

**PERBEDAAN EKSPRESI *HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN-G (HLA-G)*  
ANTARA *BLIGHTED OVUM* DENGAN KEHAMILAN NORMAL**

**TESIS**

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Derajat Magister

Program Studi Magister Kedokteran Kesehatan

Minat Umum: Ilmu Biomedik



Oleh:

**Nutria W.P. Anggraini**

**S500907024**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
*commit to user*  
2011**

Halaman Pengesahan Pembimbing

**PERBEDAAN EKSPRESI *HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN-G (HLA-G)*  
ANTARA *BLIGHTED OVUM* DENGAN KEHAMILAN NORMAL**



Disusun Oleh:

**Nutria W.P. Anggraini**

**S500907024**

Telah Disetujui oleh Tim Pembimbing

Dewan Pembimbing

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Pembimbing I:	Dr. Sri Sulistyowati, dr., Sp. OG(K) NIP. 196208221989122001		
Pembimbing II:	Prof. Dr. JB. Dalono, dr., Sp. OG (K) NIP. 194105041970041001		

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Kedokteran Keluarga

  
Prof. Dr. Didik Tamtomo, dr., MM., M.Kes., PAK  
NIP. 194803131976101001

**PERBEDAAN EKSPRESI *HUMAN LEUCOCYTE ANTIGEN-G (HLA-G)*  
ANTARA *BLIGHTED OVUM* DENGAN KEHAMILAN NORMAL**

Disusun Oleh:

**Nutria W.P. Anggraini**

**S500907024**

Telah Disetujui oleh Tim Penguji

Pada hari :

Tanggal :

Jabatan

Nama

Tanda Tangan

Ketua

Prof. Dr. Didik Tamtomo, dr.,  
MM., M.Kes., PAK  
NIP. 194803131976101001

Sekretaris

Prof. Dr. Harsono Salimo, dr.,SpA  
NIP. 19483131976101001

Anggota Penguji

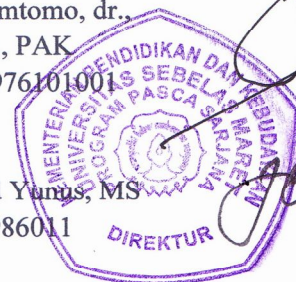
1. Dr. Sri Sulistyowati, dr., Sp.OG(K)  
NIP. 196208221989122001

2. Prof. Dr.JB. Dalono,dr, Sp.OG (K)  
NIP. 194105041970041001

Mengetahui,

Ketua Program  
Studi Magister  
Kedokteran  
Keluarga

Prof. Dr. Didik Tamtomo, dr.,  
MM., M.Kes., PAK  
NIP. 194803131976101001



Direktur Program  
Pascasarjana

Prof.Dr.Ir.Ahmad Yumus, MS  
NIP 196107171986011

### PERNYATAAN

Nama : Nutria W.P. Anggraini

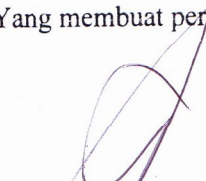
NIM : S500907024

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa tesis berjudul *Perbedaan Ekspresi Human Leucocyte Antigen-G (HLA-G) antara Blighted Ovum dengan Kehamilan Normal* adalah betul-betul karya sendiri. Hal-hal yang bukan karya saya, dalam tesis tersebut diberi tanda citasi dan ditunjukkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan tesis dan gelar yang saya peroleh dari tesis tersebut.

Surakarta, Desember 2011

Yang membuat pernyataan,



Nutria W.P. Anggraini

## KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirobbilalamin, segala puji dan syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayahnya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini yang disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mengikuti Program Studi Dokter Spesialis I di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret serta untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Magister Kesehatan di Program Studi Magister Kesehatan Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan judul **“Perbedaan Ekspresi *Human Leucocyte Antigen-G (HLA-G)* antara *Blighted Ovum* dengan Kehamilan Normal”**.

Terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang sebesar-besarnya saya sampaikan kepada **Dr. Sri Sulistyowati, dr., Sp.OG(K)** sebagai pembimbing I yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran dalam proses penyelesaian tesis ini.

Terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada **Prof. Dr. JB Dalono, dr., Sp.OG (K)** sebagai pembimbing II yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan, dan saran dalam proses penyelesaian tesis ini.

Terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada **Dr. Abkar Raden, dr., Sp.OG (K)** sebagai koordinator tesis yang telah memberikan dorongan, waktu dan kesempatan yang seluas-luasnya dalam proses penyelesaian tesis ini.

Terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga saya sampaikan kepada tim penguji, yang telah berkenan memberikan waktu dan tenaga dalam proses penyelesaian tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah pada kesempatan ini saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan rasa hormat setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

*commit to user*

1. **Prof. Dr. Ravik Karsidi, M.Si.**, sebagai Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. **Prof. Dr. Ir. Ahmad Yunus, MS** sebagai Direktur Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. **Prof. Dr. Didik Tamtomo, dr., MM., M.Kes., PAK**, sebagai Ketua Program Studi Magister Kedokteran Keluarga Universitas Sebelas Maret Surakarta.
4. **Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp.PD-KR.**, sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
5. **Basoeki Sutardjo, drg., MMR.**, sebagai Direktur RSUD Dr. Moewardi Surakarta.
6. **Dr. Supriyadi Hari R, dr., Sp.OG.**, sebagai Ka. Bag SMF Obgin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
7. **Dr. Sri Sulistyowati, dr., Sp.OG (K).**, sebagai KPS SMF Obgin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
8. **Wisnu Prabowo, dr., Sp.OG.**, sebagai SPS SMF Obgin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
9. Seluruh Staff PPDS I Bagian Obgin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. **Prof. Dr. JB Dalono, dr., Sp.OG (K).**, **Dr. Soetrisno, dr., Sp.OG (K).**, **Dr. Supriyadi Hari R, dr., Sp.OG.**, **Dr. Abkar Raden, dr., Sp.OG (K).**, **Rustam Sunaryo, dr., Sp.OG**, **Glondong Suprpto, dr., Sp.OG**, **Darto, dr., Sp.OG**, **Dr. Sri Sulistyowati, dr., Sp.OG (K).**, **A. Laqief, dr., Sp.OG (K).**, **Prof. Dr. KRMT. Tedja D.O, dr., Sp.OG (K).**, **Tribudi, dr., Sp.OG (K).**, **Eriana Melinawati, dr., Sp.OG (K).**, **Heru Priyanto, dr., Sp.OG (K).**, **Wuryatno, dr., Sp.OG.**, **Glondong Suprpto, dr., Sp.OG.**, **Hermawan U, dr., Sp.OG.**, **Teguh Prakosa, dr., Sp.OG.**, **Wisnu Prabowo, dr., Sp.OG.**, **Affi Angelia R, dr., Sp.OG.**, **Muh. Adrianes Bachnas, dr., Sp.OG.**, **Eric Edwin, dr., Sp.OG.**



10. Semua rekan residen PPDS I Obgin Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta yang banyak membantu pelaksanaan tesis ini.
11. Ayahanda **dr.H. Trisulo Wasyanto,SpJP(K) FIHA,FAPSC,FAsCC** dan ibunda **dr. Hj.Nurul Huda**, yang telah membesarkan saya, mengasuh, membimbing dan mendidik disiplin kepada saya dengan penuh kasih sayang, memberikan dorongan, fasilitas serta mendoakan kelancaran selesainya tesis ini.
12. Ayah ibu mertua, keluarga **Drs.Wiryanto,Msi**, yang telah banyak membantu, memberikan dorongan, serta mendoakan kelancaran selesainya tesis ini.
13. Suami saya tercinta, **Kunto Ari Bowo,ST** yang telah banyak berkorban selama saya mengikuti pendidikan PPDS I Obgin,dan tetap mendorong, mendoakan, dan memberikan semangat sampai saya dapat menyelesaikan tesis ini.
14. Anak saya, **Nuenko Kumara Mahendra Farras** yang dapat menerima dan memahami kesibukan saya dan juga mendorong semangat saya untuk menyelesaikan tugas tesis ini.
15. Adik adikku **dr.Narulita, dr.Ahmad Yasa, Dimas, SH, Ayu Sekarini,ST** yang telah banyak membantu serta mendorong semangat saya untuk menyelesaikan tugas tesis ini.
16. Semua ibu primigravida yang telah membantu sebagai subjek penelitian tesis saya ini, yang dengan ikhlas memberikan pengorbanan demi kemajuan ilmu pengetahuan.
17. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu saya dalam penyelesaian tesis ini.

Akhir kata semoga tesis ini bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan, dan semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada kita semua. Amin ya Robbal Alamin.

*Wassalamualaikum Wr Wb.*

*commit to user*

Nutria W.P. Anggraini

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI TESIS.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR DIAGRAM.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Klinis.....	5
1.4.3 Manfaat di Bidang Kedokteran Keluarga.....	5

*commit to user*



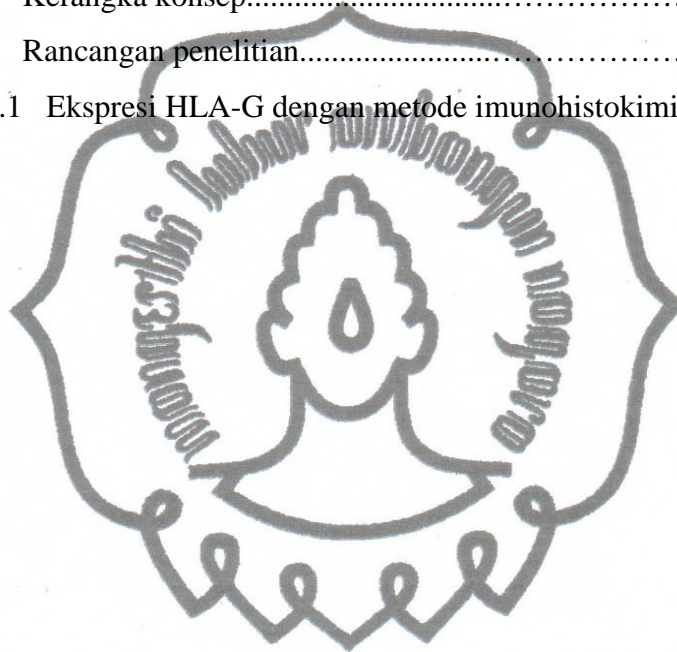
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Blighted Ovum.....	5
2.1.1 Definisi .....	5
2.1.2 Epidemiologi.. .....	5
2.1.3 Etiologi.. .....	6
2.1.4 Patofisiologi.....	6
2.1.5 Faktor Risiko.. .....	8
2.1.6 Diagnosis.....	12
2.1.2 Penatalaksanaan.....	13
2.2. <i>Human Leucocyte Antigen</i> (HLA-G).....	14
2.2.1 Definisi.....	14
2.2.2 Fungsi.....	15
2.3. Ekspresi <i>Human Leucocyte Antigen-G</i> (HLA-G) pada <i>Blighted ovum</i> .....	19
2.4 Kerangka Konseptual.....	25
2.5. Hipotesis.....	27
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
3.1 Jenis dan Rancangan penelitian.....	28
3.1.1 Jenis penelitian.....	28
3.1.2 Rancangan penelitian.....	28
3.2 Lokasi dan waktu penelitian.....	29
3.3 Subyek penelitian.....	29
3.3.1. Kriteria Inklusi .....	29

*commit to user*

3.3.2. Kriteria Eksklusi.....	30
3.4 Besar Sampel.....	31
3.5 Variabel penelitian.....	31
3.5.1 Variabel terikat .....	31
3.5.2 Variabel bebas .....	32
3.6 Definisi operasional .....	32
3.7 Prosedur penelitian yang dilakukan.....	32
3.8 Alat dan Bahan Penelitian.....	33
3.9 Cara Kerja.....	34
3.10 Analisa data .....	35
BAB IV HASIL DAN ANALISIS DATA PENELITIAN.....	36
BAB V PEMBAHASAN .....	42
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	53
LAMPIRAN.....	58

## DAFTAR GAMBAR

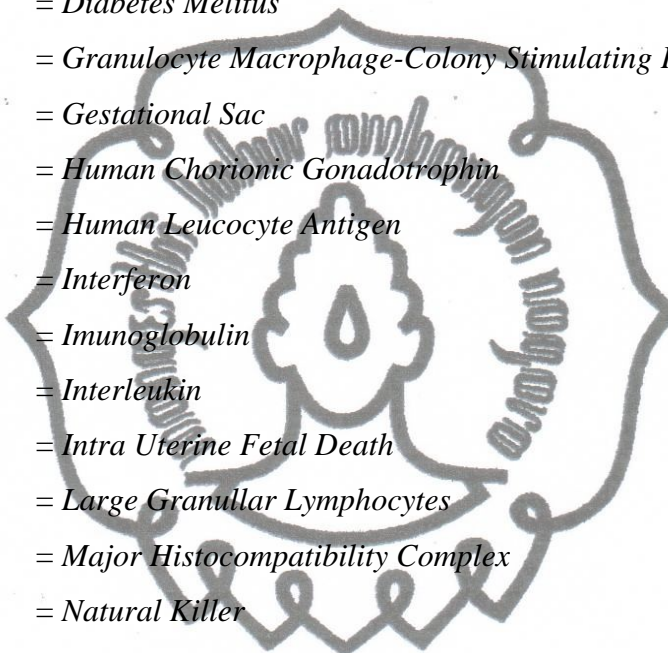
	Halaman
Gambar 2.3.1 Respon imunologi maternal-fetal.....	21
Gambar 2.3.2 Peran progesteron dalam imunomodulasi pada kehamilan.....	24
Gambar 2.4 Kerangka konsep.....	26
Gambar 3.1 Rancangan penelitian.....	29
Gambar 4.3.1 Ekspresi HLA-G dengan metode imunohistokimia.....	40



## DAFTAR DIAGRAM

	Halaman
Diagram 4.4.1 Perbedaan ekspresi Human Leucocyte Antigen-G (HLA-G) antara blighted ovum dengan kehamilan normal.....	41
Diagram 4.4.2 ROC ( <i>Receiver Operating Characteristic</i> ) ( <i>SPSS 17.0 for Windows</i> ) untuk mengetahui nilai kekuatan diagnostik dari ekspresi HLA-G pada <i>blighted ovum</i> .....	42

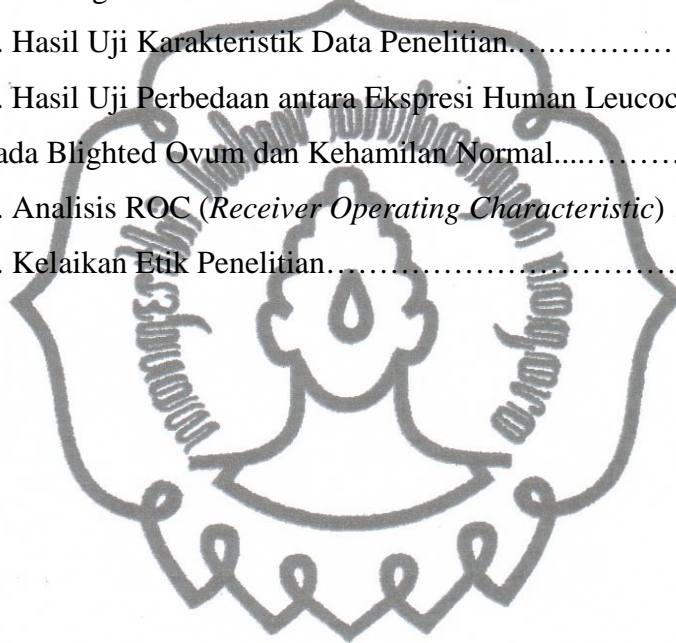


**DAFTAR SINGKATAN**

ACTH	= <i>Adenocorticotropin Hormon</i>
CMV	= <i>Citomegalovirus</i>
CRH	= <i>Corticotropin Releasing Hormon</i>
DM	= <i>Diabetes Melitus</i>
GM-CSF	= <i>Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor</i>
GS	= <i>Gestational Sac</i>
HCG	= <i>Human Chorionic Gonadotrophin</i>
HLA	= <i>Human Leucocyte Antigen</i>
IFN	= <i>Interferon</i>
Ig	= <i>Imunoglobulin</i>
IL	= <i>Interleukin</i>
IUFD	= <i>Intra Uterine Fetal Death</i>
LGLs	= <i>Large Granular Lymphocytes</i>
MHC	= <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NK	= <i>Natural Killer</i>
PBMC	= <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i>
PHA	= <i>Phytohaem-Agglutinin</i>
PIBF	= <i>Progesterone Induced Blocking Factor</i>
TAP	= <i>Transportasi Antigen Processing</i>
Th	= <i>T helper</i>
TNF	= <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TORCH	= <i>Toxoplasma, Rubella, Citomegalovirus dan Herpes</i>

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Pernyataan Persetujuan Mengikuti Penelitian.....	58
Lampiran 2. Rancangan Anggaran Penelitian.....	60
Lampiran 3. Homogenitas Data Penelitian.....	61
Lampiran 4. Homogenitas Data Kendali.....	62
Lampiran 5. Hasil Uji Karakteristik Data Penelitian.....	64
Lampiran 6. Hasil Uji Perbedaan antara Ekspresi Human Leucocyte Antigen-G (HLA-G) Pada Blighted Ovum dan Kehamilan Normal.....	67
Lampiran 7. Analisis ROC ( <i>Receiver Operating Characteristic</i> ) .....	68
Lampiran 8. Kelaikan Etik Penelitian.....	70





## ABSTRAK

Nutria W.P. Anggraini.NIM. S500907024. Perbedaan Ekspresi *Human Leukocyte Antigen-G* (HLA-G) antara *Blighted Ovum* dengan Kehamilan Normal.Tesis.Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta.

**Latar belakang:** Kegagalan hasil konsepsi dini merupakan masalah yang dihadapi banyak wanita hamil, dan salah satunya *blighted ovum* sebesar 37,5% Salah satu penyebabnya sebesar 15% adalah kelainan system imun. *Human Leukocyte Antigen-G* (HLA-G) memegang peran dalam toleransi imun semialogenik fetus oleh ibu. HLA-G yang cukup pada trofoblas menyebabkan tidak terjadinya respon imunologis ibu, sehingga kehamilan berjalan normal.Pada tesis ini akan meneliti tentang perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal

**Tujuan penelitian:** membuktikan terdapatnya perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal.

**Metode penelitian:** Penelitian dilakukan di Rumah Sakit Umum Dokter Moewardi Surakarta, merupakan penelitian observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional study*. Variabel independen : Ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* dan kehamilan normal, variabel dependen *blighted ovum*, kehamilan normal. Jumlah sampel 32, 16 sampel *blighted ovum*, dan 16 sampel kehamilan normal.Teknik pengambilan sampel *Purposive Random Sampling*. Analisis data dengan uji t *independent*, menggunakan SPSS versi 17.00 for Windows.

**Hasil Penelitian:** rerata ekspresi HLA-G pada kelompok *blighted ovum*  $25,85 \pm 8,10$ , sedangkan rerata ekspresi HLA-G pada kelompok kehamilan normal  $44,29 \pm 14,48$ , dengan titik potong 31,89. Uji statistik menggunakan uji t *independent* dengan tingkat keyakinan 95%, di dapatkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ),dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal yang signifikan secara statistik.

**Kesimpulan:** Terdapat perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal yang signifikan secara statistik.

Kata Kunci: HLA-G, *Blighted Ovum*, Kehamilan Normal

## ABSTRACT

Nutria W.P. Anggraini.NIM. S500907024. The Difference of Expression Between *Human Leucocyte Antigen-G* (HLA-G) on *Blighted Ovum* with Normal Pregnancy.Thesis. Postgraduate Program of Surakarta Sebelas Maret University.

**Background:** Early pregnancy failure faced by many pregnant women, and 37,5 % of them is *blighted ovum*. *Blighted ovum* 15% caused by immune system disorder, which caused lack of antibodies that work protect the fetus from maternal immune system. *Human Leukocyte Antigen-G* (HLA-G) plays an important role in immune tolerance semialogenik fetus by the mother. Sufficient of HLA-G caused non-occurrence of maternal immunological response, so the pregnancy goes normal. This study will prove the differences of expression HLA-G in normal pregnancy and *blighted ovum*.

**Objective:** To prove the differences expression of HLA-G between *blighted ovum* with normal pregnancies.

**Method:** The research was taken place at Doctor Moewardi Hospital Surakarta, used analytic observational with cross sectional study approach. Independent variables: HLA-G expression on normal pregnancy and *blighted ovum*, dependent variable, *blighted ovum* and normal pregnancy. The number of sample 32, consisting of 16 samples *blighted ovum*, and 16 samples of normal pregnancy. The sampling technique was Purposive Random Sampling, then data analysed with t independent test using SPSS for Windows version 17.00.

**Result:** The average expression of HLA-G on *blighted ovum* was  $25.85 \pm 8.10$ , whereas in normal pregnancy group at  $44.29 \pm 14.48$ , with cut off point 31.89. Statistical tests with t test and 95% confidence level, get p-value = 0.000 ( $p < 0.05$ ), it can be concluded that there are differences in expression of HLA-G on *blighted ovum* and normal pregnancy which statistically significant.

**Conclusion:** There are differences in expression of HLA-G on *blighted ovum* and normal pregnancy which statistically significant

Keywords: HLA-G, *Blighted Ovum*, Normal Pregnancy

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1.Latar Belakang

*Blighted ovum* atau disebut juga *anembryonic pregnancy*, adalah salah satu kegagalan hasil konsepsi yang terjadi ketika telur yang dibuahi berhasil melekat pada dinding rahim, hanya terbentuk kantong tetapi tidak berisi embrio, terbentuk plasenta dan kulit ketuban, dimana embrio disini terhenti pertumbuhannya dan diserap pada tahap kehamilan dini (Cunningham, 2003). Kegagalan hasil konsepsi dini merupakan masalah tersendiri yang dihadapi banyak wanita hamil. Yang termasuk dalam kriteria kegagalan hasil konsepsi dini antara lain adalah *blighted ovum*, abortus habituais dan *Intra Uterin Fetal Death* (IUFD) (Affandi, 2002).

Prevalensi global kegagalan hasil konsepsi dini adalah sebesar 2,8% dan terjadi pada 10-13 minggu kehamilan, dimana *blighted ovum* merupakan 37,5% dari kegagalan hasil konsepsi dini (Huang, 2010). Sedangkan estimasi nasional menyatakan setiap tahun terjadi 2 juta kasus keguguran di Indonesia. Ini artinya terdapat 23 kasus abortus per 1000 kelahiran hidup pada perempuan usia 15-49 tahun (Rusda, 2003).

Dewasa ini banyak penelitian yang mengembangkan tentang penyebab kegagalan kehamilan dini ditinjau dari kelainan sistem imunologi, khususnya pada proses implantasi embrio. Implantasi yang berhasil pada manusia tergantung pada sistem pengenalan imun terhadap embrio sejak

*commit to user*

dini, dan respon maternal imun terhadap embrio tersebut. Trofoblas adalah satu-satunya sel konseptus yang berkontak langsung dengan darah maternal yang akan membentuk sirkulasi uteroplacental. (Kristy, 2004; Neilson, 2006).

Pada manusia, adanya defek pada penghubung antara janin dan ibu dalam hal ini trofoblas berkaitan dengan berbagai macam penyulit kehamilan seperti preeklamsia, pertumbuhan janin terhambat dan kegagalan hasil konsepsi seperti *blighted ovum*, abortus habituais serta IUFD (Sulistiyowati, 2010).

Penyebab yang pasti dari *blighted ovum* belum diketahui, salah satu penyebabnya adalah kelainan sistem imun, yaitu sebesar 15%, dimana kurangnya antibodi yang bekerja untuk melindungi janin dari sistem imun ibu, yang akan mengenali genetik ayah sebagai benda asing bagi tubuh sehingga ketika sperma menembus ovum, akan dianggap sebagai benda asing, selain itu sperma dan ovum akan mengekspresikan antigen histocompatibility lokus. *Human Leukocyte Antigen-G* (HLA-G) memegang peran dalam toleransi imun semialogenik fetus oleh ibu. HLA-G yang cukup pada trofoblas menyebabkan tidak terjadinya respon imunologis ibu.

HLA-G merupakan molekul MHC kelas Ib non klasik, bersifat monomorfik dan memiliki kemampuan menghambat aktifitas NK Cell dan LGLs desidua, sehingga HLA-G berfungsi untuk melindungi trofoblas dari pengaruh imun maternal atau serangan sitotoksik (Wohl, 2000). Ekspresi HLA-G yang cukup pada trofoblas diperlukan agar trofoblas menginvasi

*commit to user*

desidua dan sistem vaskuler maternal dengan baik sehingga terjadi peningkatan perfusi uterin yang dibutuhkan selama kehamilan. Berkurangnya invasi trofoblas ke dalam desidua dan arteri spiralis berhubungan dengan inisiasi mengalirnya darah ke dalam ruang intervillous, hal ini berhubungan dengan kegagalan kehamilan dan ekspulsi. Pada penelitian ini akan meneliti tentang perbedaan ekspresi HLA-G pada *Blighted ovum* dan kehamilan normal, sehingga dapat memprediksi kegagalan hasil konsepsi secara dini.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal?

## **1.3. Tujuan penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengevaluasi adanya perbedaan ekspresi HLA-G antara kegagalan kehamilan dini dengan kehamilan normal.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

Menganalisa adanya perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Manfaat teoritis**

Adanya perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal dapat dijadikan dasar penelitian lebih lanjut untuk menentukan ekspresi HLA-G pada proses kegagalan hasil konsepsi dini.

*commit to user*

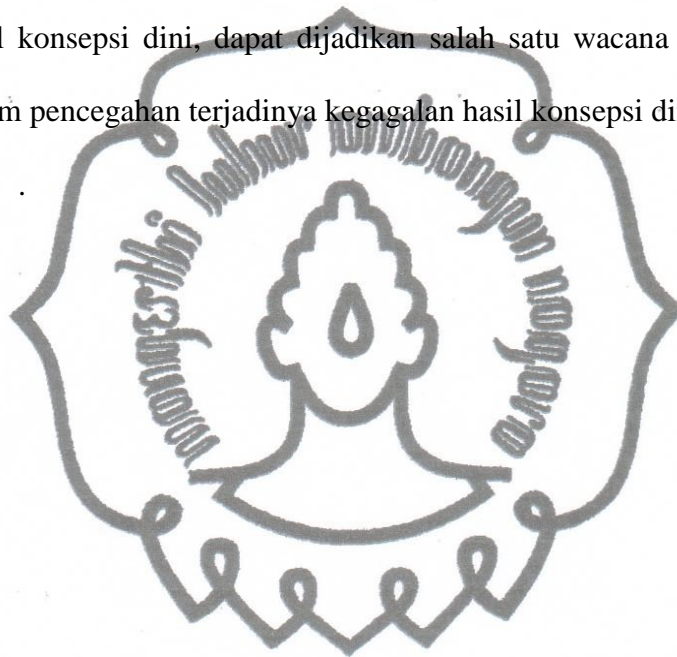


#### **1.4.2. Manfaat Klinis**

Ekspresi HLA-G dapat dijadikan sebagai salah satu prediktor adanya kegagalan hasil konsepsi dini.

#### **1.4.3. Manfaat di Bidang Kedokteran Keluarga**

Ekspresi HLA-G sebagai salah satu prediktor adanya kegagalan hasil konsepsi dini, dapat dijadikan salah satu wacana dokter keluarga dalam pencegahan terjadinya kegagalan hasil konsepsi dini.





## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Blighted ovum*

##### 2.1.1. Definisi

*Blighted ovum* atau kehamilan anembrionik adalah terdapatnya kantong kehamilan intrauterin tanpa adanya janin pada umur kehamilan lebih dari 7,5 minggu (Wiknjosastro, 2008). *Blighted ovum* biasa terjadi pada usia kehamilan 8 minggu sampai 13 minggu (Cunningham, 2003). *Blighted ovum* merupakan bentuk kegagalan kehamilan yang sering ditemukan, mencakup sepertiga dari kasus kegagalan kehamilan dini. Berdasarkan data yang ada, tidak mungkin untuk menyimpulkan apakah tidak adanya embrio merupakan primer dari gangguan perkembangannya atau merupakan akibat sekunder dari kematian embrio setelah implantasi dengan perkembangan plasenta lebih lanjut. Kavum eksokelom yang menetap, tanpa perkembangan embrio dan kantong amnion, digambarkan sebagai gambaran kantong gestasi yang kosong pada pemeriksaan ultrasonografi dan merupakan sumber sinyal biokimia yang penting pada kehamilan dini (Veenstra, 2003; Rusda, 2003).

##### 2.1.2. Epidemiologi

Keguguran merupakan komplikasi obstetrik umum dan mempengaruhi >30% dari hasil konsepsi. Sebagian besar terjadi pada trimester pertama, termasuk didalamnya abortus spontan, *blighted ovum*,  
*commit to user*

atau kehamilan *anembryonic* dan IUFD. Estimasi nasional menyatakan setiap tahun terjadi 2 juta kasus keguguran di Indonesia. Ini artinya terdapat 23 kasus abortus per 1000 kelahiran hidup pada perempuan usia 15-49 tahun (Rusda, 2003).

Sedangkan prevalensi kegagalan kehamilan dini adalah sebesar 2,8% dan terjadi pada 10-13 minggu kehamilan, dimana *blighted ovum* merupakan 37,5% dari kegagalan kehamilan dini, hal ini juga berpengaruh cukup besar untuk risiko berulang pada kehamilan berikutnya (Huang, 2010).

### 2.1.3. Etiologi

Pada masa awal dari kehamilan, ekspulsi spontan dari ovum yang telah dibuahi terjadi akibat terhentinya proses biologis pada embrio atau janin. Terhentinya proses biologis tersebut, merupakan penyebab abortus pada kehamilan dini. Sedangkan pada kehamilan lanjut, terjadinya abortus lebih banyak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Rusda, 2003).

Kegagalan pada kehamilan dini dipengaruhi oleh banyak faktor penyebab, diantaranya kelainan kromosom, kualitas ovum dan sperma yang tidak baik, infeksi seperti TORCH, penyakit kronis (DM, Hipertensi) dan kelainan sistem imun (Norwitz, 2001).

### 2.1.4. Patofisiologi

Proses mengapa terjadi abortus pada *blighted ovum* belum begitu jelas. Pada keadaan hasil konsepsi yang tidak tumbuh, kemungkinan ada suatu informasi yang mengisyaratkan untuk terjadinya pengrusakan pada

*commit to user*

trofoblas yang tidak sempurna atau defek trofoblas. Dari pemeriksaan sitogenetik pada kasus *blighted ovum* terbukti adanya kelainan kromosom sehingga terjadi defek pada trofoblas. Jika merujuk pada teori apoptosis dimana salah satu tujuan apoptosis membunuh sel-sel yang abnormal, patut diduga bahwa adanya kelainan gen ini merupakan pemicu untuk terjadinya proses apoptosis sel trofoblas. Dari suatu penelitian didapatkan juga bahwa rendahnya kadar Bcl-2 sebagai *proto oncogen* yang menghambat terjadinya apoptosis pada *maternal fetal interface* pada kasus-kasus kegagalan kehamilan dini dibandingkan kehamilan normal (Norwitz, 2001; Huang, 2010).

Berkurangnya penetrasi trofoblas ke dalam stroma dan arteri spiralis berhubungan dengan inisiasi mengalirnya darah ke dalam ruang intervillous, hal ini berhubungan dengan kegagalan kehamilan dan ekspulsi. Peredaran darah maternal merupakan salah satu komponen dalam perkembangan dan pemeliharaan kehamilan (Shetty, 2009). Pada suatu penelitian menunjukkan bahwa ada suatu pengurangan vaskularisasi desidua yang secara statistik signifikan pada kasus-kasus *blighted ovum*. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan tersebut adalah hasil dari konseptus yang tidak adekuat, sehingga tidak dapat menyebabkan perubahan yang sesuai pada desidua atau dengan kata lain ada defek pada desidua (Rusda, 2003).

Dengan adanya kematian sel-sel trofoblas maka akan menyebabkan produksi HCG turun. Kondisi ini menyebabkan korpus luteum sebagai

*commit to user*

penghasil progesteron menjadi tidak terpelihara dan akhirnya menyebabkan progesteron turun. Penurunan progesteron ini berperan penting terhadap proses terjadinya abortus (Huang, 2010).

Pada abortus ditemukan juga peningkatan kadar kortisol yang berasal dari peningkatan kadar *Corticotropin Releasing Hormon* (CRH) akibat dari produk kehamilan yang tidak normal. Kemudian CRH akan mempengaruhi hipofisis anterior untuk memproduksi *Adenocorticotropin Hormon* (ACTH) yang selanjutnya mempengaruhi kelenjar adrenal untuk mengeluarkan kortisol. Pada kehamilan kortisol akan memacu aktifitas enzim *17-hidroksilase* yang berfungsi merubah progesteron menjadi estrogen, maka semakin banyak enzim *17-hidroksilase* yang aktif akan terjadi peningkatan kadar estrogen dan penurunan kadar progesterone (Choudhury, 2009).

Selain itu kortisol bersifat kompetitif dengan menempati reseptor progesteron yang ada di sel miometrium. Dengan semakin tinggi kadar kortisol akan semakin banyak kortisol yang menempati reseptor progesteron di uterus dan berakibat menurunnya aktifitas progesteron di miometrium. Penurunan aktifitas progesteron ini menyebabkan kontraksi uterus yang menyebabkan proses abortus (Rusda, 2003).

#### **2.1.5. Faktor Risiko**

Faktor risiko yang berperan terhadap insidensi *blighted ovum* adalah faktor usia, kualitas ovum dan sperma, penyakit kronis yang

diderita sebelumnya, misal: DM, hipertensi, penderita infeksi virus (Winkjosastro, 2008).

Hal-hal yang dapat menyebabkan *blighted ovum*, dikelompokkan menjadi 3 faktor yaitu (Rusda, 2003; Lindsey, 2004; Carr, 2004; Cunningham, 2003; Winkjosastro, 2008):

a. Faktor fetal

Penemuan morfologis yang paling sering terjadi dalam abortus dini spontan adalah abnormalitas dalam perkembangan zigot, embrio fase awal janin, atau kadang-kadang plasenta. Perkembangan janin yang abnormal, khususnya dalam kehamilan dini, dapat diklasifikasikan menjadi perkembangan janin dengan kromosom yang jumlahnya abnormal (aneuploidi) atau perkembangan janin dengan komponen kromosom yang normal (euploidi).

Abnormalitas kromosom sering terjadi di antara embrio dan janin fase awal yang mengalami abortus spontan. Penelitian menyebutkan bahwa 50-60% dari abortus dini spontan berhubungan dengan anomali kromosom pada saat konsepsi, dimana disebutkan sampai 48,9% disebabkan oleh ovum yang patologis.

Hasil konsepsi dengan kromosom normal yang mengalami abortus biasanya akan menghilang belakangan dalam kehamilan. Laporan menyatakan bahwa  $\frac{3}{4}$  abortus aneuploidi terjadi pada atau sebelum kehamilan 8 minggu, sedangkan abortus euploidi mencapai puncaknya sekitar 13 minggu. Insiden abortus euploidi akan

*commit to user*

meningkat secara dramatis setelah usia maternal 35 tahun. Namun sebab-sebab terjadinya peristiwa tersebut belum diketahui secara pasti.

b. Faktor maternal

Penyakit maternal berkaitan dengan abortus euploidi. Peristiwa abortus tersebut mencapai puncaknya pada kehamilan 13 minggu.

Keadaan yang menjadi faktor penyebab adalah :

1) Infeksi

Beberapa infeksi kronis pernah terlibat atau sangat dicurigai sebagai penyebab abortus, diantaranya *Toxoplasma*, Rubella, *Citomegalovirus* (CMV) dan Herpes atau biasa disebut dengan TORCH.

2) Pengaruh Endokrin

Kenaikan insiden abortus bisa disebabkan oleh hipertiroidisme, diabetes mellitus, dan defisiensi progesteron.

Defisiensi progesteron karena kurangnya sekresi hormon tersebut dari korpus luteum atau plasenta, mempunyai kaitan dengan insiden abortus. Karena progesteron berfungsi mempertahankan desidua, defisiensi hormon tersebut secara teoritis akan mengganggu nutrisi pada hasil konsepsi dan berperan dalam peristiwa kematian janin.

3) Faktor Imunologis

Ada dua mekanisme utama pada abnormalitas imunologis yang berhubungan dengan abortus, yaitu: mekanisme alloimun dan

*commit to user*



mekanisme autoimun. Mekanisme autoimun adalah mekanisme timbulnya reaksi seluler atau humoral yang ditujukan kepada suatu lokasi spesifik dalam tubuh hospes. Alogenitas digunakan untuk menjelaskan ketidaksamaan genetik dari spesies yang sama. Janin manusia merupakan cangkakan alogenik yang diterima dengan baik oleh tubuh ibu berdasarkan alasan yang tidak diketahui secara lengkap. Beberapa mekanisme imunologi dilaporkan bekerja untuk mencegah penolakan janin. Mekanisme tersebut mencakup faktor histokompatibilitas, faktor penghambat sirkulasi, faktor supresor lokal dan antibodi antileukositotoksik maternal atau anti paternal. Tidak adanya atau tidak disintesisnya salah satu faktor diatas oleh tubuh ibu menyebabkan terjadinya reaksi imun maternal abnormal yang berbalik melawan antigen dalam plasenta atau dalam jaringan janin lainnya dan mengakibatkan abortus. Hal ini juga dipengaruhi oleh:

a) Gamet yang menua

Baik umur sperma atau ovum dapat mempengaruhi angka insiden abortus spontan. Gamet yang bertambah tua dalam traktus genitalis wanita sebelum fertilisasi, dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya abortus.

b) Kelainan traktus genitalis

Retroversio uteri, myoma uteri, atau kelainan-kelainan bawaan uterus dapat menyebabkan abortus, tetapi hanya retroversio uteri

*commit to user*

gravidu incarserata atau myoma submukosa yang memegang peranan penting.

c. Faktor paternal

Hanya sedikit yang diketahui tentang peranan faktor paternal dalam proses timbulnya abortus spontan. Translokasi kromosom dalam sperma dapat menimbulkan zigot yang mendapat bahan kromosom terlalu sedikit atau terlalu banyak, sehingga terjadi abortus.

#### 2.1.6. Diagnosis

Diagnosis *blighted ovum* berdasarkan pemeriksaan ultrasonografi transvaginal adalah bila ditemukan diameter kantong kehamilan lebih dari 8 mm tanpa adanya yolk sac atau diameter kantong kehamilan lebih dari 16 mm tanpa adanya embrio. Sedangkan dengan ultrasonografi transabdominal bila ditemukan diameter kantong kehamilan lebih besar atau sama dengan 20 mm tanpa yolk sac atau 25 mm tanpa embrio (Rusda, 2003; Lindsey, 2004). Meskipun usia kehamilan dianggap akurat, dianjurkan untuk dilakukan pemeriksaan ulang satu minggu kemudian untuk mencegah kesalahan interpretasi. Tidak adanya perkembangan GS antara 7-14 hari adalah prediktor yang baik untuk non viabilitas. Rata-rata perkembangan GS pada kehamilan yang viabel adalah 0,12 cm/hari, dan hanya 0,025 cm pada *blighted ovum* (Cunningham, 2003).

### 2.1.6. Penatalaksanaan

Secara umum setelah diagnosis *blighted ovum* ditegakkan, dilakukan pengeluaran hasil konsepsi. Pengeluaran dapat dilakukan secara operatif atau medisinalis. Penanganan secara operatif dengan pematangan serviks dilanjutkan kuretase masih merupakan terapi utama, namun demikian dilaporkan bahwa tindakan secara medisinalis lebih ringan biayanya dibandingkan secara operatif, disamping mengurangi risiko anestesi, perdarahan, perforasi uterus, perlengketan intrauteri, trauma pada serviks, rasa tidak nyaman pasien dan dan peningkatan kemungkinan untuk terjadinya kehamilan ektopik. Pengeluaran jaringan hasil konsepsi pada *blighted ovum* merupakan satu tindakan yang tidak lepas dari bahaya karena sebagian besar kasus datang dengan keadaan serviks uteri yang belum membuka sehingga memerlukan tindakan pematangan serviks sebelum kuretase (Geyman, 2003; Cunningham, 2003; Singh, 2003; Blanchard, 2009).

Bila masih tertutup, lebih dahulu dilakukan tindakan dilatasi serviks uteri. Dilatasi serviks uteri sesaat sebelum tindakan kuretase dilakukan dapat dilakukan dengan alat mekanik dengan dilatator Hegar. Risiko perdarahan, trauma serviks dan perforasi uterus dikaitkan dengan tindakan dilatasi serviks secara mekanik tersebut. Alternatif lain yang dapat diambil dari tindakan dilatasi serviks secara manual adalah dengan dilakukannya pematangan serviks sebelum kuretase dengan pemakaian

dilatator higroskopis seperti laminaria dan dengan obat-obatan seperti antiprogesteron dan prostaglandin (Geyman, 2003).

## **2.2. *Human leucocyte Antigen-G (HLA-G)***

### **2.2.1. Definisi**

*Human Leucocyte Antigen-G (HLA-G)* adalah produk dari lokus genetik *Major Histocompatibility Complex (MHC)* yang terletak di lengan pendek kromosom 6. Antigen HLA mayor merupakan elemen penting untuk fungsi imun yang dibagi dalam beberapa kelas, dimana kelas yang berbeda memiliki fungsi yang berbeda pula (Hunt, 2005). Terdapat 17 gen HLA kelas I, yang terdiri dari tiga gen klasik. Tiga gen tersebut adalah HLA-A, HLA-B, HLA-C mengkode antigen transplantasi mayor kelas I (Ia). Tiga gen kelas I (Ib) lainnya, yang disebut HLA-E, HLA-F, dan HLA-G juga mengkode antigen HLA kelas I. Sekuens DNA sisanya tampaknya merupakan pseudogen atau fragmen gen parsial. Antigen HLA yang berhubungan dengan MHC kelas II (DP, DM, DOA, DQ dan DR) menampilkan antigen dari luar *self* ke limfosit T. Antigen ini akan menstimulasi sel T *helper*, dan sel T *helper* ini akan memicu antibodi untuk memproduksi sel B dan menghasilkan antibodi terhadap antigen spesifik tersebut, sedangkan *self* antigen ditekan oleh sel T *suppressor*. HLA memiliki peran lain yaitu sistem pertahanan terhadap penyakit, sistem pertahanan penolakan terhadap transplantasi organ, pelindung terhadap kanker, dan akan gagal melawan kanker bila sistem regulasinya menurun oleh karena infeksi (Venstra, 2003; Tabiasco, 2007).

*commit to user*

HLA-G merupakan antigen spesifik jaringan dengan histokompatibilitas mayor yang diekspresikan pada sel trofoblas ekstravili. HLA-G ekstravili lebih banyak diekspresikan pada fetal atau maternal dalam trimester-I dan berperan penting pada proses implantasi, pada usia kehamilan cukup bulan atau aterm berperan aktif dalam pengikatan antara antigen HLA-G (MHC-klas I) dengan peptida dan (antigen) yang berhubungan dengan transportasi antigen processing (TAP). Molekul ini sangat penting untuk presentasi peptida dari ikatan MHC klas I. HLA-G salah satunya berfungsi sebagai molekul protektus untuk melawan desidual sel NK dan membuat kehidupan trofoblas tetap dapat berlangsung dalam jaringan maternal. HLA-G dapat melindungi trofoblas dari intoleransi imun maternal-fetal dan memungkinkan sel ini menginvasi uterus. Keberadaan antigen kelas I di sitotrofoblas dapat dijelaskan oleh ekspresi sebuah gen tunggal untuk HLA-G. Karena HLA-G bersifat nomerik (atau hampir menyerupai demikian), antigen ini dianggap sebagai bagian dari diri (*self*) sehingga tidak memicu respon imunologis ibu terhadap trofoblas janin yang mengekspresikan HLA-G (Jurisicova, 2003).

### 2.2.2. Fungsi

Sel apapun yang menampilkan beberapa type HLA lain dianggap sebagai non *self* dan akan mengadakan reaksi penolakan jaringan. Seperti halnya pada proses kehamilan, dimana janin yang terjadi akibat pertemuan dua gamet yang berlainan, satu dari pihak ayah dan yang lain dari pihak ibu, sebenarnya merupakan benda asing bagi ibunya. Dari sudut imunologis,

*commit to user*

adanya “benda asing” ini harus ditolak dan dikeluarkan dari dalam tubuh. Namun ternyata, janin dapat diterima oleh sistem imunitas tubuh wanita, walaupun antigen-antigen tersebut tidak pernah menimbulkan forbidden clone selama perkembangan sistem tersebut. Dalam kurun waktu 20 tahun terakhir ini, setelah pengetahuan imunologi sangat meningkat, timbul penemuan dasar dan klinis yang memperlihatkan bahwa respon imunitas pada keadaan-keadaan tertentu, seperti kehamilan, dan abortus (Hunt, 2003; Sulisyowati, 2010).

Setelah sperma berhasil menempuh perjalanan yang cukup jauh di dalam saluran reproduksi wanita, akhirnya bertemu juga dengan ovum di daerah tuba falopi dan terjadilah fertilisasi (Wiknjosastro, 2008). Dilihat dari sudut ilmu kebidanan, maka janin yang dapat dipertahankan selama 36 minggu kehamilan merupakan hal yang normal, sebaliknya dari sudut imunologi, justru hal ini merupakan suatu kejadian alam, sebab telah diketahui bahwa komposisi genetik janin tetjadi dari 2 set kromosom yang berbeda. Ekspresi gen ayah selama perkembangan janin intrauterin menyebabkan janin bersifat alograf terhadap ibunya sendiri. Oleh karena itulah maka, dari sudut imunologi, terjadinya penolakan plasenta dan janin oleh sistem imunitas ibu sehingga terjadi abortus, merupakan keadaan yang seharusnya terjadi. Hal ini disebabkan karena sistem imunitas selular akan timbul terhadap janin yang merupakan benda asing itu (Hunt, 2003; Hviid, 2006).



Dalam kehidupan sehari-hari, keadaan abortus, ataupun kegagalan kehamilan dini (*blighted ovum*, IUFD, dan abortus habitualis), merupakan hal yang tidak lazim ditemukan pada kehamilan. Walaupun berbagai teori dan hipotesis telah diajukan namun belum ada gambaran yang jelas tentang mekanisme yang sebenarnya berlangsung pada tubuh wanita yang hamil itu. Hipotesis tentang uterus merupakan daerah yang bebas sistem imun, saat ini tidak bisa diterima lagi, terutama setelah terbukti bahwa pada binatang percobaan, jaringan yang ditransplantasikan intrauterin akan segera ditolak (Goldman, 2002).

Oleh karena itu timbul dugaan bahwa plasenta merupakan jaringan yang berfungsi sebagai barier anatomis maupun imunologis. Tetapi hipotesis ini pun tidak terbukti oleh karena didalam sirkulasi darah ibu telah ditemukan jaringan trofoblas dan bahkan sebaliknya sel-sel imunokompeten ibu dapat berada di dalam tubuh janin dan menyerang antigen janin tersebut sehingga menimbulkan penyakit. Kemungkinan lain mengapa janin tidak ditolak pada kehamilan normal, ialah bahwa keantigenan plasenta dan janin itu kurang bersifat imunogenis, sehingga sistem imun selular ibu tidak bangkit sama sekali (Berger, 2010).

Penelitian tentang antigen HLA pada sel-sel trofoblas membuktikan keadaan yang sebaliknya, trofoblas ternyata mengandung antigen yang kompeten. Dalam suatu penelitian, terbukti bahwa zat limfokin yang dapat dilepaskan oleh sel-sel limfosit tersensitisasi apabila dirangsang secara in vitro dengan antigen plasenta. Penemuan ini membuktikan secara gamblang

*commit to user*

bahwa transformasi sel limfosit tidak dihambat, bahkan pada eksperimen ini dapat diperlihatkan efek inhibisi zat tersebut terhadap migrasi sel-sel makrofag. Respon imunitas selular terhadap antigen plasenta mulai bangkit pada kehamilan trimester kedua yang makin lama makin meningkat sesuai dengan usia kehamilan. Tetapi mengapa pada kehamilan yang normal, abortus jarang dijumpai, adanya faktor efektor imun ini ternyata merupakan suatu keadaan yang lazim terjadi pada setiap kehamilan. Setiap kali seorang wanita hamil, maka di dalam tubuhnya pasti timbul respon imun terhadap janin yang dikandungnya itu. Hanya alam agaknya telah pula mempersiapkan tubuh wanita itu untuk mempunyai cara-cara tertentu guna menghindari terjadinya abortus akibat respon penolakan secara imunologis (Carosella, 2008; Fanchin, 2007).

Oleh karena itu, perhatian kemudian ditujukan kepada sistem imunitas tubuh ibu pada kehamilan dan cara-cara tubuh menghindar dari mekanisme respon ibu tersebut. Kemungkinan besar dalam keadaan yang istimewa ini, dalam tubuh ibu timbul suatu mekanisme immune depression, yaitu suatu mekanisme tubuh yang menekan sistem imun atau menahan respon yang telah timbul (Goldman, 2002). Hal ini diperkuat oleh penemuan yang membuktikan bahwa hormon-hormon pada kehamilan seperti, *human chorionic gonadotrophin* (HCG) dapat menekan proses-proses transformasi sel limfosit-T yang diinduksi oleh antigen nonspesifik *phytohaemagglutinin* (PHA). Pada keadaan yang sebenarnya kadar HCG selama kehamilan memang tinggi dan mulai merendah diakhir kehamilan, saat itu

*commit to user*

sistem imunitas selular mulai timbul dan persalinan pun terjadi. Selain itu, adapula yang membuktikan bahwa *alfa-fetoprotein*, yaitu faktor serum yang dilepaskan janin, dapat pula menghambat diferensiasi sel limfosit. Disamping itu adapula hipotesis dan teori yang agak ekstrim lagi, disebutkan bahwa sel T yang berkurang sedangkan sel limfosit-B justru meningkat, namun teori ini dibantah dan telah terbukti bahwa justru sel T tidak berkurang (Clark, 2010).

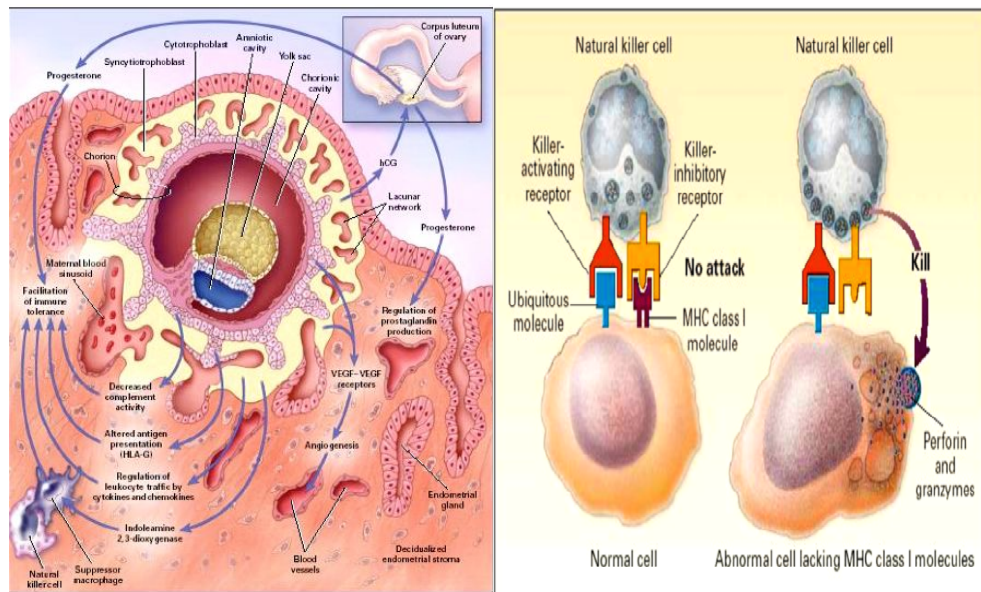
Adanya mekanisme *blocking factor* yang disebabkan oleh suatu faktor plasma yang spesifik diduga kalau faktor ini akan memblok antigen paternal pada plasenta dan janin. Analisa faktor ini lebih lanjut telah dapat dibuktikan bahwa sistem imunitas humoral ibu pada kehamilan juga terbangkit, dan antibodi yang diproduksi ialah jenis blocking antibodi yang termasuk kelas IgG. Oleh karena itu adanya reaksi antigen-antibodi ini, justru akan melindungi alograf plasenta dari serangan sistem imunitas selular (Hunt, 2009; Cecati, 2011).

### **2.3. Ekspresi *Human Leucocyte Antigen-G (HLA-G)* pada *Blighted ovum***

Trofoblas adalah satu-satunya sel konseptus yang berkontak langsung dengan jaringan atau darah ibu, dan jaringan ini secara genetis identik dengan jaringan janin (Cunningham, 2003). Penjelasan lain didasarkan pada berkurangnya responsivitas imunologis ibu hamil. Namun demikian, tidak terdapat bukti tentang hal ini kecuali hanya sebagai faktor pendukung. Penjelasan ketiga, uterus (desidua) diperkirakan sebagai suatu jaringan yang memiliki keistimewaan imunologis. Hal ini membuktikan bahwa imunitas

*commit to user*

transplantasi dapat terpicu dan diekspresikan dalam uterus seperti halnya pada jaringan lain. Dengan demikian, penerimaan dan kelangsungan hidup konseptus haruslah dikaitkan dengan sifat imunologis trofoblas yang unik, dan bukan desidua (Aruna, 2010).



Gambar 2.3.1. Respon imunologi maternal-fetal (dikutip dari Rieger, 2002)

Gambar 2.3.1. menunjukkan implantasi dari embrio 14 hari setelah konsepsi serta terjadinya sistem pengenalan tubuh apakah tubuh maternal akan mentolerir adanya jaringan baru dari hasil konseptus ataukah tidak, proses inilah sangat penting menentukan bertahannya hasil konsepsi tersebut atau tidak (Rieger, 2002).

Respon jaringan ibu yang dapat menerima dan mentoleransi konseptus adalah suatu hal yang masih menimbulkan teka-teki dalam bidang imunologi. Ekspresi sistem HLA di trofoblas, bersama dengan respon limfosit yang khas, dapat memberi penjelasan mengenai hal ini (Emmer, 2002). Veenstra (2002) menambahkan bahwa solusi terhadap teka-teki

alograf janin dapat dijelaskan oleh adanya suatu reaksi imunologis maternal-fetal yang salah satunya melibatkan ekspresi dari HLA.

Gen HLA adalah produk dari berbagai lokus genetik MHC yang terletak di lengan pendek kromosom 6. Terdapat 17 gen HLA kelas I, yang terdiri dari tiga gen klasik. Tiga gen tersebut adalah HLA-A, HLA-B, HLA-C mengkode antigen transplantasi mayor kelas I (Ia). Tiga gen kelas I (Ib) lainnya, yang disebut HLA-E, HLA-F, dan HLA-G juga mengkode antigen HLA kelas I. Sekuens DNA sisanya tampaknya merupakan pseudogen atau fragmen gen parsial (Tabiasco, 2007).

Keberadaan antigen kelas I di sitotrofoblas dapat dijelaskan oleh ekspresi sebuah gen tunggal untuk HLA-G. Karena HLA-G bersifat nomerik (hampir menyerupai), antigen ini dianggap sebagai bagian dari diri (*self*) sehingga tidak memicu respon imunologis ibu terhadap trofoblas janin yang mengekspresikan HLA-G (Menier, 2007). Untuk menjelaskan ekspresi HLA-G, perlu dipahami sifat populasi limfosit pada desidua manusia. *Large Granular Lymphocytes* (LGLs) adalah sel khusus yang diperkirakan sel limfoid, berasal dari sumsum tulang dan merupakan turunan *Natural Killer Cell* (NK Cell). Sel ini terdapat dalam jumlah besar hanya pada fase midluteal siklus pada waktu diharapkan terjadinya implantasi. LGLs ini memiliki fenotipe CD56 atau neural cell adhesion molecule di permukaannya (Rieger, 2002).

Apabila terjadi implantasi blastokista, sel ini akan menetap di desidua selama minggu-minggu pertama kehamilan (Bouteillier, 2002).

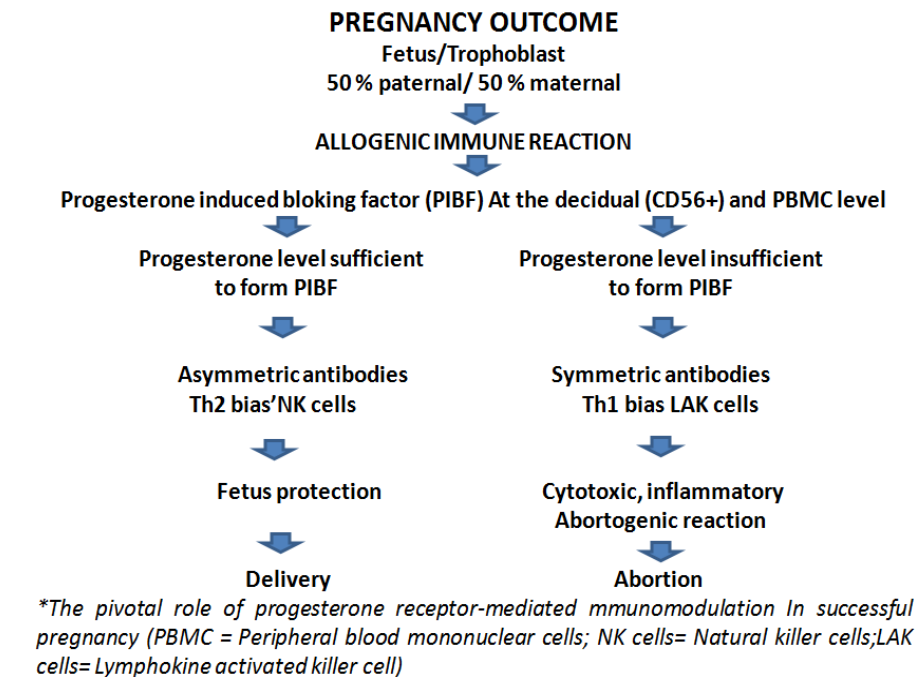
*commit to user*



Diperkirakan bahwa LGLs terlibat dalam pengendalian invasi trofoblas. Peningkatan aktifitas NK *Cell* menyebabkan kegagalan invasi trofoblas. Sel ini mensekresi sejumlah besar granulocyte/macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF), yang mengisyaratkan bahwa LGLs pada desidua trimester pertama berada dalam keadaan aktif. Hal ini mendorong asumsi bahwa GM-CSF mungkin berfungsi terutama bukan untuk mendorong replikasi trofoblas tetapi lebih berperan untuk mencegah apoptosis trofoblas. Menurut teori ini, LGLs yang terutama bertanggung jawab atas ketahanan imunologik pada desidua (Menier, 2007; Bhalla, 2006).

HLA-G merupakan antigen spesifik jaringan dengan histokompatibilitas mayor yang diekspresikan pada sel trofoblas ekstravili. HLA-G dapat melindungi trofoblas dari intoleransi imun maternal-fetal dan memungkinkan sel ini menginvasi uterus. Rendahnya bahkan tidak adanya ekspresi HLA-G mencegah trofoblas menginvasi jaringan maternal dan sistim vaskular dengan benar. Kegagalan invasi ini dapat mengakibatkan defek plasenta yang berakibat adanya penurunan aliran darah utero plasenta (Yie, 2005).





Gambar 2.3.2. Peran progesteron dalam imunomodulasi pada kehamilan

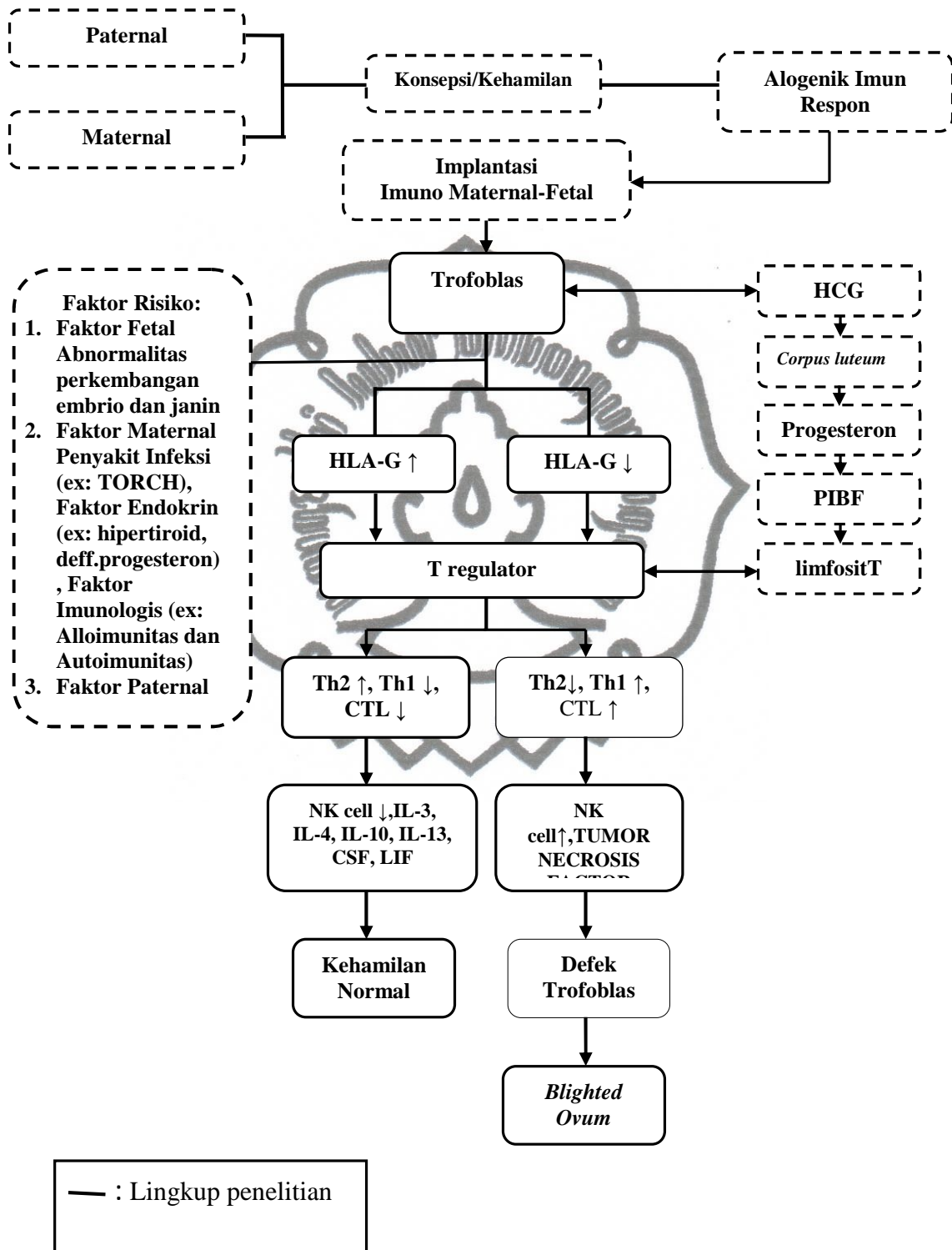
(dikutip dari Emmer, 2002)

Dari gambar 2.3.2. dijelaskan bahwa faktor penentu berhasil atau tidaknya kehamilan merupakan kombinasi unik antara respon dan peran imun maternal serta imun paternal. Selain HLA-G salah satu yang berperan adalah progesteron, dimana kadar progesteron yang cukup akan memperahankan hasil konsepsi yang ada pada kehamilan normal. Pada kadar progesteron yang kurang akan berakibat fatal pada kelangsungan hasil konsepsi. Kadar progesteron yang rendah akan menyebabkan terhambatnya atau rendahnya produksi *Progesterone Induced Blocking Factor* (PIBF) sehingga *Peripheral Blood Mononuclear Cells* (PBMC) meningkat serta terjadi produksi *symetric antibody (cytotoxic)* dimana selanjutnya terjadi ketidakseimbangan sistem imun dengan Th-1 lebih dominan daripada Th-2. Padahal Th-2 sangat potensial untuk menjaga kehamilan dengan ekspresi

sitokin IL-4 dan IL-10. Dengan demikian peranan Th-2 lebih dominan daripada Th-1 untuk menjaga kelangsungan kehamilan. Th-1 memicu pengeluaran sitokin proinflamasi seperti IFN- $\gamma$ , IL-2 dan Tumor Necrosis Factor (TNF- $\alpha$ ) yang akhirnya terjadi reaksi inflamasi pada hasil konsepsi dan terjadilah abortus (Emmer, 2002).

Selama kehamilan, sistem imun ibu mengadakan kontak langsung dengan sel dan jaringan janin yang bersifat semi alogenik. Oleh karena itu, harus terdapat berbagai mekanisme untuk memodulasi dan mengurangi respon sistem imun maternal terhadap stimulus di atas. HLA-G menghambat lisis sel yang diinduksi oleh sel T dan sel NK melalui interaksi langsung dengan reseptor ILT2, ILT4, KIR2DL4 sehingga sel trofoblas yang invasif akan mengekspresikan HLA-Ib pada permukaan selnya dan akhirnya tidak mengalami lisis yang dipicu oleh sel NK. Kuatnya ekspresi HLA-G pada sel trofoblas sangat dominan, dan jika digabungkan dengan ekspresi HLA-E dan HLA-F dalam plasenta akan menghambat terjadinya komplikasi kegagalan konsepsi dini (LeMoult, 2005).

## 2.4. Kerangka Konseptual



**Gambar 2.4** Kerangka konsep

commit to user

### 2.4.1 Keterangan Kerangka Konsep

Setelah terjadinya fertilisasi, hasil konsepsi yang berasal dari maternal dan paternal akan menempel di endometrium dikenal dengan proses implantasi. Konseptus ini yang merupakan jaringan semialograft (membawa antigen ayah) dapat diterima atau ditolak oleh ibu. Hal ini dipengaruhi oleh mekanisme toleransi respon imun ibu, terjadi reaksi imun pada maternal fetal atau allojenik imun respon

Trofoblas merupakan sel konsepsi yang berhubungan langsung dengan jaringan ibu atau darah ibu. Trofoblas secara genetik identik dengan jaringan janin. Trofoblas akan menghasilkan *Human Chorionic Gonadotropin* (HCG) yang fungsinya untuk memproteksi korpus luteum agar tidak mati atau disebut juga korpus luteum graviditatum. Korpus luteum menghasilkan progesteron yang menghasilkan *Progesteron Induced Blocking Factors* (PIBF) di limfosit dan akan menekan proliferasi limfosit yang dipacu mitogen, aktivasi sel-sel NK, dan produksi Tumor Necrosis Factor (TNF) oleh sel-sel NK. PIBF sangat berperan menghasilkan limfosit T (dihasilkan oleh sumsum tulang) diaktivasi dalam thymus menjadi T regulator yang bisa berubah menjadi Th1 atau Th2.

Pada ekstrasvillous sitotrofoblas dihasilkan MHC tipe Ib yaitu HLA-G. Yang apabila kadarnya cukup atau meningkat akan berikatan dengan reseptor KIR2DL4, ILT-2, dan ILT-4 sehingga meningkatkan produksi sitokin Th2 dan menurunkan Th1 dan respon *Alloctotoxic T Lymphocyte* (CTL). Di lain pihak apabila kadar HLA-G kurang akan meningkatkan

*commit to user*

produksi Th1 dan CTL. Efek dari rendahnya HLA-G akan mempengaruhi implantasi, sehingga terjadi lemahnya invasi trofoblas interstisial, serta sedikitnya invasi ke endovaskular

Th2 yang meningkat akan menekan aktivasi sel-sel NK, keluarnya sitokin-sitokin yang menjaga pertumbuhan trofoblas yaitu IL-3, IL-4, IL-10, IL-13 serta *Colony Stimulating Factor* (CSF) dan *Leukimia Inhibiting Factor* (LIF). Apabila ekspresi HLA-G terjaga baik selama kehamilan maka kehamilan dapat berkembang normal.

Th1 yang meningkat akan meningkatkan aktivasi sel-sel NK dan mengeluarkan sitokin-sitokin yang bersifat merusak bagi trofoblas yaitu TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , dan IL-2, keadaan inilah yang akhirnya akan menyebabkan defek pada trofoblas serta terjadi *blighted ovum* (Kristy, 2004; Roussev, 2007; Szmigiel, 2007; Rizzo, 2011).

## 2.5. Hipotesis

Terdapat perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal.

### BAB III

## METODE PENELITIAN

### 3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian.

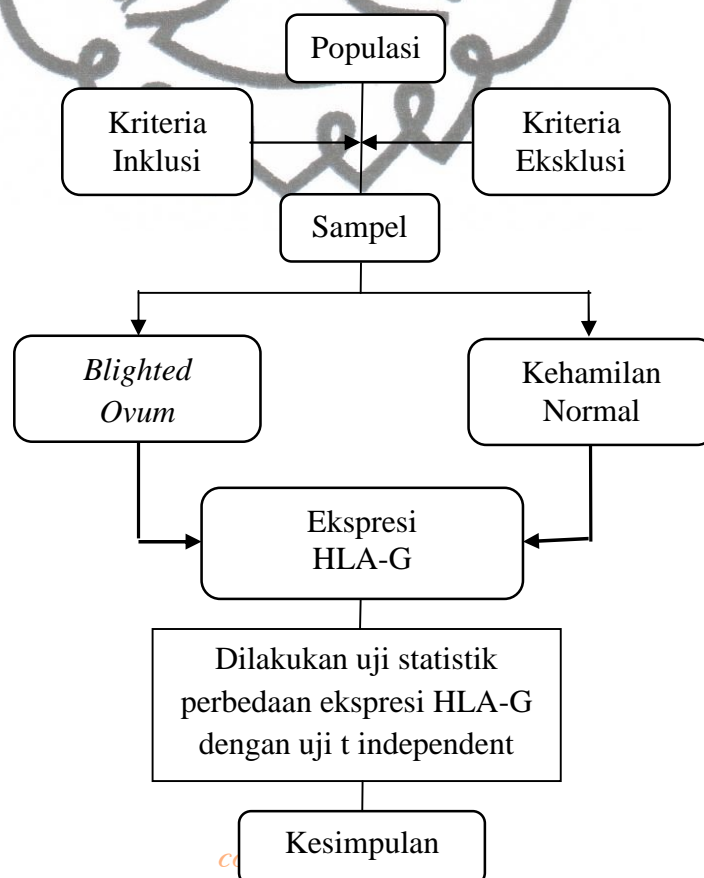
#### 3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini secara observasional analitik.

#### 3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah penelitian potong lintang (*cross sectional study*) dengan pendekatan uji klinis kadar HLA-G pada penderita *blighted ovum* dan kehamilan normal.

Gambar 3.1 : Rancangan Penelitian





Maching: Tinggi badan, berat badan, umur, sistole, diastole, gula darah sewaktu, SGOT, SGPT, Ureum, Hb, dan protein total.

### 3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Sampling dilakukan di Bagian Obstetri dan Ginekologi RSUD Dr. Moewardi Surakarta sejak bulan November 2011 s/d Desember 2011. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UNS Surakarta pada bulan November s/d Desember 2011.

### 3.3. Subjek Penelitian.

Subjek pada penelitian ini adalah penderita *blighted ovum* yang menjalani dilatasi dan kuretase dan kehamilan normal, yang melahirkan pervaginam di kamar bersalin RS Dr Moewardi Surakarta selama bulan November 2011-Desember2011.

#### 3.3.1. Kriteria Inklusi

Kriteria untuk *blighted ovum* adalah:

1. Primigravida
2. Usia kehamilan 10-13 minggu.
3. Usia ibu 16-35 tahun.
4. Berdasarkan pemeriksaan USG tampak kantong gestasi tanpa dijumpai adanya struktur embrio atau *fetal pole*.
5. Bersedia menandatangani lembar persetujuan

Sedangkan kriteria untuk kehamilan normal adalah:

1. Primigravida
2. Wanita hamil berusia antara 16-35 tahun.

*commit to user*

3. Umur kehamilan aterm, janin tunggal, hidup, intrauterin, memanjang, presentasi kepala, tidak ditemukan komplikasi selama persalinan, janin dalam keadaan baik.
4. Bersedia menandatangani lembar persetujuan

### 3.3.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi untuk subjek *blighted ovum* adalah:

1. Mendapatkan terapi progesteron.
2. Menderita hipertensi kronis, penyakit jantung, penyakit ginjal, diabetes mellitus, dan penyakit hati.

Sedangkan kriteria eksklusi untuk subjek kehamilan normal adalah:

1. Menderita hipertensi kronis, penyakit jantung, penyakit ginjal, diabetes mellitus, dan penyakit hati.
2. Ditemukan komplikasi selama kehamilan.

Kelompok kasus adalah subjek dengan *blighted ovum* sedangkan kelompok kontrol adalah subjek dengan kehamilan normal. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara pengambilan jaringan plasenta, sebanyak 16 sampel jaringan penderita *blighted ovum* dan 16 sampel jaringan plasenta kehamilan normal kemudian dilakukan pengecatan dengan teknik immunohistokimia *staining* dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal anti human HLA-G kemudian diamati ekspresinya secara mikroskopik pada 9 lapang pandang. Pada kelompok kehamilan normal, pengambilan sampel jaringan plasenta tidak dihomogenkan dengan umur minggu atau umur kehamilan terjadinya *blighted ovum* (10-13 minggu)

*commit to user*

tetapi saat persalinan berlangsung, hal ini dikarenakan tindakan pengambilan sampel jaringan plasenta merupakan tindakan invasif.

### 3.4. Besar sampel

Rumus untuk menghitung besar sampel untuk rancangan *cross sectional*

adalah:

$$n = \frac{Z_{1-\alpha/2}^2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

Keterangan:

$Z_{1-\alpha/2}$  = Nilai  $Z\alpha$  pada kurva normal (1,96)

p = Prevalensi paparan pada populasi

q = 1-p

d = Presisi absolut (5%)

(Lemeshow, 1990 dalam Murti, 2006)

Dari tinjauan pustaka didapatkan bahwa prevalensi kegagalan kehamilan dini adalah 2,8% dan *blighted ovum* sebesar 37,5% dari kegagalan kehamilan dini (Huang, 2010), maka besar sampel adalah:

$$n = \frac{0,9895 \cdot 0,0105 \cdot (1,96)^2}{(0,05)^2}$$

$$= 15,965 \approx 16 \text{ sampel}$$

Dari rumus tersebut didapatkan besar sampel: 16 sampel untuk tiap kelompok, yaitu 16 sampel untuk kelompok *blighted ovum* dan 16 sampel untuk kelompok kontrol (kehamilan normal).

### 3.5 Variabel Penelitian.

#### 3.5.1 Variabel bebas.

Ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* dan kehamilan normal

#### 3.5.2 Variabel terikat.

*Blighted ovum*, kehamilan normal

### 3.6. Definisi Operasional.

- a. Kehamilan normal adalah kehamilan dimana semenjak hamil sampai melahirkan tidak ada komplikasi.
- b. *Blighted ovum* adalah penderita dengan usia kehamilan 10-13 minggu, dimanaberdasarkan pemeriksaan USG tampak kantong gestasi tanpa dijumpai adanya struktur embrio atau *fetal pole*.
- c. Ekspresi HLA-G ditunjukkan dengan warna merah kecoklatan pada trofoblast.

### 3.7. Prosedur penelitian yang dilakukan

- a. Memilih kelompok penelitian dan kontrol. Kelompok penelitian dan kontrol adalah ibu hamil yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang memeriksakan diri di RSUD Dr. Moewardi Surakarta
- b. Kelompok penelitian adalah kelompok yang di diagnosis dengan *blighted ovum*, serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.
- c. Kelompok kontrol adalah kelompok yang di diagnosis dengan hamil normal, serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.
- d. Kedua kelompok kemudian dilakukan pemeriksaan kadar ekspresi HLA-G di laboratorium Patologi Anatomi FK UNS, ekspresi HLA-G ditunjukkan dengan warna merah kecoklatan pada trofoblast, diperiksa pada 9 lapang pandang, hasil yang ditunjukkan merupakan nilai rerata ekspresi HLA-G dari 9 lapang pandang

*commit to user*

- e. Hasilnya kemudian dilakukan uji statistik perbedaan ekspresi HLA-G dengan uji t independen.

#### 4.8. Alat dan Bahan Penelitian

##### Pembuatan Slide jaringan

##### a. Alat:

- *Cassette tissue*
- Mikrotom
- *Deckglass*
- *Humidity chamber horisontal*
- Mikro pipet 100  $\mu$ l
- PCR tube
- *Beaker glass*
- Poly L-Lysine slides
- *Humidity chamber vertical*
- Mikro pipet 10  $\mu$ l
- Mikro pipet 1000  $\mu$ l
- *Shaker*

##### b. Bahan

- Formalin buffer
- Xylol
- Aquadest
- PBS pH 7,2 - 7,4
- Bloking serum
- Antibodi sekunder: biotin
- Substrat enzim peroksidase: DAB
- Canada balsam
- Alkohol 95%, 80%, 70%, 50%.
- Parafin
- Buffer sitrat pH 6
- Metanol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,3%
- Antibodi primer
- Streptavidin
- Hematoxylin
- Kapas atau tissue

#### 4.9. Cara Kerja

##### a. Pembuatan Slide jaringan

Jaringan trofoblas hasil kurtase atau hasil biopsi difiksasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan formalin buffer minimal selama 2 jam. Masukkan jaringan kedalam *cassette tissue* dan rendam dalam alkohol 50% , 70% , 80%, 95%, kemudian dilakukan clearing menggunakan xylol 3 kali masing masing 60 menit. Kemudian dilakukan proses embedding yaitu direndam dalam paraffin cair dengan titik lebur 58 C pada suhu 45 C dalam incubator selama 24 jam, kemudian dibuat blok paraffin. Keesokan harinya ditempelkan pada holder dan dilakukan pemotongan setebal 4-5 mikron dengan *rotary microtome*. Diletakkan pada slides poly L-lysine selanjutnya diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 1 malam. Dilakukan mounting pada gelas objek dengan gelatin 5%. Gelas objek hasil parafin blok direndam dalam xylol 4 kali masing-masing selama 5 menit. Setelah itu dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolut, 95%, 70%) kemudian dibilas dengan dengan aquadest (H<sub>2</sub>O) selama 5 menit.

##### b. Imunohistokimia HLA-G

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 dua kali selama 5 menit. Tetesi dengan *endogenous peroksidase methanol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,3%* selama 15 menit kemudian bilas dengan air mengalir selama 5 menit dan cuci kembali dengan aquadest selama 5 menit. Cuci kembali dengan menggunakan PBS selama 2 x 5 menit dan tetesi dengan bloking

*commit to user*



serum. Tiriskan, kemudian tetesi dengan monoclonal antibodi HLA-G yang telah disiapkan. Inkubasi pada suhu 4 C selama 18 jam. Cuci dengan PBS kembali selama 2 x 5 menit. Tetesi dengan antibodi sekunder (berlabel biotin) selama 10 menit. Tetesi dengan streptavidin selama 10 menit, cuci dengan PBS selama 2x5 menit kemudian pemberian substrat enzim peroksidase: *dietyl amino benzyn* selama 15 menit. Cuci dengan air selama 15 menit dan tetesi dengan hematoxylin selama 40 detik dan cuci dengan air mengalir selama 10 menit. Mounting, menggunakan entelan dan tutup dengan cover glass. Amati pada mikroskop cahaya. Ekspresi HLA-G ditunjukkan dengan warna merah kecoklatan pada trofoblas

Pengamatan dilakukan sebanyak 9 lapangan pandang. Nilai yang ditampilkan adalah nilai rerata ekspresi HLA-G pada 9 lapang pandang tersebut. Penilaian makna tampilan HLA-G dinyatakan dengan banyaknya sel yang dihitung berdasarkan tampilan positif sel dan intensitas warna dengan inti sel kuning dan sitoplasma keemasan sampai dengan coklat tua pada perbesaran 400x.

#### 4.10. Analisis Data.

Data yang diperoleh dikumpulkan dan dibandingkan kemaknaannya secara statistik menggunakan uji *t independent* dengan menggunakan SPSS versi 17.00 *for Windows*.

## BAB IV

### HASIL DAN ANALISA DATA PENELITIAN

#### 4.1.Data Penelitian

Dua macam data penelitian diperoleh dari penelitian ini, yaitu meliputi:

1. Data penelitian ekspresi HLA-G pada kelompok blighted ovum dan kehamilan normal sesuai dengan rancang penelitian.
2. Data pengendali (tinggi badan, berat badan, umur, sistol, diastol, gula darah, SGOT, SGPT, ureum, creatinin, Hb dan protein total) yang diambil satu kali diawal penelitian, serta karakteristik subjek penelitian.

#### 4.2.Homogenitas Data

##### 4.2.1. Hasil Homogenitas Data Penelitian

Homogenitas data penelitian, yaitu ekspresi HLA-G pada kelompok *blighted ovum* dan kehamilan normal menunjukkan hasil homogen (Lampiran 5).

##### 4.2.2. Hasil Homogenitas Data Kendali

Homogenitas data kendali antara kelompok perlakuan dan kontrol digunakan untuk mengendalikan sampel agar nilai setiap variabel yang diperoleh sesuai yang diinginkan. Variabel data kendali dan hasil uji homogenitas pada kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan hasil homogen (Lampiran 6).

Dari karakteristik subjek penelitian dari kelompok blighted ovum dan kehamilan normal di dapatkan bahwa pada kelompok *blighted ovum* sebaran usia subjek penelitian primigravida kesemuanya di bawah 35 tahun (16 subjek

*commit to user*

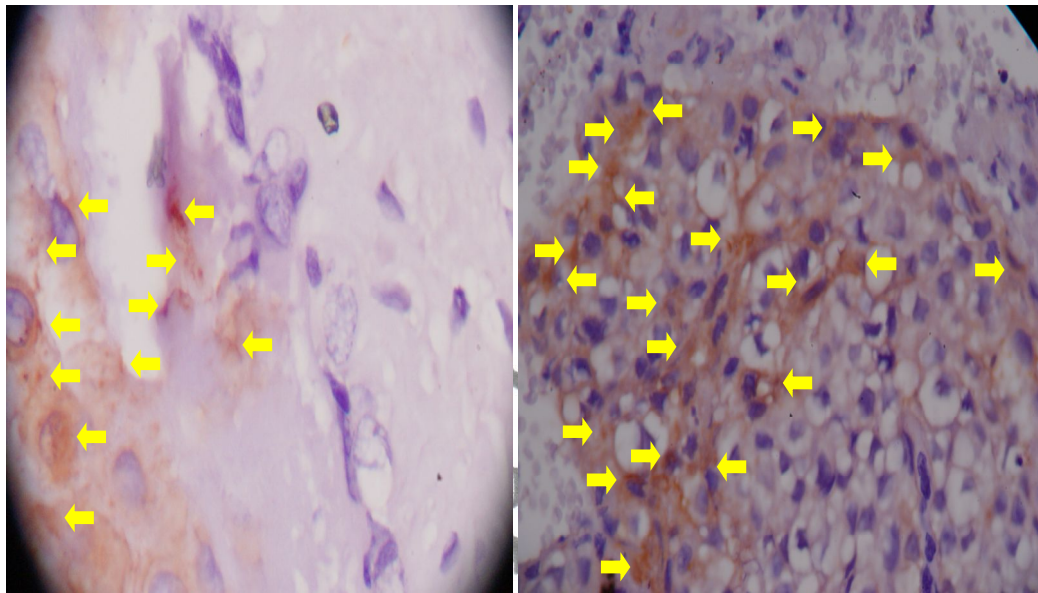
penelitian), pada kelompok kehamilan normal sebaran usia subjek penelitian primigravida kesemuanya juga di bawah 35 tahun (16 subjek penelitian), tidak ada perbedaan pada kedua kelompok. Dari tingkat pendidikan subjek pada kelompok *blighted ovum* di dapatkan sebanyak 7 subjek dengan tingkat pendidikan SMP (43,75 %), 9 subjek dengan tingkat pendidikan SMA (56,25%), pada kelompok kehamilan normal di dapatkan sebanyak 2 subjek dengan tingkat pendidikan SD (12,5 %), 7 subjek dengan tingkat pendidikan SMP (43,75 %), 7 subjek dengan tingkat pendidikan SMA (43,75%), dimana tidak di dapatkan perbedaan yang signifikan antara tingkat pendidikan pada kedua kelompok ( $p = 0,250$ ). Dari pekerjaan subjek pada kelompok *blighted ovum* di dapatkan sebanyak 7 subjek dengan status bekerja (43,75 %), dari pekerjaan subjek pada kelompok kehamilan normal di dapatkan sebanyak 9 subjek dengan status bekerja (56,25%), dimana tidak di dapatkan perbedaan yang signifikan antara pekerjaan subjek pada kedua kelompok ( $p = 0,125$ ). Dari keteraturan siklus haid subjek pada kelompok *blighted ovum* di dapatkan sebanyak 10 subjek dengan status haid tidak teratur (62,5 %), dari keteraturan siklus haid pada kelompok kehamilan normal di dapatkan sebanyak 8 subjek dengan status haid tidak teratur (50 %), dimana tidak di dapatkan perbedaan yang signifikan antara status haid pada kedua kelompok ( $p = 0,492$ ). Dari riwayat kontrasepsi subjek pada kelompok *blighted ovum* di dapatkan sebanyak 2 subjek dengan riwayat memakai kontrasepsi (12,5 %), dari riwayat kontrasepsi pada kelompok kehamilan normal di dapatkan sebanyak 2 subjek dengan riwayat memakai kontrasepsi (12,5 %), dimana tidak di dapatkan perbedaan yang signifikan antara

*commit to user*

riwayat memakai kontrasepsi pada kedua kelompok ( $p = 1,000$ ). Dari riwayat ANC pada kelompok *blighted ovum* di dapatkan sebanyak 7 subjek dengan ANC di dokter Obgyn (43,75 %), dari ANC pada kelompok kehamilan normal di dapatkan sebanyak 6 subjek dengan ANC di dokter Obgyn (37,5 %), dimana tidak di dapatkan perbedaan yang signifikan antara riwayat ANC pada kedua kelompok ( $p = 0,729$ ) (Lampiran 7).

#### **4.3. Perbedaan ekspresi *Human Leucocyte Antigen-G* (HLA-G) pada *blighted ovum* dan kehamilan normal**

Pemeriksaan ekspresi HLA-G pada trofoblast dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia dan menggunakan antibody monoklonal HLA-G. Tampak bahwa HLA-G banyak terekspresi pada trofoblast ekstravilli, yang ditandai dengan warna merah kecoklatan, karena adanya reaksi antigen – antibody antara molekul HLA-G dan antibody monoklonal yang divisualisasi menggunakan DEC (di etil carbazole) sehingga berwarna merah kecoklatan. Tampak bahwa sebaran HLA-G pada jaringan trofoblas *blighted ovum* lebih sedikit dibandingkan dengan kehamilan normal.



Gambar 4.3.1 Ekspresi HLA-G dengan metode imunohistokimia. HLA -G tampak berwarna merah kecoklatan pada sitoplasma trofoblast, dengan menggunakan substrat DEC. Tampak bahwa pada trofoblas *blighted ovum* HLA-G terekspresi lebih sedikit dari pada kelompok kehamilan normal

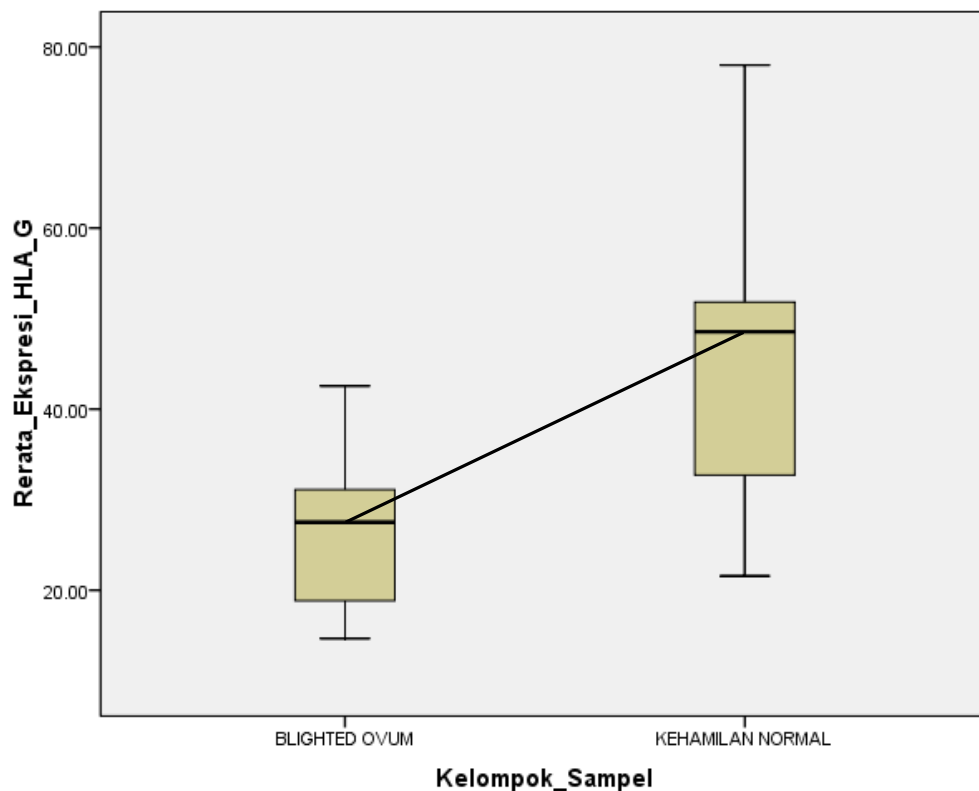
#### 4.4 Hasil Uji Perbedaan ekspresi *Human Leucocyte Antigen-G* (HLA-G) antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal

**Tabel 4.4.1** Perbedaan ekspresi *Human Leucocyte Antigen-G* (HLA-G) antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal.  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ )

Kelompok	Rerata ekspresi HLA-G
Blighted Ovum	$25,85 \pm 8,10$
Kehamilan Normal	$44,29 \pm 14,48$

Dari tabel diatas dilakukan uji statistik, pada penelitian ini menggunakan uji *t independent* (SPSS 17.0 for Windows) dengan tingkat keyakinan 95%, di dapatkan nilai  $p=0,000$  ( $p < 0,05$ ), maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal yang signifikan secara statististik (Lampiran 8).



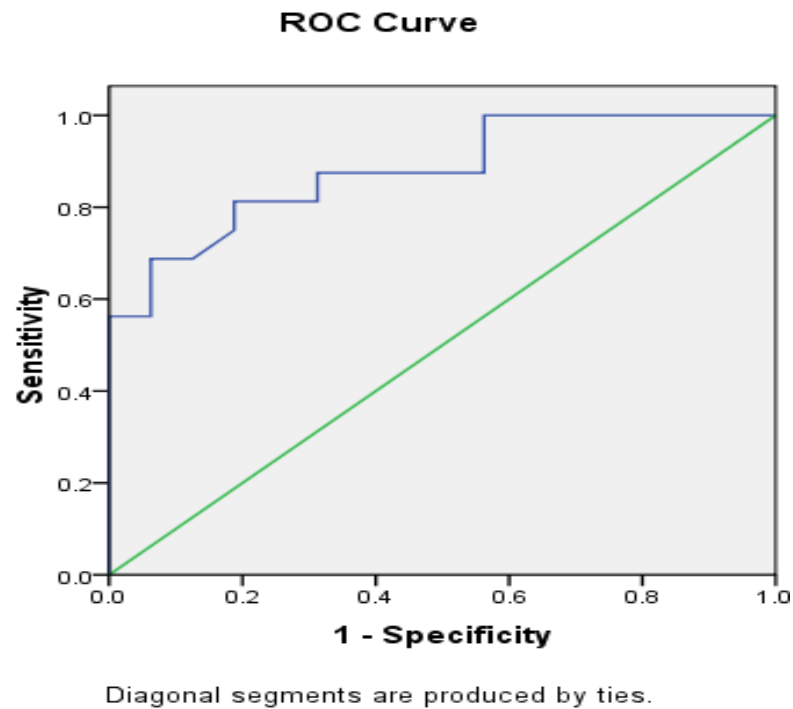


**Diagram 4.4.1** Perbedaan ekspresi *Human Leucocyt Antigen-G (HLA-G)* antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal.  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ )

Dari analisis dengan menggunakan kurva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (*SPSS 17.0 for Windows*) untuk mengetahui nilai kekuatan diagnostik dari ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* dibandingkan dengan kehamilan normal, di dapatkan nilai diagnostik dari ekspresi HLA-G adalah sebesar 0,881 atau 88,1 %, dapat diambil kesimpulan bahwa nilai diagnostik dari ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* adalah baik ( $> 50\%$ ). Dari analisis selanjutnya menggunakan ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (*SPSS 17.0 for Windows*) diperoleh juga titik potong antara ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal adalah sebesar 31,89 dengan sensitivitas sebesar 81,3% dan spesifisitas sebesar 81,3% (Lampiran 9). Artinya jika di dapatkan



nilai ekspresi HLA-G  $\leq 31,89$  dapat merupakan suatu pertanda terjadinya *blighted ovum*, dengan sensitivitas sebesar 81,3% dan spesifisitas sebesar 81,3%.



**Diagram 4.4.2** ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (SPSS 17.0 for Windows) untuk mengetahui nilai kekuatan diagnostik dari ekspresi HLA-G pada *blighted ovum*

## BAB V

### PEMBAHASAN

Penelitian ini adalah penelitian *cross sectional* untuk menganalisis adanya perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal, sehingga diharapkan dapat mengurangi insidensi *blighted ovum*, dengan ekspresi HLA-G sebagai prediktor dini. Upaya untuk mengurangi insidensi *blighted ovum*, dalam penelitian ini yaitu dengan menganalisa atau menjelaskan bagaimana etiopatogenesisnya, khususnya ditinjau dari sisi imunologis yang dapat diungkap pada jaringan trofoblas, yaitu pada proses implantasi pada trimester awal, usia kehamilan 10-13 minggu. Penelitian pada kehamilan normal hanya dapat dilakukan terutama pada trimester akhir, dengan mengambil sel trofoblas setelah persalinan. Pada trimester I dan II terhalang oleh masalah etika karena harus melakukan tindakan invasif untuk mengambil sampel sel trofoblas seperti dengan cara *Chorionic Villi Sampling*. Tindakan ini dapat mengakibatkan keguguran atau persalinan sebelum waktunya (persalinan preterm).

Subjek penelitian pada ibu hamil adalah 32 wanita primigravida usia  $\leq$  35 tahun, hamil aterm, janin tunggal dengan status gizi baik, yang melahirkan di RSUD Dr. Moewardi Surakarta yang terbagi dalam 2 kelompok yaitu 16 orang ibu hamil dengan *blighted ovum* dan 16 orang ibu dengan kehamilan normal.

Pemeriksaan imunohistokimia ekspresi HLA-G pada kelompok *blighted ovum* menunjukkan rerata ekspresi HLA-G sebesar 25,85 dengan simpangan

*commit to user*

deviasi sebedar 8,10 ( $25,85 \pm 8,10$ ), sedangkan pada kelompok kehamilan normal menunjukkan rerata ekspresi HLA-G sebesar 44,29 dengan simpangan deviasi sebedar 14,48 ( $44,29 \pm 14,48$ ).

Dari analisis dengan menggunakan kurva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (*SPSS 17.0 for Windows*) untuk mengetahui nilai kekuatan diagnostik dari ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* dibandingkan dengan kehamilan normal, di dapatkan nilai diagnostik dari ekspresi HLA-G adalah sebesar 0,881 atau 88,1 %, dapat diambil kesimpulan bahwa nilai diagnostik dari ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* adalah baik ( $> 50\%$ ). Dari analisis selanjutnya menggunakan ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (*SPSS 17.0 for Windows*) diperoleh juga titik potong antara ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal adalah sebesar 31,89 dengan sensitivitas sebesar 81,3% dan spesifisitas sebesar 81,3%. Artinya jika di dapatkan nilai ekspresi HLA-G  $\leq 31,89$  dapat merupakan suatu pertanda terjadinya *blighted ovum*, dengan sensitivitas sebesar 81,3% dan spesifisitas sebesar 81,3%.

Dari rerata ekspresi HLA-G kemudian dilakukan uji statistik, pada penelitian ini menggunakan uji *t independent* (*SPSS 17.0 for Windows*) dengan tingkat keyakinan 95%, di dapatkan nilai  $p=0,000$  ( $p < 0,05$ ), maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi HLA-G antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal yang signifikan secara statististik.

Penelitian sebelumnya yang menggunakan ekspresi HLA-G dari jaringan trofoblas pada *blighted ovum* belum pernah diteliti. Pada penelitian sebelumnya di Amerika, Hunt (2000) melakukan penelitian pada kadar soluble HLA-G di

*commit to user*

dalam darah ibu hamil. Penelitian tersebut melibatkan 129 sampel darah ibu hamil dengan berbagai umur kehamilan dibandingkan dengan kelompok kontrol ibu yang tidak hamil. Penelitian menggunakan metode ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), hasilnya ditemukan peningkatan kadar soluble HLA-G pada semua tahap kehamilan jika dibandingkan dengan sampel kontrol ibu yang tidak hamil. Disebutkan bahwa kadar soluble HLA-G pada ibu tidak hamil sebesar  $6,4 \pm 1,1$  %, sedangkan kadar soluble HLA-G pada subjek trimester pertama  $185 \pm 83$  %, trimester kedua  $199 \pm 73$  % dan trimester ketiga  $178 \pm 81$  %, dengan p value perbandingan kadar soluble HLA-G pada ibu tidak hamil dibanding ibu hamil trimester pertama, trimester kedua, dan trimester ketiga ( $p < 0.001$ ), atau dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar soluble HLA-G pada ibu tidak hamil dibanding ibu hamil.

Lebih lanjut penelitian dari Jurisicova et al., (2003) melaporkan percobaan *in vitro fertilitation* (IVF) pada mencit untuk mengetahui hubungan ekspresi HLA-G pada tahap preimplantasi, dimana ekspresi HLA-G ditangkap dengan metode PCR. Hasilnya disebutkan bahwa pada masa preimplantasi (fase cleavage) didapatkan peningkatan ekspresi HLA-G seiring dengan perkembangan cleavage tersebut ( $p < 0,001$ ).

Penelitian lain tentang HLA-G dilakukan oleh Imudia et al., (2009), sebuah *pilot study* dilakukan untuk mengetahui prediktor terjadinya kehamilan abnormal, dimana kehamilan abnormal yang diteliti adalah kehamilan ektopik dan blighted ovum. Sampel diambil dari transervical menggunakan *cytobrush* dan kemudian dilakukan fiksasi spesimen, diberikan anti HLA-G dan diamati

*commit to user*

dibawah mikroskop immunofluorosense. Hasilnya di dapatkan bahwa pada kelompok kehamilan normal frekuensi positif HLA-G pada pengamatan mikroskop immunofluorosense 4 kali lipat lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok kehamilan ektopik dan blighted ovum. Hasil penelitian Imudia et al., (2009) ini senada dengan hasil penelitian perbedaan ekspresi *Human Leucocyt Antigen-G (HLA-G)* antara *blighted ovum* dengan kehamilan normal.

Kegagalan hasil konsepsi dini merupakan masalah tersendiri yang dihadapi banyak wanita hamil, dan salah satu yang termasuk dalam kriteria kegagalan hasil konsepsi dini adalah *blighted ovum* (Affandi, 2002). Penyebab pasti dari *blighted ovum* belum diketahui, salah satu penyebabnya adalah kelainan sistem imun, yaitu sebesar 15%, dimana kegagalan hasil konsepsi terjadi karena kurangnya antibodi yang bekerja untuk melindungi janin dari sistem imun ibu (Roussev, 2007). Kelainan system imun disini khususnya terjadi pada saat proses implantasi dari trofoblas.

Trofoblas adalah satu-satunya sel konseptus yang berkontak langsung dengan jaringan atau darah ibu dan secara genetik jaringan ini identik dengan jaringan janin. Trofoblas mengekspresikan banyak HLA-G, yaitu molekul MHC non klasik klas Ib selama invasinya ke dalam uterus, dimana HLA-G menunjukkan polimorfisme minimal yang melindungi trofoblas terhadap serangan sel NK uterus. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa molekul tersebut memiliki fungsi yang penting dalam mekanisme toleransi imun maternal, dengan mekanisme yang diduga melalui peningkatan produksi suatu *inhibitory immunoglobulin like transcript 4*, suatu reseptor HLA-G yang diekspresikan

*commit to user*

makrofag dan suatu sub grup dari *natural killer lymphocytes* (Norwitz et al,2007)

Pada manusia, adanya defek pada penghubung antara janin dan ibu dalam hal ini trofoblas berkaitan dengan berbagai macam komplikasi kehamilan seperti preeklamsia, pertumbuhan janin terhambat dan kegagalan hasil konsepsi (blighted ovum, abortus berulang dan IUFD) (Sulistyowati,2009)

Pada kehamilan normal trofoblas mengekspresikan banyak HLA-G yaitu molekul MHC non klasik kelas Ib selama invasinya ke dalam uterus. Karena HLA-G bersifat nonerik antigen ini dianggap bagian dari diri (*self*) sehingga tidak memicu respon imunologis ibu terhadap trofoblas janin yang mengekspresikan HLA-G yang cukup. Rendahnya bahkan tidak adanya ekspresi HLA-G akan mempengaruhi implantasi trofoblast, mencegah trofoblas menginvasi jaringan ibu dan sistem vaskuler dengan benar. Kegagalan implantasi ini dapat mengakibatkan defek trofoblast yang berakibat terjadinya *blighted ovum*, serta penurunan aliran darah uteroplasenta sehingga terjadi ekspulsi dan abortus (Martina, 2006).

Ekspresi HLA-G yang rendah di plasenta trimester pertama dalam reaksi limfosit campuran dapat memperbanyak pelepasan sitokin tipe Th1 dan respon alositotoksik limfosit T (CTL) sedangkan konsentrasi HLA-G yang tinggi/cukup menyebabkan peningkatan sitokin tipe Th2 dan penurunan Th1 dan respon CTL. Sel T tipe Th1 yang memproduksi TNF- $\alpha$ , IL-2 dan IFN- $\gamma$  menjadi pengganggu pada kehamilan sedangkan sel T tipe Th2 yang mensekresikan IL-3, IL-4, IL-10, IL-13 dan TNF- $\beta$ 2 merupakan pelindung kehamilan. Penelitian yang dilakukan

commit to user



Yie (2004) dengan melakukan uji reaksi mencampur limfosit invitro bahwa konsentrasi yang tinggi pada HLA-G menghasilkan respon tipe Th2, sebaliknya konsentrasi HLA-G yang rendah menghasilkan respon Th1. Kurangnya/rendahnya HLA-G mungkin mengganggu kemampuannya untuk melindungi unit feto plasenta dari generasi sel T sitotoksik dan atau lisis NK sel (Yie, 2004) Th-2 sangat potensial untuk menjaga kehamilan dengan ekspresi sitokin IL-4 dan IL-10. Dengan demikian peranan Th-2 lebih dominan daripada Th-1 untuk menjaga kelangsungan kehamilan. Th-1 memicu pengeluaran sitokin proinflamasi seperti IFN- $\gamma$ , IL-2 dan TNF- $\alpha$  yang akhirnya terjadi reaksi inflamasi pada hasil konsepsi dan terjadilah abortus (Emmer, 2002).

Respon jaringan ibu yang dapat menerima dan mentoleransi konseptus adalah suatu hal yang masih menimbulkan teka-teki dalam bidang imunologi. Ekspresi sistem HLA di trofoblas, bersama dengan respon limfosit yang khas, dapat memberi penjelasan mengenai hal ini (Emmer, 2002). Veenstra (2002) menambahkan bahwa solusi terhadap teka-teki alograf janin dapat dijelaskan oleh adanya suatu reaksi imunologis maternal-fetal yang salah satunya melibatkan ekspresi dari HLA. HLA-G berperan untuk melindungi trofoblas dari intoleransi imun dan memungkinkan trofoblas untuk menginvasi uterus serta berkembang sebagai kehamilan normal. Kadar HLA-G yang rendah atau bahkan tidak adanya HLA-G akan mencegah trofoblas menginvasi uterus dengan benar dan menyebabkan kegagalan hasil konsepsi.

Hasil penelitian dengan uji *t independent* menunjukkan bahwa pada *Blighted ovum* ekspresi HLA-G lebih rendah daripada kehamilan normal. Hal ini

*commit to user*

menunjukkan bahwa kadar HLA-G yang rendah atau bahkan tidak ada, akan menyebabkan terjadinya respon imun ibu terhadap trofoblas, respon imunologis yang terjadi merangsang aktivasi sitokin proinflamasi dan TNF- $\alpha$  yang mengaktifkan sel T dan NK cell yang akan menyerang sel-sel trofoblas itu sendiri dan terjadilah kegagalan hasil konsepsi dini seperti yang terjadi pada *blighted ovum* (Roussev, 2007; Szmigiel, 2007; Rizzo, 2011).

Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penurunan ekspresi HLA-G dapat mengubah hubungan imun fetomaternal menjadi tidak sempurna dan kejadian tersebut dapat menyebabkan kegagalan hasil konsepsi antara lain *blighted ovum* sehingga HLA-G yang rendah pada trofoblas merupakan prediktor terjadinya kegagalan hasil konsepsi dini.

Pada penelitian ini, sebelum dilakukan penelitian, data dari subjek penelitian yang akan diambil dilakukan matching terlebih dahulu, dari hasil matching data pengendali didapatkan data antara lain: tinggi badan yang diukur menggunakan satuan centimeter dengan batas bawah 140 cm, dari hasil penelitian di dapatkan rata-rata tinggi badan  $157,37 \pm 3,12$  cm, hal ini guna hal ini untuk menyingkirkan faktor kurang gizi, dilihat dari pengukuran BMInya, selain itu juga ditilik dari factor berat badan yang diukur dengan menggunakan satuan kilogram dengan batas 40 kg-90 kg, dari hasil penelitian di dapatkan rata-rata berat badan  $55,71 \pm 4,16$  kg, umur subjek dari hasil penelitian di dapatkan rata-rata  $27,34 \pm 13,59$ , hal ini untuk menyingkirkan kemungkinan adanya penyebab *blighted ovum* dari kelainan kromosom yang biasa terjadi pada usia lebih dari 35 tahun, tekanan darah yang diukur dengan satuan mmHg dimana

commit to user

rata-rata tekanan darah sistol sebesar  $123,43 \pm 6,5$  mmHg, sedangkan tekanan untuk diastole sebesar  $75,93 \pm 4,9$  mmHg, hasil laboratorium lain seperti gula darah, ureum, kreatinin, hemoglobin, dan protein total yang kesemuanya masuk dalam kriteria normal, untuk menyingkirkan kemungkinan adanya penyakit kronis yang diderita sebelumnya secara klinis sehingga di dapatkan data kendali penelitian yang homogen (Lampiran 6). Semua ini dilakukan untuk menghilangkan bias pada penelitian ini.

Dari tabel 5.2.1. tentang karakteristik subjek penelitian di dapatkan usia rata-rata pada kelompok *blighted ovum* adalah  $27,18 \pm 3,77$  tahun sedangkan usia rata-rata pada kelompok kehamilan normal adalah  $27,5 \pm 3,77$  tahun, dengan  $p = 0,819$  ( $p > 0,05$ ), sehingga disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara usia ibu pada *blighted ovum* dan usia ibu dengan kehamilan normal. Dari riwayat pekerjaan di dapatkan sebanyak 56,25 % subjek pada kelompok *blighted ovum* bekerja dan 43,75 % pada kelompok kehamilan normal, dengan  $p = 0,495$  ( $p > 0,05$ ), sehingga disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara pekerjaan pada ibu *blighted ovum* dan hamil normal. Dari riwayat siklus haid di dapatkan sebanyak 62,5 % subjek pada kelompok *blighted ovum* tidak teratur dan 50 % pada kelompok kehamilan normal, dengan  $p = 0,492$  ( $p > 0,05$ ), sehingga disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara siklus haid pada ibu *blighted ovum* dan hamil normal. Dari riwayat ANC di dapatkan sebanyak 43,75 % subjek pada kelompok *blighted ovum* melakukan ANC di dokter ahli obgyn dan 37,5 % pada kelompok kehamilan normal, dengan  $p = 0,729$  ( $p > 0,05$ ), sehingga disimpulkan bahwa

commit to user

tidak ada perbedaan yang signifikan antara ANC pada ibu *blighted ovum* dan hamil normal.

### 5.1. Penemuan Baru

1. Menemukan fakta bahwa terdapat perbedaan antara ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* dan kehamilan normal yang signifikan secara statistik.
2. Didapatkan nilai titik potong ekspresi HLA-G  $\leq 31,89$  dapat merupakan suatu pertanda terjadinya *blighted ovum*, dengan sensitivitas sebesar 81,3% dan spesifisitas sebesar 81,3%.

### 5.2. Kelemahan Penelitian

Tidak diperiksanya pemeriksaan laboratorium lain yang menunjang untuk menunjukkan terjadinya respon imunologis fetomaternal seperti kadar progesteron, PIBF serta tidak dilakukannya pemeriksaan penunjang seperti TORCH untuk menyingkirkan faktor penyebab *blighted ovum* non imunologis.

Pada penelitian ini pengambilan sampel dari jaringan trofoblas ibu juga tidak dapat di homogenkan pada kelompok subjek kehamilan normal sesuai dengan usia kehamilan pada kelompok *blighted ovum*, hal ini dikarenakan tindakan pengambilan sampel dari jaringan trofoblas ibu merupakan tindakan invasif dan berbahaya pada keadaan kehamilan yang sedang berlangsung.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan analisis hasil penelitian dan pembahasannya, maka dapat disimpulkan bahwa pada *blighted ovum* dalam jaringan trofoblas :

- a. Ekspresi HLA-G pada *blighted ovum* berbeda signifikan secara statistik dibandingkan dengan ekspresi HLA-G pada kehamilan normal, dimana dengan pemeriksaan imunohistokimia ekspresi HLA-G pada kelompok *blighted ovum* lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kehamilan normal
- b. Didapatkan nilai titik potong 31,89, sehingga bila didapatkan ekspresi  $HLA-G \leq 31,89$  dapat merupakan suatu pertanda terjadinya *blighted ovum*, dengan sensitivitas sebesar 81,3% dan spesifisitas sebesar 81,3%.

#### 6.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya diperlukan pemeriksaan laboratorium lain yang menunjang untuk menunjukkan terjadinya respon imunologis fetomaternal seperti kadar progesteron, PIBF, dapat pula disertai pemeriksaan penunjang untuk menyingkirkan faktor penyebab non imunologis seperti pemeriksaan TORCH.

Untuk kekurangan pada aspek homogenitas sampel karena tindakan pengambilan sampel dari jaringan trofoblas ibu merupakan tindakan invasif dan berbahaya pada keadaan kehamilan yang sedang berlangsung, dapat dilakukan penelitian dimana selain dilakukan pengambilan jaringan trofoblas dapat disertai dengan pemeriksaan sampel serum sesuai dengan umur kehamilan pada kelompok penelitian, sehingga nantinya dapat diperoleh data yang lebih baik dan lebih representatif.

