 \pm 42,483$ $= 28,597 \rightarrow 113,563$	

6.4. Uji t tidak berpasangan untuk membandingkan penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (% sebelum) wanita pramenopause dan pascamenopause

Subyek No.	Wanita pramenopause (A)	Wanita pascamenopause (B)
1	84,257	28,694
2	23,180	18,870
3	18,314	48,698
4	45,642	15,458
5	84,341	0,269
6	29,698	28,092
7	23,235	54,736
8	14,674	88,180
9	54,825	79,800
10	53,698	46,308
11	72,757	26,990
12	68,322	28,509
13	20,857	60,725
14	16,786	56,789
15	83,301	31,967
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,097 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	46,259	40,939
SD	27,010	24,200
SE _{diff}	$= SD_p \times \sqrt{(1/n_1 + 1/n_2)}$ $= \sqrt{[(n_1-1)SD_1^2 + n_2-1.SD_2^2]/(n_1+n_2-2)} \times \sqrt{(1/n_1 + 1/n_2)}$ $= \sqrt{[(14 \times 27,01^2 + 14 \times 24,2^2)/(28)]} \times \sqrt{(1/15 + 1/15)}$ $= 25,644 \times 0,365$ $= 9,364$	
t	$= (\text{mean}_1 - \text{mean}_2)/SE_{\text{diff}}$ $= (46,259 - 40,939)/9,364$ $= 0,568$	
p	= 0,574 (2-tailed, df = 28)	
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(28)} \times SE_{\text{diff}}$ $= (46,259 - 40,939) \pm 2,048 \times 9,364$ $= 5,320 \pm 19,177$ $= -13,857 \rightarrow 24,497$	

6.5. Uji t berpasangan untuk membandingkan rasio kadar 11-dehidrotromboksen- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-PGF $_{1\alpha}$ sebelum dan sesudah minum ASA pada wanita pramenopause

Subyek No.	Sebelum minum ASA	Sesudah minum ASA	Selisih sebelum dan sesudah minum ASA
1	0,479	1,020	-0,540
2	1,409	0,506	0,903
3	0,617	0,436	0,181
4	0,796	0,827	-0,030
5	0,972	2,004	-1,032
6	1,471	0,688	0,783
7	2,021	1,203	0,819
8	1,519	0,975	0,544
9	1,265	0,904	0,362
10	1,058	1,104	-0,046
11	0,632	1,102	-0,470
12	0,747	0,435	0,312
13	1,996	0,689	1,306
14	0,979	0,377	0,602
15	0,973	2,116	-1,143
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,149 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	1,129	0,959	0,170
SD	0,477	0,521	0,716
t berpasangan	$= \text{mean}_{\text{diff}} / (\text{SD}_{\text{diff}} / \sqrt{n})$ $= 0,170 / (0,716 / \sqrt{15})$ $= 0,920$		
p	= 0,374 (2-tailed, df = 14)		
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(14)} \times \text{SE}$ $= 0,17 \pm 2,145 \times \text{SDd} / \sqrt{15}$ $= 0,17 \pm 2,145 \times 0,716 / 3,87$ $= 0,17 \pm 0,4$ $= -0,23 \rightarrow 0,57$		

6.6. Uji t berpasangan untuk membandingkan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah minum ASA pada wanita pascamenopause

Subyek No.	Sebelum minum ASA	Sesudah minum ASA	Selisih sebelum dan sesudah minum ASA
1	4,277	2,013	2,263
2	5,825	1,600	4,225
3	1,957	0,882	1,075
4	2,348	0,830	1,519
5	6,740	1,824	4,916
6	1,199	0,503	0,696
7	10,267	6,075	4,192
8	4,810	9,111	-4,302
9	4,648	1,690	2,958
10	1,275	0,725	0,550
11	9,173	2,479	6,694
12	2,158	1,067	1,090
13	1,499	1,458	0,041
14	1,952	1,259	0,693
15	3,243	1,240	2,003
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,127 (normal)	p < 0,001 (tidak normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	4,091	2,184	1,908
SD	2,860	-	2,565
t berpasangan	$= \text{mean}_{\text{diff}} / (\text{SD}_{\text{diff}} / \sqrt{n})$ $= 1,908 / (2,565 / \sqrt{15})$ $= 2,881$		
p	= 0,012 (2-tailed, df = 14)		
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(14)} \times \text{SE}$ $= 1,908 \pm 2,145 \times \text{SDd} / \sqrt{15}$ $= 1,908 \pm 2,145 \times 2,565 / 3,87$ $= 1,908 \pm 1,422$ $= 0,486 \rightarrow 3,33$		

6.7. Uji t tidak berpasangan untuk membandingkan rasio kadar awal 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} wanita pramenopause dan pascamenopause

Subyek No.	Wanita pramenopause (A)	Wanita pascamenopause (B)
1	0,479	4,277
2	1,409	5,825
3	0,617	1,957
4	0,796	2,348
5	0,972	6,740
6	1,471	1,199
7	2,021	10,267
8	1,519	4,810
9	1,265	4,648
10	1,058	1,275
11	0,632	9,173
12	0,747	2,158
13	1,996	1,499
14	0,979	1,952
15	0,973	3,243
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,127 (normal)
Mean	1,129	4,091
SD	0,477	2,860
SE _{diff}	$= \sqrt{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]}$ $= \sqrt{[(0,477^2/15) + (2,86^2/15)]}$ $= 0,749$	
t	$= (\text{mean}_1 - \text{mean}_2) / \text{SE}_{\text{diff}}$ $= (1,129 - 4,091) / 0,749$ $= -3,955$	
df	$= \frac{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]^2}{[(SD_1^2/n_1)/(n_1-1)] + [(SD_2^2/n_2)/(n_2-1)]}$ $= \frac{[(0,477^2/15) + (2,86^2/15)]^2}{[(0,477^2/15)/(15-1)] + [(2,86^2/15)/(15-1)]}$ $= 14,772$	
p	= 0,001 (2-tailed, df=15)	
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(15)} \times \text{SE}_{\text{diff}}$ $= (1,129 - 4,091) \pm 2,131 \times 0,749$ $= -2,962 \pm 1,596$ $= -4,558 \rightarrow -1,366$	

6.8. Uji t tidak berpasangan untuk membandingkan penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} antara wanita pascamenopause dan wanita pramenopause

Subyek No.	Wanita pramenopause (A)	Wanita pascamenopause (B)
1	-1,143	-4,302
2	-1,032	0,041
3	-0,540	0,550
4	-0,470	0,693
5	-0,046	0,696
6	-0,030	1,075
7	0,180	1,090
8	0,312	1,519
9	0,362	2,003
10	0,544	2,263
11	0,602	2,958
12	0,783	4,192
13	0,818	4,225
14	0,903	4,916
15	1,306	6,694
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	0,170	1,908
SD	0,716	2,565
SE _{diff}	$= \sqrt{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]}$ $= \sqrt{[(0,716^2/15) + (2,565^2/15)]}$ $= 0,687$	
t	$= (\text{mean}_1 - \text{mean}_2) / SE_{\text{diff}}$ $= (0,170 - 1,908) / 0,687$ $= -2,530$	
df	$= \frac{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]^2}{[(SD_1^2/n_1)^2/(n_1-1)] + [(SD_2^2/n_2)^2/(n_2-1)]}$ $= \frac{[(0,716^2/15) + (2,565^2/15)]^2}{[(0,716^2/15)^2/(15-1)] + [(2,565^2/15)^2/(15-1)]}$ $= 16,202$	
p	= 0,022 (2-tailed, df = 16)	
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(16)} \times SE_{\text{diff}}$ $= (1,170 - 1,908) \pm 2,120 \times 0,687$ $= -1,738 \pm 1,456$ $= -3,194 \rightarrow -0,282$	

6.9. Uji t tidak berpasangan untuk membandingkan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal wanita pramenopause dan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir wanita pascamenopause

Subyek No.	Wanita pramenopause (A)		Wanita pascamenopause (B)	
	Data asli	Data log	Data asli	Data log
1	0,479	-0,319	0,503	-0,298
2	0,617	-0,210	0,725	-0,140
3	0,632	-0,199	0,830	-0,081
4	0,747	-0,127	0,882	-0,055
5	0,796	-0,099	1,067	0,028
6	0,972	-0,012	1,240	0,093
7	0,973	-0,012	1,259	0,100
8	0,979	-0,009	1,458	0,164
9	1,058	0,025	1,600	0,204
10	1,265	0,102	1,690	0,228
11	1,409	0,149	1,824	0,261
12	1,471	0,168	2,013	0,304
13	1,519	0,182	2,479	0,394
14	1,996	0,300	6,075	0,784
15	2,021	0,306	9,111	0,960
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)	p < 0,001 (tidak normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	1,129	0,016	2,184	0,196
SD	0,477	0,186		0,331
SE _{diff}	$= \sqrt{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]}$ $= \sqrt{[(0,186^2/15) + (0,331^2/15)]}$ $= 0,1$			
t	$= (\text{mean}_1 - \text{mean}_2) / SE_{\text{diff}}$ $= (0,016 - 0,196) / 0,1$ $= -1,8$			
df	$= \frac{[(SD_1^2/n_1) + (SD_2^2/n_2)]^2}{[(SD_1^2/n_1)^2/(n_1-1)] + [(SD_2^2/n_2)^2/(n_2-1)]}$ $= \frac{[(0,186^2/15) + (0,331^2/15)]^2}{[(0,186^2/15)^2/(15-1)] + [(0,331^2/15)^2/(15-1)]}$ $= 22,038$			
p	= 0,08 (2-tailed, df=22)			
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(22)} \times SE_{\text{diff}}$ $= (0,016 - 0,196) \pm 2,074 \times 0,1$ $= -0,18 \pm 0,207$ $= -0,387 \rightarrow 0,027$			
Antilog	<ul style="list-style-type: none"> • Mean_{diff} = antilog (-0,18) = 0,661 • 95% CI = antilog (-0,387) → antilog (0,027) = 0,410 → 1,064 			

6.10. Uji t berpasangan untuk membandingkan persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1 α} pada wanita pramenopause

Subyek No.	2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} (A) (% sebelum)	11-dehidro-tromboksan-B ₂ (B) (% sebelum)	Selish A - B
	Data asli	Data asli	Data asli
1	84,257	66,515	-17,742
2	23,180	72,422	49,242
3	18,314	42,218	23,904
4	45,642	43,583	-2,059
5	84,341	67,711	-16,630
6	29,698	67,109	37,410
7	23,235	54,316	31,081
8	14,674	45,224	30,550
9	54,825	67,737	12,912
10	53,698	51,702	-1,996
11	72,757	52,487	-20,271
12	68,322	81,566	13,244
13	20,857	72,660	51,803
14	16,786	67,939	51,153
15	83,301	63,678	-19,623
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,097 (normal)	p = 0,085 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	46,260	61,125	15,634
SD	24,010	11,986	25,829
t berpasangan	= $\text{mean}_{\text{diff}} / (\text{SD}_{\text{diff}} / \sqrt{n})$ = $15,634 / (25,829 / \sqrt{15})$ = 2,344		
p	= 0,049 (2-tailed, df = 14)		
95% CI	= $\text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(14)} \times \text{SE}$ = $15,634 \pm 2,145 \times \text{SDd} / \sqrt{15}$ = $15,634 \pm 2,145 \times 25,829 / 3,87$ = $15,634 \pm 14,305$ = 1,329 → 29,939		

6.11. Uji t berpasangan untuk membandingkan persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause

Subyek No.	2,3-dinor-6-keto-PGF _{1α} (A) (% sebelum)	11-dehidro-tromboksan-B ₂ (B) (% sebelum)	Selisih A-B
	Data asli	Data asli	Data asli
1	66,430	28,694	37,736
2	77,717	18,870	58,847
3	76,881	48,698	28,183
4	70,137	15,458	54,679
5	73,013	0,269	72,744
6	69,829	28,092	41,737
7	73,216	54,736	18,480
8	77,608	88,180	-10,572
9	92,655	79,800	12,855
10	69,458	46,308	23,150
11	80,269	26,990	53,279
12	64,641	28,509	36,132
13	61,796	60,725	1,072
14	72,132	56,789	15,343
15	73,986	31,967	42,019
Uji normalitas (Kolmogorov-Smirnov)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)	p = 0,2 (normal)
Mean	40,939	73,318	32,379
SD	24,200	7,403	22,803
t berpasangan	$= \text{mean}_{\text{diff}} / (\text{SD}_{\text{diff}} / \sqrt{n})$ $= 32,379 / (22,803 / \sqrt{15})$ $= 5,499$		
p	< 0,001 (2-tailed, df = 14)		
95% CI	$= \text{mean}_{\text{diff}} \pm t_{0,975(14)} \times \text{SE}$ $= 32,379 \pm 2,145 \times \text{SDd} / \sqrt{15}$ $= 32,379 \pm 2,145 \times 22,803 / 3,87$ $= 32,379 \pm 12,629$ $= 19,750 \rightarrow 45,008$		

Lampiran 7. Perhitungan sampel untuk penelitian lanjutan

Perhitungan sampel untuk penelitian lanjutan dengan metode yang sama dapat dihitung menggunakan hasil dari penelitian pendahuluan ini.

Diketahui:

SD = 2,57 (karena SD penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} wanita pramenopause jauh lebih kecil dibandingkan wanita pascamenopause, maka SD yang diambil adalah SD yang lebih besar, yaitu SD pada wanita pascamenopause)

$$\alpha = 5\% \text{ (2-sided)} \rightarrow Z_{\alpha} = Z_{1-\alpha/2} = Z_{0,975} = 1,96$$

$$1-\beta = 80\% \rightarrow Z_{1-\beta} = Z_{0,8} = 0,842$$

$\Delta = 1$ (perbedaan minimal penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} yang diperkirakan bermakna secara klinis)

Jumlah sampel untuk tiap kelompok:

$$\begin{aligned} n_1 = n_2 &= \frac{2SD^2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{\Delta^2} \\ &= \frac{2 \times 2,57^2 (1,96 + 0,842)^2}{1^2} \\ &= 103,7 \sim 104 \text{ orang} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Biodata diri

Nama : Zita Arieselia
Tempat/tanggal lahir : Jakarta/ 7 April 1980
Agama : Katolik
Pekerjaan : Staf akademik, FK Atma Jaya,
Jakarta

**Riwayat pendidikan :**

- 2007 – 2009 : Program Magister Ilmu Biomedik, kekhususan Farmakologi, FKUI
- 2005 : Program Diploma, Cidesco, Jakarta
- 2002 – 2004 : Program Profesi Dokter, FK UNIKA Atma Jaya
- 1998 – 2002 : Program Sarjana, Fakultas Kedokteran UNIKA Atma Jaya
- 1995 – 1998 : SMU Regina Pacis, Jakarta
- 1992 – 1995 : SMP Regina Pacis, Jakarta
- 1986 – 1992 : SD Regina Pacis, Jakarta

Sumber dana penelitian tesis:

Dibiayai oleh Risbin Iptekdok, Litbangkes – Departemen Kesehatan RI

Universitas Indonesia

Lampiran 8. Artikel tesis

Kadar 2,3-dinor-6-keto-Prostaglandin- $F_{1\alpha}$ dalam Urin Wanita Pascamenopause Alami dan Premenopause yang Minum Aspirin 100 mg

Arini Setiawati¹, Rianto Setiabudy¹, Ali Baziad², Zita Arieselia³

¹ Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

² Departemen Ilmu Kebidanan dan Kandungan, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

³ Departemen Farmakologi dan Terapi, Fakultas Kedokteran Unika Atma Jaya, Jakarta.

Abstract

The prevalence of cardiovascular diseases in women increases sharply after menopause. In postmenopausal women, thromboxane production increases while prostacyclin production decreases. Low dose aspirin (75 – 150 mg) has long been known as an antiplatelet aggregator. Aspirin reduces the production of both thromboxane (potent thrombocyte aggregator and vasoconstrictor) and prostacyclin (anti thrombocyte aggregator and potent vasodilator).

The present study was an open-label clinical trial with 2 parallel groups. One group consisted of 15 premenopausal women (age ≥ 40 years) while the other group 15 postmenopausal women (for 3 – 5 years). Twenty-four hours urine was collected from each subject before and after aspirin 100 mg daily for 7 days. The concentration of prostacyclin was measured as its metabolite (2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$) in urine using EIA (Enzyme Immunoassay). Thromboxane as its urinary metabolites (11-dehidro-tromboksan- B_2) was also measured in these same urine samples in the previous study.

Previous study showed that aspirin significantly reduced thromboxane in both groups, with significantly larger percentage reduction in postmenopausal women compared to premenopausal women. Results of the present study showed that aspirin reduced prostacyclin significantly in both premenopausal women (mean difference = 78.44 ng/g creatinine; $p = 0.001$) and postmenopausal women (mean difference = 35.71 ng/g creatinine; $p < 0.001$), but the percentage reduction between the groups was not significantly different (46,26% vs. 40,94%; $p = 0,574$). The decrease in thromboxane and prostacyclin should be compared (as the decrease in the ratio of 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$) to assess aspirin efficacy as an antithrombotic. Calculation of the ratio of 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ before aspirin consumption was much higher in postmenopausal women compared to that in premenopausal women (4.09 vs. 1.13; $p = 0.001$). The decrease in 11-dehidro-tromboksan- B_2 / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin- $F_{1\alpha}$ ratio by aspirin was found much larger in postmenopausal women compared to that in premenopausal women (1.91 vs. 0.17; $p = 0.022$).

It was concluded that aspirin reduced prostacyclin significantly in each group with nonsignificant percentage reduction between groups, but reduced the 11-dehidro-

Universitas Indonesia

tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α} ratio much larger in postmenopausal women compared to that in premenopausal women.

Keywords:

2,3-dinor-6-keto-prostaglandin-F_{1α}, low dose aspirin, postmenopausal women, thromboxane/prostacyclin ratio.

PENDAHULUAN

Pada wanita pascamenopause angka kejadian penyakit kardiovaskular meningkat dengan curam. Satu dari 9 wanita usia 45 tahun - 64 tahun akan mengalami penyakit kardiovaskular, sedangkan 1 dari 3 wanita usia 65 tahun atau lebih akan mengalami penyakit kardiovaskular.¹

Perkembangan penyakit kardiovaskular pada wanita mengalami keterlambatan sekitar 10 tahun dibandingkan pada pria. Menurut *Framingham Point Score*, risiko penyakit kardiovaskular pada wanita mulai meningkat saat usia 40 tahun.² Pada wanita pascamenopause terjadi ketidakseimbangan antara produksi tromboksen dan prostasiklin.³ Prostrasiklin yang disintesis oleh enzim siklooksigenase (COX) pada endotelium merupakan vasodilator poten dan inhibitor agregasi trombosit. Sedangkan tromboksen A₂ yang disintesis oleh COX-1 pada trombosit merupakan penyebab vasokonstriksi dan stimulus poten untuk agregasi trombosit.³

Aspirin dosis rendah (75 mg - 150 mg) telah lama dikenal sebagai penghambat agregasi trombosit.⁴ Mekanisme penghambatan agregasi trombosit oleh aspirin adalah melalui asetilasi enzim COX trombosit secara ireversibel. Proses asetilasi mengakibatkan terjadinya gangguan interaksi enzim COX-1 dengan substrat asam arakidonat.

Women's Health Study yang dilakukan pada tahun 2005 mencoba mencari rasionalisasi penggunaan aspirin untuk pencegahan primer terhadap penyakit kardiovaskular pada wanita >

45 tahun dengan *endpoint* klinis. Penelitian ini melibatkan 39.876 wanita sehat dengan intervensi aspirin 100 mg setiap 2 hari selama 10 tahun dengan pembandingan plasebo. Hasilnya menunjukkan penurunan risiko stroke iskemik bermakna pada kelompok dengan intervensi aspirin 100 mg dibandingkan kelompok plasebo, sedangkan penurunan risiko infark miokard tidak bermakna dan peningkatan stroke hemoragik juga tidak bermakna.⁵

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian sebelumnya yang mengukur kadar 11-dehidrotromboksen-B₂ (11-dTxB₂) dalam sampel urin pada subyek penelitian yang sama. Pengukuran prostasiklin dalam penelitian ini menggunakan metabolitnya, yaitu 2,3-dinor 6-keto PGF_{1α} dari urin subyek. Penelitian ini ingin mengetahui kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dengan metode EIA sebelum dan setelah penggunaan aspirin pada wanita pramenopause berusia ≥ 40 tahun dan wanita pascamenopause alami yang sehat (telah henti haid 3 - 5 tahun) sebagai rasionalisasi penggunaan aspirin untuk pencegahan primer bagi subyek tersebut. Karena penggunaan aspirin akan menurunkan kadar tromboksen dan prostasiklin, maka perlu dibandingkan penurunan keduanya sehingga diketahui apakah aspirin efektif untuk pencegahan primer penyakit kardiovaskular pada wanita pramenopause ≥ 40 tahun dan pascamenopause alami. Perbandingan ini dilaporkan dalam bentuk rasio kadar 11-dehidrotromboksen-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}.

Universitas Indonesia

METODOLOGI

Penelitian ini merupakan uji klinik dengan desain paralel dan tidak tersamar. Subyek penelitian terdiri dari 2 kelompok yaitu wanita pramenopause dan wanita pascamenopause. Kedua kelompok diintervensi dengan minum aspirin salut enterik 100 mg selama 7 hari berturut-turut setelah makan pagi. Sampel urin 24 jam untuk pengukuran kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} diambil sebelum dan setelah subyek minum aspirin selama 7 hari. Pengukuran kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dilakukan dengan metode *Enzyme Immunoassay* (EIA). Pengukuran terhadap kadar 11-dTxB₂ telah dilakukan dalam sampel urin yang sama dari subyek yang sama.

Subyek Penelitian

Semua subyek yang terlibat harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi meliputi wanita pramenopause atau pascamenopause (henti haid 3 – 5 tahun) sehat, usia ≥ 40 tahun, LDL < 160 mg/dL, tekanan darah $< 140/90$ mmHg, BMI (*Body Mass Index*) $\leq 27,5$ kg/m², dan menandatangani formulir *informed consent*. Kriteria eksklusi meliputi minum aspirin atau obat antiinflamasi nonsteroid dalam 14 hari sebelum penelitian, memiliki riwayat gangguan perdarahan, perdarahan gastrointestinal, stroke hemoragik, alergi aspirin, minum kontrasepsi hormonal dalam 2 minggu terakhir, menggunakan kontrasepsi hormonal dalam bentuk depo, minum HRT, terlibat uji klinik lain dalam 3 bulan terakhir, riwayat ketergantungan obat atau alkohol, merokok, DM tipe 1 atau 2, trombositopenia ($< 150.000/\mu\text{L}$), anemia (Hb < 10 g/dL), gagal ginjal atau hati.

Sampel Urin

Urin yang digunakan dalam penelitian ini adalah urin 24 jam yang dikumpulkan oleh sukarelawan sebelum dan sesudah minum aspirin 100 mg selama 7 hari berturut-turut. Urin 24 jam dikumpulkan dalam wadah pendingin tanpa pengawet yang telah diberikan kepada subyek penelitian. Urin diukur volumenya, kemudian dikocok dan diambil 8 mL untuk disimpan pada suhu -80°C hingga analisis pengukuran kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dilakukan.

Analisis Sampel Urin

Sampel urin dicairkan dari *freezer*, kemudian dipurifikasi dan dilakukan *assay* menggunakan *kit* EIA 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan).

Analisis Statistik

Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah pemberian aspirin pada masing-masing kelompok wanita pascamenopause dan wanita pramenopause dibandingkan dengan uji *t* berpasangan atau uji Wilcoxon (tergantung distribusi datanya).

Kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal (sebelum minum aspirin) pada wanita pramenopause dan pada wanita pascamenopause dibandingkan dengan uji *t* tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).

Selisih kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah pemberian aspirin dibandingkan antara wanita pascamenopause dan wanita pramenopause dengan uji *t* tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).

Demikian juga dengan data rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}.

Analisis statistik terhadap rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pramenopause dibandingkan dengan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause dilakukan dengan menggunakan uji t tidak berpasangan atau uji Mann-Whitney (tergantung distribusi datanya).

Analisis statistik terhadap persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir pada masing-masing kelompok wanita pramenopause dan wanita pascamenopause dilakukan menggunakan uji t berpasangan atau uji Wilcoxon (tergantung distribusi datanya).

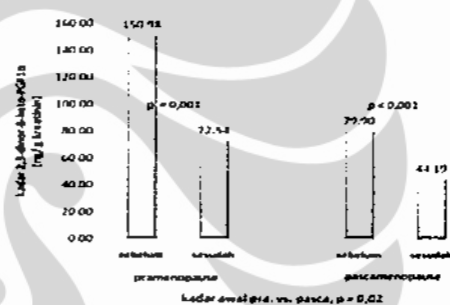
HASIL

Karakteristik awal pada kedua kelompok yang dibandingkan dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil analisis statistik penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil analisis statistik penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil analisis statistik yang membandingkan persentase penurunan 11-dehidro-tromboksan-B₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pramenopause dan pascamenopause dapat dilihat pada Gambar 3.

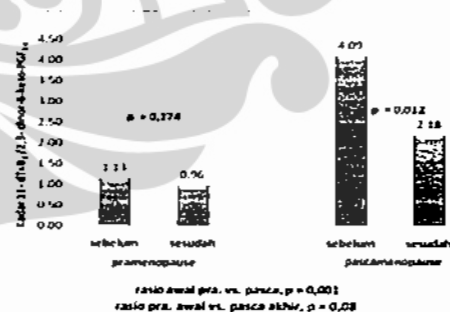
Analisis statistik yang membandingkan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal wanita pramenopause dengan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir wanita pascamenopause dengan uji t tidak berpasangan pada data hasil transformasi logaritmiknya menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kedua kelompok tersebut ($p = 0,08$; 1,13 vs. 2,18).

Tabel 1. Karakteristik awal wanita pascamenopause (A) dan pramenopause (B)

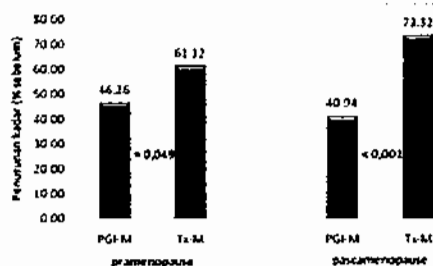
Karakteristik	A (n = 15)	B (n = 15)	Total (n = 30)
Usia (tahun)			
Rerata (SD)	54 (6)	44 (10)	49 (12)
Waktu setelah menopause (tahun)			
Rerata (SD)	3,95 (0,77)	-	-
BMI			
Rerata (SD)	24,07 (2,05)	23,91 (3,09)	-
Tekanan darah sistolik (n)			
< 120 mmHg	4	8	12
120 – 129 mmHg	3	3	6
130 – 139 mmHg	8	4	12
Kolesterol LDL (n)			
< 100 mg/dL	4	8	12
100 – 129 mg/dL	3	3	6
130 – 159 mg/dL	8	4	12



Gambar 1. Diagram balok penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} oleh aspirin pada wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.



Gambar 2. Diagram balok penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} sebelum dan sesudah pemberian aspirin 100 mg pada wanita pramenopause dan pascamenopause



Gambar 3. Diagram balok persentase penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} (PGI) dan 11-dehidro-tromboksen-B₂ (Tx) pada masing-masing kelompok wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan untuk memberikan dasar pemikiran dan bahan pertimbangan dalam pemberian aspirin dosis rendah pada wanita pascamenopause, dengan membandingkan penurunan tromboksan dan prostasiklin pada wanita pascamenopause dan pramenopause.

Dalam penelitian ini didapatkan bahwa kadar awal 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause (80 ng/g kreatinin) lebih rendah secara bermakna dibandingkan wanita pramenopause (151 ng/g kreatinin). Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Fischer dkk mengukur kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} dalam urin beberapa kelompok subjek, yaitu kelompok wanita pramenopause (155 ± 23 ng/g kreatinin), pascamenopause (97 ± 24 ng/g kreatinin), wanita hamil trimester pertama (230 ± 50 ng/g kreatinin) dan wanita hamil trimester ke-3 (522 ± 53 ng/g kreatinin).⁵

Kadar prostasiklin yang berbeda pada wanita pramenopause, wanita hamil dan wanita pascamenopause ini dikaitkan dengan kadar hormon seks, yaitu estradiol.⁶ Kemudian diketahui bahwa penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada wanita pascamenopause

terkait dengan reseptor estrogen α. Sellers dkk meneliti peran reseptor estrogen terhadap produksi prostasiklin pada tikus. Penelitian dilakukan terhadap tikus hipertensi yang dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu kelompok dengan ovarium yang utuh dan yang telah dibuang. Pemberian estrogen selektif reseptor alpha pada tikus yang telah diovariectomi menghasilkan produksi prostasiklin yang lebih tinggi dibandingkan tikus dengan ovarium yang intak ataupun tikus yang telah diovariectomi yang diberikan estrogen selektif reseptor beta. Dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa ERα (reseptor estrogen alpha) meningkatkan produksi prostasiklin dibandingkan dengan ERβ (reseptor estrogen beta).⁷ Terkait dengan penelitian ini, maka penurunan produksi estrogen akan dapat menurunkan ikatan estrogen dengan ERα, sehingga produksi prostasiklin juga akan menurun. Demikian pula menjelaskan bahwa pada kehamilan akan terdapat peningkatan produksi prostasiklin sejalan dengan bertambahnya usia kehamilan karena adanya peningkatan estrogen.

Terdapat hubungan yang kuat antara estrogen, prostasiklin dan aterosklerosis. Penelitian lain menjelaskan bahwa vasodilatasi akibat pemberian estradiol pada wanita pascamenopause dimediasi oleh enzim siklooksigenase 2 (COX-2).⁸⁻⁹ Jadi estrogen yang bekerja pada reseptor estrogen alpha akan meningkatkan produksi prostasiklin dengan cara mengaktivasi COX-2.⁹ Penurunan kadar prostasiklin pada wanita pascamenopause menyebabkan peningkatan atherogenesis yang dapat meningkatkan risiko infark miokard, stroke nonhemoragik dan kematian akibat gangguan kardiovaskular, seperti kematian akibat infark miokard, stroke, gagal jantung,

aritmia, emboli paru atau pecahnya aneurisma aorta.¹⁰

Tromboksen merupakan proagregasi trombosit dan vasokonstriktor yang poten, sedangkan prostasiklin sebaliknya. Pemberian aspirin dosis 100 mg akan menghambat kerja enzim siklooksigenase 1 dan 2 secara non-spesifik, akibatnya terjadi penurunan produksi tromboksen dan prostasiklin. Untuk mengetahui dan menilai efek antitrombotik pemberian aspirin dosis rendah, maka perlu dilakukan evaluasi terhadap kedua prostanoid ini. Dalam sebuah penelitian, rasio kadar tromboksen dan prostasiklin dikatakan mewakili tonus vaskular.¹¹

Pada penelitian ini tromboksen dan prostasiklin diukur dari metabolitnya dalam urin yaitu 11-dehidro-tromboksen-B₂ dan 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α}. Wanita pramenopause memiliki risiko penyakit kardiovaskular yang rendah dibandingkan wanita pascamenopause.⁹ Sesuai dengan pernyataan tersebut, dalam penelitian ini didapatkan bahwa rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal (sebelum minum aspirin 100 mg) pada wanita pascamenopause lebih tinggi secara bermakna dibandingkan pramenopause. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Jendryczko dan Tomala yang mengatakan bahwa terjadi ketidakseimbangan ekskresi metabolit tromboksen dan prostasiklin dalam urin wanita pascamenopause.⁴

Setelah diberikan aspirin 100 mg selama 7 hari, maka terjadi penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada kedua kelompok. Penurunan rasio 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} berbeda bermakna antara kelompok wanita pramenopause dan pascamenopause (0,17 vs. 1,91; p = 0,022).

Rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} awal pada wanita pramenopause (1,13) tidak berbeda bermakna (p = 0,08) dengan rasio kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ / 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} akhir pada wanita pascamenopause (2,18). Hal ini dapat diasosiasikan bahwa wanita pascamenopause yang minum aspirin 100 mg memiliki faktor proteksi terhadap aterosclerosis dan gangguan vaskular yang sama dengan wanita pramenopause yang tidak mengkonsumsi aspirin 100 mg.

Persentase penurunan kadar 11-dehidro-tromboksen-B₂ akibat pemberian aspirin 100 mg lebih besar dibandingkan penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} pada subyek yang sama. Adapun kedua prostanoid ini memiliki jalur yang sama, yaitu jalur siklooksigenase dan dihambat oleh aspirin dengan cara yang sama. Ada beberapa hal yang dapat digunakan untuk menjelaskan fenomena ini, yaitu:

Pertama, aspirin dosis rendah sebagian besar bekerja pada trombosit di vena porta dan hanya sebagian kecil yang dapat lolos ke sirkulasi sistemik untuk bekerja pada sel endotel. Hal ini menyebabkan penurunan kadar tromboksen (yang dihasilkan oleh trombosit) akan lebih besar dibandingkan penurunan kadar prostasiklin (yang dihasilkan oleh endotel).¹³

Kedua, karena banyaknya sel yang memproduksi prostasiklin lebih besar dibandingkan sel yang memproduksi tromboksen. Sel endotel terdapat dalam jumlah yang besar pada dinding pembuluh darah di seluruh tubuh, sehingga sedikit aspirin dosis rendah yang lolos ke sirkulasi sistemik tidak cukup untuk mempengaruhinya, tetapi dapat mempengaruhi sebagian besar trombosit di vena porta (yang jumlahnya jauh lebih sedikit dibandingkan endotel).¹⁴

Ketiga, recovery prostasiklin yang lebih cepat dibandingkan trombosit. Hal ini disebabkan karena aspirin memblok enzim siklooksigenase secara ireversibel. Karena trombosit tidak memiliki inti sel, maka ia tidak dapat mensintesis enzim siklooksigenase yang baru, sehingga trombosit tersebut tidak dapat membentuk tromboksan sepanjang usianya, sedangkan sel endotel mampu menghasilkan enzim siklooksigenase yang baru, sehingga prostasiklin dapat dihasilkan kembali.¹⁵

KESIMPULAN

Persentase penurunan kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} tidak berbeda antara wanita pramenopause dan wanita pascamenopause.

Penurunan rasio kadar 11-dehidro-tromboksan-B₂ / kadar 2,3-dinor-6-keto-PGF_{1α} lebih besar secara bermakna pada wanita pascamenopause dibandingkan pada wanita pramenopause.

Daftar Pustaka

- Rosenfield LE. Women and heart disease. In: Zaret BL, Moser M, Cohen LS, Morrow W, editors. Yale University School of Medicine Heart Book. Connecticut: Reed Business Information; 1992. p. 237-43.
- Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97: 1837-47
- Jendryczko A, Tomala J. An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in women after the menopause. *Zentralbl Gynakol*.1993; 115(4): 163-66
- Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*.2002; 324: 71-86
- Ridker PM, Cook NR, Lee IM, Gordon D, Gaziano JM, Manson JE, et al. A randomized trial of low-dose aspirin in the primary prevention of cardiovascular disease in women. *New Engl J Med*.2005; 352 (13): 1293-304
- Fischer S, Bernutz C, Meier H, Weber PC. Formation of prostacyclin and thromboxane in man as measured by the main urinary metabolites. *PubMed*. 1986; 876(2): 194-9.
- Farker K, Schweer H, Vollandt R, Massr N, Nagel U, Seyberth HW, et al. Measurements of urinary prostaglandins in young ovulatory women during the menstrual cycle and in postmenopausal women. *Science Direct*. 1997; 54(3): 655-64.
- Sellers M, Xu F, Stallone. Selective estrogen receptor agonists enhance blood pressure, thromboxane and prostacyclin in aortic coarctation-induced hypertensive female rats. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. 2008; 22: 14
- Egan KM, Lawson JA, Fries S, Koller B, Rader DJ, Smyth EM, et al. COX-2 derived prostacyclin confers atheroprotection on female mice. *The American Association for the Advancement of Science*. 2004; 306 (5703): 1954-7.
- Calkin AC, Sudhir K, Honisett S, Williams MRI, Dawood T, Komesaroff PA. Rapid potentiation of endothelium-dependent vasodilation by estradiol in postmenopausal women is mediated via cyclooxygenase 2. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002; 87(11): 5072 - 5
- Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Qilong Y, Yusuf S. Aspirin resistant thrombosane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*. 2002: 1650 - 5
- Kataoka M, Nagaya N, Satoh T, Itoh T, Murakami S, Iwase T, et al. A long-acting prostacyclin agonist with

- thromboxane inhibitory activity for pulmonary hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2005; 172: 1575 – 80.
13. Pedersen AK. Dose-related kinetics of aspirin: presystemic acetylation of platelet cyclooxygenase. *New Engl J Med*. 1984; 311(19): 1206 – 11
14. Walsh SW. Low-dose aspirin: treatment for the imbalance of increased thromboxane and decreased prostacyclin in preeclampsia. *Am J Perinatol*. 1989;6(2): 124 – 32
15. Al-Meshari A, Aleem MA. Story of low-dose aspirin: its potential use in obstetrics by way of influencing thromboxane and prostacyclin. *Annals of Saudi Medicine*. 1995; 15(2): 103 – 6

