

099.041  
PRA  
p el

**PENGARUH INJEKSI INISIAL ADRENALIN DAN  
DIET KUNING TELUR TERHADAP KADAR LIPID,  
JUMLAH SEL BUSA DAN KETEBALAN DINDING AORTA  
ABDOMINALIS TIKUS WISTAR**

*(The effects of initial adrenaline injection and egg yolk dietary to serum lipid levels,  
foam cells and the wall thickness of abdominal aortic of Wistar)*

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK**  
*(A laboratory experimental study)*



Tesis  
untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-2

**Magister Ilmu Biomedik**

Awal Prasetyo  
G4A098002

**PROGRAM PASCA SARJANA  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**Juli  
2002**

TESIS

**PENGARUH INJEKSI INISIAL ADRENALIN DAN  
DIET KUNING TELUR TERHADAP KADAR LIPID,  
JUMLAH SEL BUSA DAN KETEBALAN DINDING AORTA  
ABDOMINALIS TIKUS WISTAR**  
*(The effects of initial adrenaline injection and egg yolk dietary to serum lipid levels,  
foam cells and the wall thickness of abdominal aortic of Wistar)*

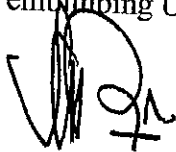
disusun oleh

**Awal Prasetyo  
G4A098002**

telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 4 Juli 2002  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

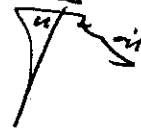
Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing Utama

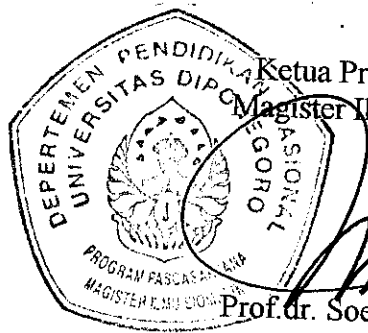


Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp. PA


Pembimbing Kedua



dr. Pudjadi, SU



Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik

  
Prof. dr. Soebowo, Sp. PA

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 4 Juli 2002



Awal Prasetyo  
G4A098002

## RIWAYAT HIDUP

Nama: AWAL PRASETYO  
Jenis kelamin: LAKI-LAKI  
Tanggal lahir: 2 Oktober 1967  
Tempat lahir: Semarang, Indonesia  
Kewarganegaraan: Indonesia  
Status Perkawinan: Menikah dengan Th. R. Mayasari Dewi  
Anak: Cantika ( 7 tahun) dan Kharisma (3,5 tahun)

### RIWAYAT PEKERJAAN ALAMAT KANTOR:

1. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro  
Bagian Patologi Anatomi  
Jl. dr. Sutomo 18 Semarang, Indonesia  
Telp. 62-024-8441270 Faks. 62-024-8441270
  2. Proyek QUE  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro  
Jl. dr. Sutomo 18 Semarang, Indonesia  
Telp. 62-024-8414667 Faks. 62-024-8414667
1. Taman Kradenan Asri Blok H-11 D  
Semarang, Indonesia  
Telp. 62-024-8503635
2. Jl. Wiroto Raya No. 26 Semarang, Indonesia  
Telp. 62-024-7623248  
HP:08122810954  
E-mail: [awalpras@hotmail.com](mailto:awalpras@hotmail.com)

### RUMAH:

### POSISI SEKARANG:

1. Staf Pengajar Patologi Kardiovaskuler di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro(sejak 1999)
2. Tim Sekretariat Proyek QUE Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
3. Wakil Sekretaris Ikatan Dokter Indonesia Cabang Semarang

### RIWAYAT PENDIDIKAN:

#### Sekolah/

<u>Intituti</u>	<u>Lokasi</u>	<u>Ijasah</u>	<u>Bidang Ilmu</u>	<u>Tahun</u>
SD. Dewantara SMP.Domenico Savio	Semarang	Berijasah		1972-1979
SMAN 3 Semarang	Semarang	Berijasah		1979-1982
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro	Semarang	Berijasah		1982-1985
	Semarang	Doctorandus Medicus	Kedokteran Umum	1985-1990

PUBLIKASI:

1. Atlas Saku & Teks Anatomi Manusia Berdasarkan Nomenklatur Internasional (terjemahan), Hipokrates, 1997, ISBN 979-492-092-4 (*single translator*)
2. Penuntun Belajar Obstetri Williams (terjemahan), EGC, 1998, ISBN 979-448 431-8 (*single translator*)
3. Peran Omega-3 Terhadap Penghambatan Aterogenesis, MMI Vol.34 No.4 1999 (penulis utama)
4. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin intra vena (I.V) dan diet kuning telur 'intermitten' MMI Vol.35 No.3 2000 (penulis utama)
5. Catatan Kuliah Kardiovaskuler, Bagian Patologi Anatomi FK-Undip, 2001 (penulis utama)
6. Patologi Hati, Bagian Patologi Anatomi FK-Undip, 2001 (penulis pembantu)
7. Modul Nyeri Dada – Aspek Patologi Anatomik, Bagian Patologi Anatomi FK-Undip, 2001 (penulis utama)
8. Modul Infark Miokard Akut I, BBDM, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang Indonesia, 2001 (penulis pembantu)
9. Catatan Kuliah Kardiovaskuler Bertolak dari Masalah, Bagian Patologi Anatomi FK-Undip, 2001 (penulis utama)
10. Catatan Kuliah Patologi Hati Bertolak dari Masalah, Bagian Patologi Anatomi FK-Undip, 2001 (penulis pembantu)
11. Anatomi & Fisiologi Esensial (terjemahan), EGC, (akan dipublikasikan tahun 2002) (*single translator*)
12. Buku Latihan Anatomi & Fisiologi Esensial (terjemahan), EGC, (akan dipublikasikan tahun 2002) (*single translator*)
13. Pengaruh Diet Kuning Telur Omega-3 dan Kuning Telur Ayam Ras Terhadap Ketebalan Aorta Abdominalis (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar), MMI, Vol. 36 No. 4 Tahun 2001 (peneliti pembantu)
14. Pengaruh Diet Kuning Telur Omega-3 dan Ayam Ras Terhadap Ekspresi Sel Busa di Aorta Abdominalis (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar), MMI, Vol. 37 No. 1 Tahun 2002 (peneliti pembantu)

PENGHARGAAN

1. Pemenang *Project Grant QUE Project Batch III* Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Tahun 2000/2001 (peneliti utama)
2. Pemenang *Lecture Notes of QUE Project Batch III* Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Tahun 2001/2002 (penulis utama)
3. Pemenang *Teaching Grant of QUE Project Batch III* Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Tahun 2001/2002 (penulis utama)
4. Pemenang *Policy study of QUE Project Batch III* Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Tahun 2001/2002 (peneliti pembantu)

RIWAYAT PEKERJAAN (1993-sekarang):

1. Dokter di Klinik Umum Asta Nugraha, Jakarta, Peb-Sept, 1993
2. Dokter di Klinik *off-shore Harvey Ward Rig*, Oktober, 1993
3. Dokter di Klinik *off-shore Toba-I Barge-ship*, Nopember, 1993
4. Dokter UGD RS. Pertamina Balikpapan, Desember, 1993
5. Dokter di Klinik *off-shore Sedco-600*- Balikpapan, Januari, 1994
6. Dokter di Klinik *off-shore Deep Sea Ice Drilling-ship*, Februari, 1994
7. Dokter di Klinik Umum PMI Cabang Semarang, Maret-Oktober 1994
8. Dokter Umum di Puskesmas Poncol (sebagai Pegawai Tidak Tetap Depkes RI), Nopember 1994- Pebruari 1997
9. Staf Pengajar di Fakultas Kedokteran, Bagian Patologi Anatomi, Maret 1997- sekarang
10. Penerjemah lepas pada CV. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta 1997- sekarang
11. Staf sekretaris akademik pada *QUE Project Batch III* FK Undip 1999- sekarang

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
ABSTRAK/INTISARI.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	
1.2. Perumusan Masalah	
1.3. Tujuan Penelitian	
1.4. Manfaat Penelitian	
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. Definisi Operasional Aterosklerosis	
2.2. Faktor Penyebab Aterosklerosis	
2.3. Berbagai Tipe Lesi Aterosklerotik	
2.3.1. Lesi aterosklerotik tipe I	
2.3.2. Lesi aterosklerotik tipe II	
2.3.3. Lesi aterosklerotik tipe III	
2.3.4. Lesi aterosklerotik tipe lanjut (IV, V dan VI)	
2.4. Patogenesis Aterosklerosis	
2.4.1. Patomekanisme yang menginduksi lesi aterosklerotik	
2.4.2. Disfungsi endotel	
2.4.3. Aktivasi dan akumulasi monosit atau makrofag	
2.4.3.1. Interaksi antara sel endotel, monosit dan sel T	
2.4.3.2. Peran monosit dan imunitas	
2.4.4. Aktivasi dan akumulasi miosit	
2.4.4.1. Perbedaan <i>derivasi</i> embrionik miosit	
2.4.4.2. Peranan matriks	
2.4.5. Peranan platelet	
2.5. Faktor-faktor yang Menginisiasi dan Mempromosi Aterogenesis	
2.5.1. Hiperkolesterolemi, lipid dan lipoprotein yang mengalami modifikasi menginisiasi aterogenesis	
2.5.1.1. Potensi LDL-oks dalam menginisiasi aterogenesis	
2.5.1.2. Jalur transport lipid	
2.5.1.3. Peran kolesterol HDL	
2.5.2. Faktor hipertensi	
2.5.3. Stres oksidatif	
2.6. Aterosklerosis dan Penyakit Inflamasi Kronik Lainnya	
2.7. Instabilitas dan Ruptur Plak Ateroma	
2.8. Aspek Genetika Molekuler dan Pandangan Baru Terhadap Pembentukan dan Perkembangan Lesi Aterosklerotik	

BAB 3. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	39
3.1. Kerangka Teori	
3.2. Kerangka Konsep	
3.3. Hipotesis	
BAB 4. METODA PENELITIAN.....	42
4.1. Rancangan Penelitian	
4.2. Populasi dan Jumlah Sampel	
4.3. Variabel Penelitian	
4.3.1. Klasifikasi variabel	
4.3.2. Definisi operasional variabel	
4.3.3. Faktor inklusi	
4.3.4. Faktor eksklusif	
4.4. Alat dan Bahan	
4.4.1. Alat	
4.4.2. Bahan	
4.5. Prosedur Perlakuan Sampel	
4.5.1. Injeksi adrenalin	
4.5.2. Diet kuning telur	
4.6. Prosedur Pemeriksaan dan Pengukuran	
4.6.1. Pengukuran kadar kolesterol total	
4.6.2. Pengukuran kadar kolesterol HDL	
4.6.3. Pengukuran kadar kolesterol LDL	
4.6.4. Pengukuran kadar trigliserida	
4.6.5. Penghitungan jumlah sel busa	
4.6.6. Pengukuran ketebalan dinding aorta abdominalis	
4.7. Tempat dan Waktu Penelitian	
4.8. Prosedur Persiapan Sampel	
4.8.1. Pembuatan ransum pakan	
4.8.2. Aklimatisasi	
4.8.3. Pembagian kelompok dan pemberian perlakuan	
4.8.4. Alur penelitian	
4.9. Analisis Data	
4.9.1. Analisis Deskriptif	
4.9.2. Analisis Anaalitik	
BAB 5. HASIL PENELITIAN.....	53
5.1. Analisis Deskriptif Kadar Lipid	
5.1.1. Kadar kolesterol total	
5.1.2. Kadar kolesterol HDL	
5.1.3. Kadar kolesterol LDL	
5.1.4. Kadar trigliserida	
5.1.5. Jumlah sel busa	
5.1.6. Ketebalan dinding aorta abdominalis	
5.2. Uji Hipotesis	
5.2.1. Kadar kolesterol total	
5.2.2. Kadar kolesterol HDL	

5.2.3. Kadar kolesterol LDL	
5.2.4. Kadar trigliserida	
5.2.5. Jumlah sel busa	
5.2.6. Ketebalan dinding aorta abdominalis	
5.2.7. Uji korelasi <i>Spearman</i>	
BAB 6. PEMBAHASAN.....	66
6.1. Injeksi Adrenalin I.V Meningkatkan Kadar Lipid	
6.2. Injeksi Adrenalin I.V Menambah Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis	
6.3. Diet Kuning Telur (KT) <i>Intermitten</i> Meningkatkan Kadar Lipid	
6.4. Diet Kuning Telur (KT) Menambah Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis	
6.5. Perbedaan Peningkatan Kadar Lipid, Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis pada Injeksi Adrenalin I.V dan Diet Kuning Telur (KT) <i>Intermitten</i>	
6.6. Pengaruh Injeksi Inisial Adrenalin I.V dan Diet KT <i>Intermitten</i> Terhadap Kadar Lipid, Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis	
6.7. Injeksi Inisial Adrenalin I.V dilanjutkan Diet KT <i>Intermitten</i> Sebagai Model Induksi Lesi Aterosklerotik	
6.8. Beberapa Kelemahan Dalam Penelitian	
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....	77
7.1. Kesimpulan	
7.2. Saran	
DAFTAR PUSTAKA.....	80
LAMPIRAN	

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Esa, atas curahan berkat, rahmat serta karuniaNya kepada Penulis, sehingga tesis ini dapat selesai dikerjakan.

Selama proses penyusunan tesis ini, Penulis telah menerima dukungan dan bantuan dari pembimbing, para guru besar, penguji, nara sumber, pimpinan, staf akademik dan administrasi dan mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, untuk itu Penulis mengucapkan terimakasih.

Penghargaan dan ungkapan terimakasih khusus kepada kedua pembimbing; Prof.Dr.dr. Sarjadi, Sp.PA dan dr. Pudjadi, SU, atas perhatian, bimbingan, arahan dan dorongan, serta waktu yang diberikan kepada Penulis, selama proses persiapan proposal, seminar, pelaksanaan penelitian dan ujian, sampai dengan akhir penulisan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada para penguji; Prof.Dr.dr. Ign. Riwanto, Sp.BD, Prof.Dr.dr. Tjahjono, Sp.PA dan drg. Henry Setyawan MSc, atas pertanyaan, diskusi, kritikan dan saran perbaikan, sehingga tesis ini semakin berbobot.

Kepada para nara sumber; Prof.Dr.dr. RRJ. Sri Djoko Moeljanto, Sp.PD.KEnd., dr. Lisyani Suromo, Sp.PK, dr. Parno Widjoyo Sp.FK, dr. Edi Dharmana, PhD; terimakasih banyak atas segala masukan yang memperkaya lingkup pembahasan tesis ini.

Ucapan banyak terimakasih Penulis tujukan kepada Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik pada Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro,

Prof.dr. Soebowo, Sp.PA, atas dorongan semangat, perhatian dan bantuan yang memacu penyelesaian tesis ini.

Rektor Universitas Diponegoro, Direktur Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Dekan dan segenap pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, serta dr. Kasno, Sp.PA (Ketua Bagian Patologi Anatomi FK Undip), dr. Setia Rahardja (mantan Kepala Bagian Biokimia FK Undip), terimakasih atas kesempatan studi, beasiswa dan fasilitas yang telah diberikan kepada Penulis.

Perasaan bangga, ucapan terimakasih dan penghargaan Penulis tujukan kepada para dosen dan staf administrasi pada Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, yang telah mengisi hari-hari belajar dengan penuh perhatian, kesabaran, ketekunan dan rasa kasih sayang.

Ungkapan terimakasih juga Penulis tujukan kepada Direktur Eksekutif Proyek QUE, Prof.dr. Kabulrachman, Sp.KK dan Prof. Fatimah Muis, MSc (Sekretaris Akademik Proyek QUE), yang telah memberikan kelonggaran waktu dan fasilitas, selama Penulis menyelesaikan tesis ini.

Buat dr. Udadi Sadhana MKes, dr. Ika Pawitra MKes dan dr. Hardian, terimakasih banyak atas pinjaman buku-bukunya yang semakin menambah cakrawala keilmuan. Sapaan dan teguran Mas dan Mbak telah menimbulkan inspirasi dan semangat untuk tekun menyelesaikan tesis ini.

Untuk teman-teman mahasiswa Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Diponegoro angkatan 1998, terimakasih atas kepedulian dan kerjasamanya yang padu.

Mbak Didit dan Pak Dukut, terimakasih atas bantuannya selama melaksanakan penelitian.

Anita, Klara, Afrisal, Dewi, Artha, Rakhmat dan Farida, para mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, yang merelakan waktu luangnya untuk melakukan penelitian bersama dengan Penulis.

Bapak Tri Teguh Sabardono dan Mama Regina Soesilowati, terimakasih atas pemeliharaan, kebebasan dan teladan yang diberikan dalam mengatasi masalah kehidupan.

Akhirnya, terimakasih dan permohonan maaf yang tulus kepada isteriku Th. Retno Mayasari Dewi serta anak-anakku H.A. Kusuma Cantika Prasetyo dan Alb. Bintang Kharisma Prasetyo, atas ketabahan, pengertian dan pengorbanan waktu kebersamaan kita.

Semoga Allah Bapa di surga senantiasa memberikan curahan cinta kasih dan berkatNya yang berlimpah, khususnya atas budi baik yang telah diberikan kepada Penulis.

Semarang, 4 Juli 2002

Penulis

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Karakteristik aterosklerosis dan Penyakit Inflamasi Kronik lainnya.....	35
<b>Tabel 2.</b> Pembagian kelompok dan pemberian perlakuan.....	49
<b>Tabel 3.</b> Nilai <i>median</i> dan <i>mean</i> kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan aorta pada kelompok tikus kontrol (Kelompok I), Kelompok II, Kelompok III, Kelompok IV, dan Kelompok V.....	55
<b>Tabel 4.</b> Uji beda kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan aorta antara kelompok I, kelompok II, kelompok III, kelompok IV, kelompok V.....	61
<b>Tabel 5.</b> Koefisien korelasi <i>Spearman</i> antara variabel kelompok perlakuan, HDL, LDL, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis.....	64

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>1. Disfungsi endote (lesi inisial) pada aterosklerosis.....</b>	<b>12</b>
<b>Gambar</b>	<b>2. Pembentukan garis lemak pada aterosklerosis.....</b>	<b>13</b>
<b>Gambar</b>	<b>3. Pembentukan lesi lanjut pada aterosklerosis.....</b>	<b>15</b>
<b>Gambar</b>	<b>4. Mekanisme skematik disfungsi endotel pada aterosklerosis.....</b>	<b>17</b>
<b>Gambar</b>	<b>5. Plak fibrosa tak stabil pada aterosklerosis.....</b>	<b>25</b>
<b>Gambar</b>	<b>6. Jalur transport lipid.....</b>	<b>30</b>
<b>Gambar</b>	<b>7. Fungsi endotel pada vaskularisasi normal dan hipertensi.....</b>	<b>33</b>
<b>Gambar</b>	<b>8. Mekanisme stres oksidatif dan aktivasi/disfungsi endotel mempromosi akumulasi makrofag.....</b>	<b>34</b>
<b>Gambar</b>	<b>9. Diagram alur penelitian.....</b>	<b>50</b>
<b>Gambar</b>	<b>10. Grafik Boxplot Kadar Kolesterol Total.....</b>	<b>53</b>
<b>Gambar</b>	<b>11. Grafik Boxplot Kadar Kolesterol HDL.....</b>	<b>54</b>
<b>Gambar</b>	<b>12. Grafik Boxplot Kadar Kolesterol LDL.....</b>	<b>56</b>
<b>Gambar</b>	<b>13. Grafik Boxplot Kadar Trigliserida.....</b>	<b>57</b>
<b>Gambar</b>	<b>14. Grafik Boxplot Jumlah Sel Busa.....</b>	<b>58</b>
<b>Gambar</b>	<b>15. Grafik Boxplot Ketebalan Aorta Abdominalis.....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Teknik pemberian perlakuan
- Lampiran 2.** Alat dan bahan
- Lampiran 3.** Gambaran mikroskopis sel busa dan zona pengukuran ketebalan dinding aorta
- Lampiran 4.** Analisis statistik

## DAFTAR SINGKATAN

LDL	= <i>Low density lipoprotein</i>
HDL	= <i>High density lipoprotein</i>
NO	= <i>Nitric oxide</i>
PGI <sub>2</sub>	= <i>Prostacyclin</i>
EDHF	= <i>Endothelium-derived hyperpolarizing factor</i>
EDCF	= <i>Endothelium-derived constriction factor</i>
PDGF	= <i>Platelet derived growth factor</i>
FGF 2	= <i>Fibroblast growth factor 2</i>
TGF- $\beta$	= <i>Transforming growth factor-<math>\beta</math></i>
TNF- $\alpha$	= <i>Tumor necrosis factor-<math>\alpha</math></i>
IL	= <i>Interleukin</i>
GMCSF	= <i>Granulocyte macrophage colony stimulating factor</i>
LDL-oks	= <i>LDL teroksidasi</i>
MCSF	= <i>Macrophage colony stimulating factor</i>
PECAM 1	= <i>Platelet-endothelial-cell adhesion molecule 1</i>
ICAM 1	= <i>Intercellular adhesion molecule 1</i>
VCAM 1	= <i>Vascular-cell adhesion molecule 1</i>
MCP 1	= <i>Monocyte chemotactic protein 1</i>
NADPH	= <i>Nicotinamide adenine dinucleotida phospat dehydrogenase</i>
COP	= <i>Cardiac output</i>
Nodus AV	= <i>Nodus atrioventricular</i>
ATP	= <i>Adenosine triphosphat</i>
c-AMP	= <i>3',5'-Cyclic adenosine monophosphat</i>
IGIF	= <i>Interferon-gamma inducing factor</i>
CD18	= <i>Cluster of differentiation</i>
MDCs	= <i>Cysteine-rich proteins</i>
APC	= <i>Antigen-presenting cells</i>
IFN- $\gamma$	= <i>Interferon gamma</i>
HLA-DR	= <i>Human leukocyte antigen-DR</i>
HSP	= <i>Heat shock protein</i>
ROS	= <i>Reactive oxygen species</i>
eNOS	= <i>Endothelial nitric oxide synthase</i>
LRP	= <i>LDL-receptor-related lipoprotein</i>
CETP	= <i>cholesterol-ester transport protein</i>

## ABSTRAK

Aterogenesis akibat hiperlipidemia maupun respon terhadap jejas atau keduanya, masih diperdebatkan. Penelitian ini bertujuan membuktikan bahwa injeksi inisial adrenalin I.V yang dilanjutkan diet KT *intermitten*, meningkatkan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

Penelitian eksperimental *Randomized Post-test Control Group* ini menggunakan 20 tikus Wistar jantan, dibagi acak menjadi 5 kelompok. Empat tikus hanya diberi pakan standar (kelompok I). Kelompok II diinjeksi 0,006 mg adrenalin. Kelompok III diberi diet 10 gram KT. Kelompok IV diinjeksi 0,006 mg adrenalin di hari pertama, dilanjutkan diet KT di hari ke-2 sampai ke-14. Kelompok V diberi diet KT di hari ke-1 sampai ke-13, dan diinjeksi adrenalin di hari ke-14. Pada hari ke-15, dilakukan pemeriksaan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta. Data dianalisis univariat, uji beda *Kruskal-Wallis* dan *Man-Whitney*, kemudian diuji korelasi *Spearman*, setelah menilai normalitas distribusi data dengan uji *Komogorov-Smirnov*.

Rerata kolesterol total ( $p=0,007$ ), LDL ( $p=0,003$ ), trigliserida ( $p=0,006$ ), sel busa ( $p=0,001$ ) dan ketebalan dinding aorta ( $p=0,001$ ) pada kelompok IV paling tinggi dibandingkan kelompok lain. Rerata HDL ( $p=0,002$ ) paling rendah. Uji *Mann-Whitney* kolesterol total kelompok I dengan IV dan V, IV dengan V ( $p<0,05$ ). HDL antara semua kelompok  $p<0,05$ . LDL kelompok I dengan IV ( $p=0,020$ ), I dengan V ( $p=0,020$ ) dan IV dengan V ( $p=0,021$ ). Trigliserida kelompok I dengan IV ( $p=0,019$ ), I dengan V ( $p=0,020$ ), dan IV dengan V ( $p=0,021$ ). Sel busa antara semua kelompok  $p<0,05$ . Ketebalan aorta antara semua kelompok berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Distribusi data pada uji *Kolmogorov-Smirnov* tidak normal, sehingga uji korelasi *Spearman* antara kelompok perlakuan dengan LDL (0,756); kelompok perlakuan dengan sel busa (0,793); dan kelompok perlakuan dengan ketebalan aorta (0,776); antara kelompok perlakuan dengan HDL -0,502; antara HDL dengan LDL -0,667; antara HDL dengan sel busa -0,415 ( $p=0,069$ ); antara HDL dengan ketebalan aorta -0,425 ( $p=0,062$ ); antara LDL dengan sel busa 0,794; antara LDL dengan ketebalan aorta 0,770; antara sel busa dengan ketebalan aorta sebesar 0,968.

Kesimpulan penelitian ini yaitu injeksi adrenalin (kelompok II) dan diet KT (kelompok III) meningkatkan kolesterol total, LDL dan trigliserida, sel busa dan ketebalan dinding aorta, namun menurunkan HDL. Kolesterol total, LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan dinding aorta tikus kelompok II lebih rendah dibandingkan tikus kelompok III, namun HDL-nya lebih tinggi. Adrenalin diteruskan diet KT (kelompok IV) dan diet KT diteruskan adrenalin (kelompok V), meningkatkan kolesterol total, LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan dinding aorta, namun menurunkan HDL. Kolesterol total, LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan dinding aorta tikus kelompok IV lebih tinggi dibandingkan kelompok V, namun HDL-nya lebih rendah. Peningkatan LDL berkaitan dengan penambahan sel busa dan penebalan dinding aorta, sedangkan penambahan sel busa juga berhubungan dengan ketebalan dinding aorta. Peningkatan HDL berhubungan dengan penurunan LDL, serta berkurangnya sel busa dan ketebalan dinding aorta.

## ABSTRACT

The theory of atherogenesis which caused by hyperlipidemia or the response from the injury or both of them are still debating. The aim of the study is to prove of the effects of initial adrenaline injection intravenously with egg yolk dietary to the serum lipid levels foam cells and the thickness of abdominal aortic wall of Wistar.

The randomized post-test control group was chosen as a research design. The object of the study was 20 Wistar, which were divided into 5 groups. All of the groups were treated differently, such as Group I treated with standard diet; Group II injected by 0,006 mg adrenaline; Group III treated with 10 grams egg yolk dietary; Group IV injected by 0,006 mg adrenalin on the first day, followed by egg yolk dietary on the 2<sup>nd</sup>-14<sup>th</sup> days. Groups V fed with egg yolk dietary on the first day until the 13<sup>rd</sup> days, on the 14<sup>th</sup> days, injected with adrenaline, finally on the 15<sup>th</sup> days, the lipid of the serum level, foam cells and the thickness of abdominal aortic wall were measured.

Data were analyzed by Univariate Analysis, Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test for differentiation, followed with Spearman correlations test. If the data were abnormal, Kolmogorov-Smirnof test was used for analyses.

The results of the study showed that mean of total cholesterol ( $p=0,007$ ), LDL ( $p=0,003$ ), triglyceride ( $p=0,006$ ), foam cells ( $p=0,001$ ) and thickness of aortic wall ( $p=0,001$ ) in the group IV were highest than the others. The lowest was the mean of HDL (0,002). Mann-Whitney test for total cholesterol between group I and IV or IV and IV and V ( $p<0,05$ ). HDL between all of the groups  $p<0,05$ . LDL in the group I and IV ( $p=0,020$ ), I and V ( $p=0,020$ ), IV and V ( $p=0,021$ ). Triglyceride in the group I and IV ( $p=0,019$ ), I and V ( $p=0,020$ ), IV and V ( $p=0,021$ ). Foam cells between all of the groups  $p<0,05$ . The thickness of aortic wall between groups was significantly different ( $p<0,05$ ). Data distribution on the Kolmogorov-Smirnov test was abnormally, so Spearman correlations test among groups with LDL (0,756); groups and foam cells (0,793); groups and the thickness of aortic wall (0,776); groups and HDL were 0,502; HDL and LDL were  $-0,067$ ; HDL and foam cells were  $-0,415$  ( $p=0,069$ ); HDL and the thickness of aortic wall were  $-0,425$  ( $p=0,062$ ); LDL and foam cells were 0,794; LDL and the thickness of aortic were 0,770; foam cells and the thickness of aortic wall were 0,968.

The conclusion of the study is adrenaline injection (group II) and egg yolk dietary (group III) was increasing of total cholesterol, LDL, triglyceride, foam cells and the thickness of aortic wall, but decreasing of HDL. Total cholesterol, LDL, triglyceride, foam cells and the thickness of aortic wall in the group II were lowered than group III, but the HDL higher. Adrenaline injection followed with egg yolk dietary (group IV) and yolk dietary followed with adrenaline injection (group V) increasing of total cholesterol, LDL, triglyceride, foam cells and the thickness of aortic wall, but decreasing of HDL. Total cholesterol, LDL, triglyceride, foam cells and the thickness of aortic wall in the group IV higher than group V, but HDL lower. The increasing of LDL has correlation with the addition of foam cells and the thickness of aortic wall, but increasing of foam cells also has correlation with the thickness of aortic wall. The increasing of HDL also has correlation with the decreasing of LDL, and the reducing of foam cells and the thickness of aortic wall.

## BAB 1.

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Aterosklerosis sampai sekarang masih terbukti menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas. Penyebab aterosklerosis adalah pengaruh faktor lingkungan dan genetik atau interaksi kedua faktor itu<sup>1,2,3,4,5</sup>.

Berbagai diskusi tentang patogenesis aterosklerosis telah menyebabkan perkembangan pemahaman. Pengertian aterosklerosis di akhir abad ke-19, seperti yang dikutip oleh Libby dari *Osler's Textbook of Medicine*, adalah merupakan proses degeneratif. Sedangkan Virchow mendefinisikan aterosklerosis sebagai penyakit proliferasif. Pendapat Virchow ditentang Rokitansky, yang menyatakan bahwa aterosklerosis terjadi akibat proses penyembuhan dan resorpsi trombi. Di awal abad ke-20, Anitschkow & Chatalow mengidentifikasi kolesterol sebagai penyebab aterosklerosis dan mempromosi konsep teori insudasi lipid<sup>6</sup>.

Selanjutnya, Sary *et al*, 1984, pertamakali membuktikan bahwa patogenesis aterosklerosis merupakan proses multifaktor yang muncul sejak masa anak-anak, dimana umumnya manifestasi kliniknya muncul di usia dewasa atau lanjut<sup>7,8</sup>. Proses aterosclerosis tersebut melibatkan makrofag yang menjadi sel busa dan ditimbun dalam tunika intima di minggu-minggu pertama kehidupan, sampai akhirnya setelah 30 tahun kemudian menjadi ateroma (Sloop, 1999 dan Napoli *et al.*, 1999)<sup>9,10</sup>.

Peran sel endotel dan makrofag dalam proses aterogenesis telah diduga oleh Faggiatto & Ross (1984), seperti yang dikutip oleh Banning (2002). Pendapat tersebut kemudian berkembang menjadi hipotesis respon terhadap jejas<sup>11</sup>. Namun, patomekanisme keterlibatan sel endotel dan makrofag belum dijelaskan, bahkan pendapat Adam (1982), Bremmelgaard *et al.* (1986) dan Nordestgaard (1992) seperti yang dikutip oleh Constantinides, serta penelitian Taylor (1997) kembali menyatakan bahwa hiperlipidemia akibat diet kolesterol jangka panjang akan menghasilkan deposit lipid dan penebalan dinding arteri<sup>12,13</sup>. Sebaliknya, Ross (1999) menegaskan bahwa aterosklerosis merupakan penyakit peradangan (*inflammatory disease*), bukan akibat peningkatan kadar kolesterol LDL yang berakumulasi dalam dinding arteri<sup>14</sup>. Pendapat Ross didukung Sloop (1999), yang membuktikan terdapatnya sel busa dalam garis lemak (*fatty streak*) tidak menyebabkan peradangan pada lesi<sup>10</sup>. Pendapat yang lebih moderat dikemukakan oleh Constantinides (1994), yang menyatakan bahwa lesi aterosklerotik bisa terjadi akibat adanya hiperlipidemia berat dengan jejas ringan atau hiperlipidemia ringan dengan jejas yang lebih berat, yang dapat diperberat dengan trombosis. Keadaan hiperlipidemia dapat dicapai dengan memberikan diet kuning telur secara *intemitten*, sedangkan jejas arterial dapat ditimbulkan dengan injeksi inisial kalsiferol, *epinephrine* atau kompleks imun<sup>12</sup>. Penelitian Freestone (1997) sejalan dengan pendapat Constantinides, dimana pada pemberian olesan periaortik 0,25 mol/L kalsium klorida pada aorta abdominalis kelinci dengan diet kolesterol tinggi selama tiga minggu, menimbulkan penambahan diameter aorta yang disertai penebalan dan perubahan biokimiawi dinding arteri<sup>15</sup>. Sedangkan,

penelitian Kalayoglu dan Byrne (1998) juga mengungkapkan bahwa peningkatan jumlah sel busa yang bermakna dapat ditimbulkan dengan menginfeksi *Chlamydia pneumoniae*, yang dilanjutkan dengan pemberian kolesterol LDL<sup>16</sup>.

Walaupun berbagai unsur teori aterogenesis telah banyak diketahui, namun berbagai perdebatan pendapat itu masih memunculkan pertanyaan, yaitu; “apakah aterosklerosis terjadi akibat hiperlipidemia atau akibat respon terhadap jejas pada sel endotel, ataukah interaksi antara kedua hal itu”. Beberapa pakar masih beranggapan bahwa teori infiltrasi lipid sebagai penyebab utama aterosklerosis, sedangkan yang lain berpendapat bahwa aterosklerosis terutama terjadi akibat respon terhadap jejas, ataukah keduanya berpartisipasi dalam patogenesis aterosklerosis<sup>12,13,14,15,16</sup>.

Seperti diketahui bahwa akibat keterbatasan penelitian klinis, maka banyak penelitian aterosklerosis dilakukan dengan menggunakan model binatang, terutama kelinci yang merupakan model *herbivora* pertama untuk studi aterosklerosis. Namun, Taylor (1997) menyatakan bahwa untuk mendapatkan dan membiakkan kelinci tidak mudah dan murah, sehingga perlu dicari alternatif hewan lain<sup>13</sup>. Sedangkan, Shih (1995) dan Smith (2001) berpendapat bahwa pemakaian hewan coba harus mempertimbangkan aspek teori, kebutuhan praktis, kemudahan mendapatkan, kemampuan adaptasi terhadap berbagai teknik perlakuan dan prinsip ‘*the three Rs*’ (*replacement, reduction, and refinement*)<sup>17,18</sup>. Fazio S. (2001), menambahkan bahwa model tikus yang merupakan makhluk *omnivora* seperti manusia, terbukti amat berguna untuk mempelajari aterosklerosis<sup>19</sup>.

Penelitian ini mengacu pendapat Constantinides (1994) dan penelitian Freestone (1997), dengan menggunakan injeksi inisial adrenalin intra vena (I.V) yang dilanjutkan asupan diet kuning telur *intermittent* untuk menghasilkan bercak atheroma dalam waktu dua minggu<sup>12,15</sup>. Pemberian adrenalin dimaksudkan untuk menimbulkan stres pada tikus, yang dianalogikan dengan situasi yang bisa terjadi dalam kehidupan manusia. Adrenalin dapat memicu lipolisis dan aktivitas adrenergik, serta mempengaruhi aktivitas renin plasma, meningkatkan kadar katekolamin dan angiotensin darah, sehingga menaikkan tensi serta mengubah hemodinamik aliran darah. Perubahan hemodinamik akan memicu berbagai patomekanisme aterosklerosis<sup>20,21,22,23</sup>. Everson et al. (1997) mendukung fakta ini, dan melaporkan bahwa terdapat interaksi yang bermakna antara beban kerja yang menginduksi stres dengan bertambahnya ketebalan arteri<sup>24</sup>. Diet kuning telur dianalogikan dengan kebiasaan makan tinggi lemak, dimana Taylor (1997) juga telah membuktikan bahwa pemberian kuning telur dapat menimbulkan lesi aterosklerotik<sup>13</sup>. Pertama-tama, adrenalin dan kuning telur menyebabkan jejas serta perubahan molekuler endotel aorta, kemudian terjadi perubahan morfologik yang berpengaruh pada ketebalan dinding aorta<sup>15,20</sup>.

Deteksi berbagai perubahan yang terjadi pada aorta dapat dilakukan pada setiap tingkatan, namun tergantung ketersediaan dan sensitivitas alat yang digunakan. Teknik imunohistokimia dan pemeriksaan ultrastruktur, mampu mendeteksi perubahan yang terjadi dalam periode menit atau jam setelah terjadinya jejas pada sel endotel, sedangkan pemeriksaan kimia darah dan histopatologi hanya mendeteksi

perubahan setelah beberapa hari atau minggu<sup>25,26</sup>.

Perlakuan dalam penelitian ini diharapkan dapat menimbulkan lesi aterosklerotik tipe I (lesi inisial) yang merupakan perubahan terdini dan pertamakali bisa dideteksi secara mikroskopik dan kimiawi, ditandai dengan penambahan jumlah sel busa di tunika intima serta penebalan tunika intima. Seperti diketahui bahwa tunika intima merupakan tempat terdapatnya sel-sel endotel dengan lapisan permukaan yang bersifat non trombotik (mengandung asam sialat) dan secara fenotipik dapat mengalami perubahan yang amat cepat.<sup>14,27</sup>

Penelitian untuk menimbulkan lesi aterosklerotik aorta abdominalis tikus dengan injeksi adrenalin I.V pada permulaan perlakuan (inisial), dilanjutkan pemberian kuning telur secara berselang (*intermitten*) dan tikus dengan diet kuning telur *intermitten* dilanjutkan injeksi inisial adrenalin I.V belum pernah dilakukan<sup>12,13,14,15,16</sup>. Penelitian ini diharapkan dapat memperjelas patogenesis aterosklerosis. Penggunaan tikus Wistar mempertimbangkan aspek-aspek yang dikemukakan Shih, Taylor, Fazio dan Smith<sup>13,17,18,19</sup>. Pada minggu kedua, dilakukan pengukuran kadar lipid serum darah, jumlah sel busa (*foam cells*) dan ketebalan dinding aorta abdominalis. Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan menunjukkan adanya kecenderungan perubahan kadar lipid dan penebalan dinding aorta abdominalis yang lebih besar pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol<sup>28,29,30,31,32</sup>.

## 1.2. Perumusan Masalah

- a. Apakah injeksi inisial adrenalin I.V berpengaruh terhadap kadar lipid (kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL dan trigliserida) serum darah, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, dibandingkan tikus tanpa perlakuan (kelompok kontrol)?
- b. Apakah diet kuning telur *intermitten* berpengaruh terhadap kadar lipid serum darah, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, dibandingkan tikus tanpa perlakuan (kelompok kontrol)?
- c. Apakah kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V lebih besar dibandingkan dengan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten*?
- d. Apakah injeksi inisial adrenalin I.V yang dilanjutkan dengan diet kuning telur *intermitten* berpengaruh terhadap kadar lipid serum darah, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, dibandingkan tikus tanpa perlakuan (kelompok kontrol)?
- e. Apakah diet kuning telur *intermitten* yang dilanjutkan dengan injeksi adrenalin I.V berpengaruh terhadap kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar, dibandingkan tikus tanpa perlakuan (kelompok kontrol)?
- f. Apakah kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan dilanjutkan dengan diet

kuning telur *intermitten* lebih besar dibandingkan dengan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten* dan dilanjutkan injeksi adrenalin I.V?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa injeksi inisial adrenalin I.V yang diteruskan pemberian diet kuning telur *intermitten* berpengaruh terhadap kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui pengaruh injeksi inisial adrenalin I.V terhadap kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- b. Mengetahui pengaruh pemberian diet kuning telur *intermitten* terhadap kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- c. Mengetahui apakah kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diinjeksi adrenalin I.V. lebih besar dibandingkan dengan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten*.
- d. Mengetahui pengaruh injeksi inisial adrenalin I.V yang diteruskan pemberian diet kuning telur *intermitten* terhadap kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

- e. Mengetahui pengaruh diet kuning telur *intermitten* yang diteruskan injeksi adrenalin I.V terhadap kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- f. Mengetahui apakah kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan diberi diet kuning telur *intermitten* lebih besar dibandingkan dengan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten* dan dilanjutkan injeksi adrenalin I.V.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Usulan penelitian ini diharapkan dapat memperjelas sebab terjadinya aterosklerosis dan bermanfaat sebagai alternatif model perlakuan untuk menimbulkan lesi aterosklerotik.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Definisi Operasional Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah perubahan dinding arteri yang ditandai akumulasi lipid ekstrasel, *recruitment* dan akumulasi leukosit, pembentukan sel busa, migrasi dan proliferasi mioisit, deposit matriks ekstrasel (misalnya; kolagen, kalsium), akibat pemicuan multifaktor berbagai patomekanisme yang bersifat kronik progresif, fokal atau difus, bermanifestasi akut maupun kronis, serta menimbulkan penebalan dan kekakuan arteri<sup>6,10,12,14,15,17,18,27</sup>.

### 2.2. Faktor Penyebab Aterosklerosis

Aterosklerosis disebabkan oleh pengaruh faktor genetik serta intensitas dan lama paparan faktor risiko lingkungan (hemodinamik, metabolik, kimiawi eksogen, infeksi virus dan bakteri, faktor imunitas dan faktor mekanis), dan atau interaksi berbagai faktor tersebut<sup>12,14,20,24,33,34</sup>.

Perubahan hemodinamik (misalnya di daerah percabangan, resirkulasi, perlambatan dan perpotongan aliran darah), dapat mempertebal tunika intima atau menimbulkan plak ateroma<sup>33,34</sup>.

Faktor metabolik yang mempengaruhi proses aterogenesis meliputi; gaya hidup dan kebiasaan makan berkadar kolesterol tinggi, peningkatan konsentrasi asam empedu, *diabetes mellitus*, homosisteinemi, peningkatan kadar katekolamin dan angiotensin, peningkatan kadar kalsium dan defisiensi magnesium maupun tembaga. Peningkatan kadar homosistein familial atau akibat defisiensi kronis

methionin, dapat merusak endotel lewat stres oksidatif, meningkatkan adesi, agregasi trombosit dan produksi kolagen, serta menyebabkan fibrinolisis abnormal dan menurunkan jumlah NO. Peninggian konsentrasi katekolamin dan angiotensin akibat pemacuan farmakologis dan fisiologis (kondisi aksi atau potensiasi adrenergik) yang terus-menerus dalam lingkungan berkadar natrium dan aldosteron tinggi, juga mempromosi terjadinya aterosklerosis<sup>14,34,35,36,37,38,39,40</sup>.

Sindrom koroner akut dapat segera muncul pada orang yang mengalami stres mental ekstrim, disertai peninggian kadar katekolamin serum (Owa, 2001)<sup>41</sup>. Bahkan menurut Diez Roux AV. et al. (2001), suasana kehidupan ditengah tetangga yang tidak harmonis, berhubungan dengan peningkatan insidensi penyakit jantung koroner<sup>42</sup>. Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa stres dapat meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, sehingga menghambat penyembuhan luka<sup>43,44,45</sup>. Marucha (1998) juga menegaskan bahwa stres *transien*, dapat menghambat proses penyembuhan<sup>46</sup>.

Peningkatan kadar kalsium dan defisiensi magnesium maupun tembaga dapat menyebabkan aterosklerosis<sup>12</sup>, dan penambahan magnesium pada air minum dapat menghambat aterosklerosis (Sherer Y. et al, 1999)<sup>47</sup>.

Bahan kimiawi eksogen (misalnya; nikotin, endotoksin, alkaloid krotalaria, besi dan sianida) merupakan faktor risiko aterosklerosis<sup>12,48</sup>.

Peningkatan titer antibodi terhadap mikroorganisme pada lesi ateroma merupakan prediktor terjadinya infark miokard<sup>10</sup>. Virus *coxsackie B* dan virus herpes simplek dapat menyebabkan nekrosis miosit arteri serta menghambat perlekatan, penyebaran dan migrasi endotel menuju matriks protein membrana

basalis (fibronectin, laminin dan kolagen tipe IV), sehingga memacu terjadinya aterosklerosis<sup>12,49</sup>. *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae* dan *Cytomegalovirus*, juga bisa menimbulkan infeksi atau transformasi miosit atau endotel<sup>49,50</sup>.

Kompleks antigen antibodi yang diinisiasi oleh masuknya antigen asing ke dalam tubuh, dapat menjejaskan endotel melalui cara reaksi silang dengan dinding arteri maupun langsung merusak dinding arteri<sup>12</sup>.

Kompresi, obstruksi dan destruksi, misalnya pada tunika adventitia kelenjar limfe aorta akibat fibrosis periaortik, merupakan risiko mekanis yang memungkinkan terhentinya aliran limfatik yang dapat menjejaskan endotel dan mempromosi aterogenesis<sup>12</sup>.

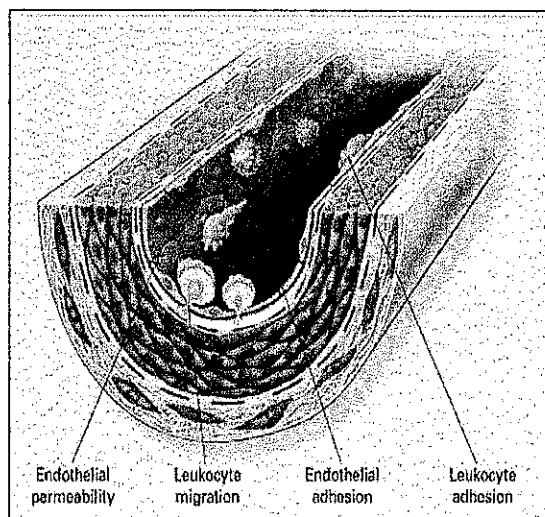
### 2.3. Berbagai Tipe Lesi Aterosklerotik

Lesi aterosklerotik, terutama terjadi pada arteri elastis berukuran sedang dan besar serta arteri muskularis, dapat menimbulkan iskemi jantung, otak atau ekstremitas yang menyebabkan terjadinya infark. Lesi aterosklerotik bisa terjadi sepanjang kehidupan manusia, bahkan Napoli (1997) berpendapat bahwa pembentukan *fatty streak* (garis lemak) sudah terjadi selama masa pertumbuhan janin<sup>14,27,51,52,53</sup>.

*The American Heart Association Committee on Vascular Lesions* menentukan klasifikasi baru perkembangan lesi aterosklerotik menjadi 6 (enam) fase. Sistem klasifikasi ini mengkaitkan fase klinik evolusi plak dengan tipe lesi yang tampak secara patologis, sehingga klinisi dan peneliti mempunyai kesamaan pandangan dan pemahaman tentang proses aterogenesis<sup>14,27,52,53</sup>.

### 2.3.1. Lesi aterosklerotik tipe I

Lesi aterosklerotik tipe I (lesi inisial) memperlihatkan perubahan paling dini yang pertamakali bisa terdeteksi secara mikroskopik dan kimiawi. Secara seluler ditandai dengan penambahan sejumlah sel busa di tunika intima arteri dan penebalan adaptif tunika intima, terutama di regio yang mudah terkena<sup>14,27,52</sup>.



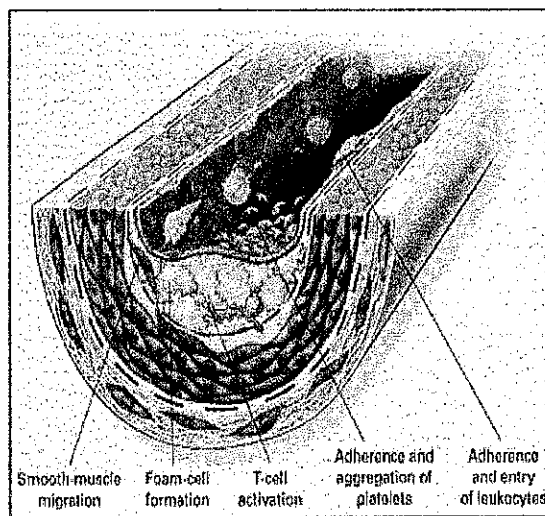
Gambar 1. Disfungsi endotel (lesi inisial) pada aterosklerosis<sup>14</sup>

### 2.3.2. Lesi aterosklerotik tipe II

Lesi tipe II (garis lemak), merupakan lesi yang pertamakali bisa dilihat dengan mata telanjang, berupa garis-garis, bercak atau bintik berwarna kuning di permukaan intima arteri. Namun, gambaran mikroskopis yang memperlihatkan bahwa lesi aterosklerotik dikategorikan dalam lesi tipe II, tidak semuanya menampakkan adanya garis lemak, sehingga penentuan lesi tipe II adalah dengan melihat komposisi mikroskopiknya. Gambaran mikroskopis lesi aterosklerotik

tipe II terdiri atas; sel busa berlapis, miosit berisi butiran lemak, sejumlah besar makrofag tanpa butiran lemak, sel limfosit T dan sel mast di tunika intima, disertai butiran heterogen lipid ekstrasel<sup>14,27,52</sup>.

Garis lemak mulanya terdiri atas makrofag, monosit dan limfosit T yang mengandung lipid (sel busa). Selanjutnya, sel-sel tersebut bergabung dengan sejumlah sel miosit. Tahapan pembentukan garis lemak (Gambar 2) meliputi; 1) migrasi miosit yang distimulasi oleh PDGF, FGF 2 dan TGF- $\beta$ , 2) aktivasi sel T yang diperantarai oleh TNF- $\alpha$ , IL-2 dan GMCSF, 3) pembentukan sel busa yang diperantarai oleh LDL-oks, MCSF, TNF- $\alpha$ , IL-1, 4) aderensi dan agregasi platelet yang dirangsang oleh integrin, P-selektin, fibrin, tromboksan A2, faktor jaringan dan faktor lain yang bertanggungjawab terhadap aderensi dan migrasi lekosit<sup>14,27,52</sup>.



**Gambar 2.** Pembentukan garis lemak pada aterosklerosis<sup>14</sup>

### 2.3.3. Lesi aterosklerotik tipe III

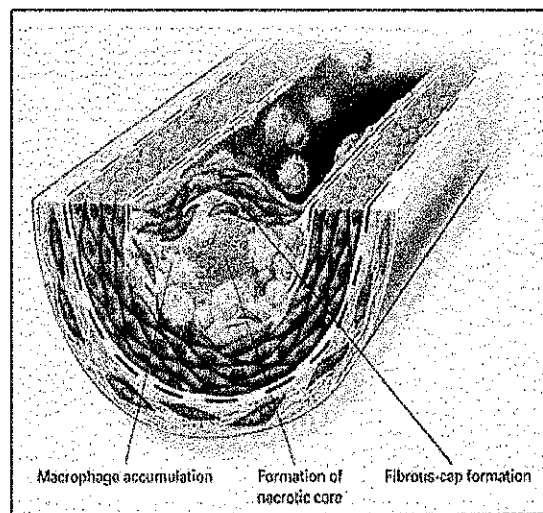
Lesi tipe III (*intermedia, transisional, preateroma*) merupakan jembatan morfologis dan kimiawi antara lesi tipe II dan lesi tipe lanjut (tipe IV). Gambaran histopatologinya khas, ditandai timbunan butiran dan partikel lipid ekstrasel yang identik dengan lesi tipe II, di sekitar lapisan miosit di era tertentu yang mengalami penebalan adaptif tunika intimanya. Timbunan lipid yang lebih banyak dan tebal terletak tepat di bawah lapisan makrofag dan sel busa, menggantikan matriks dan serabut proteoglikan intersel, serta mendorong dan memisahkan miosit<sup>14,27,52</sup>.

### 2.3.4. Lesi aterosklerotik tipe lanjut (IV, V dan VI)

Lesi lanjut yang terbagi menjadi tipe IV, V dan VI, didefinisikan sebagai akumulasi lipid ekstrasel masif yang berkaitan dengan disorganisasi dan penebalan intima, deformitas dinding arteri dan sering disertai komplikasi berupa fisura, hematoma dan trombosis. Pada lesi ini terdapat deposit lipid ekstrasel yang cukup besar untuk merusak intima, sedangkan pada stadium yang amat lanjut, deposit lipid memodifikasi tunika media dan adventitia di bawahnya. Pada lesi tipe ini juga terjadi mekanisme trombotik yang lebih menonjol dalam mempercepat terjadinya aterosklerosis<sup>14,27,52</sup>.

Saat proses pembentukan lesi lanjut (Gambar 3), lesi cenderung membentuk sumbat fibrosa yang memisahkan lesi dengan lumen arteri, yang merupakan proses penyembuhan atau respon fibrosis terhadap jejas. Sumbat fibrosa menutupi campuran lekosit, lipid dan debris yang membentuk inti nekrotik. Pinggiran lesi meluas akibat adesi dan masuknya lekosit yang terus

berlangsung, disebabkan oleh faktor penyebab yang sama seperti Gambar 1 dan 2. Faktor utama yang berhubungan dengan akumulasi makrofag meliputi MCSF, MCP-1 dan LDL-oks. Inti nekrotik merupakan akibat terjadinya apoptosis dan nekrosis, peningkatan aktivitas proteolitik dan akumulasi lipid. Sumbat fibrosa terbentuk akibat meningkatnya aktivitas PDGF, TGF- $\beta$ , IL-1, TNF- $\alpha$  dan osteopontin, serta berkurangnya degradasi jaringan ikat<sup>14,27,52</sup>.



**Gambar 3.** Pembentukan lesi lanjut pada aterosklerosis<sup>14</sup>

## 2.4. Patogenesis Aterosklerosis

### 2.4.1. Patomekanisme yang menginduksi lesi aterosklerotik

Patogenesis aterosklerosis (aterogenesis) dimulai ketika terjadi jejas (akibat berbagai faktor risiko dalam berbagai intensitas dan lama paparan yang berbeda) pada endotel arteri, sehingga mengaktivasi atau menimbulkan disfungsi endotel. Paparan jejas pada endotel, memicu berbagai mekanisme yang menginduksi dan mempromosi lesi aterosklerotik, yaitu; 1) mekanisme untuk

menghasilkan efek sitopatik pada sel endotel dan miosit, 2) mekanisme pembentukan toksin yang bersirkulasi atau kompleks imun yang berdeposit pada dinding pembuluh darah, 3) mekanisme untuk menimbulkan respon inflamasi, 4) mekanisme untuk menginduksi perubahan prostaglandin serum dan metabolisme lipid, atau 5) mekanisme untuk menimbulkan keadaan hiperkoagulan yang dapat meningkatkan risiko trombosis<sup>14,27,54,55</sup>.

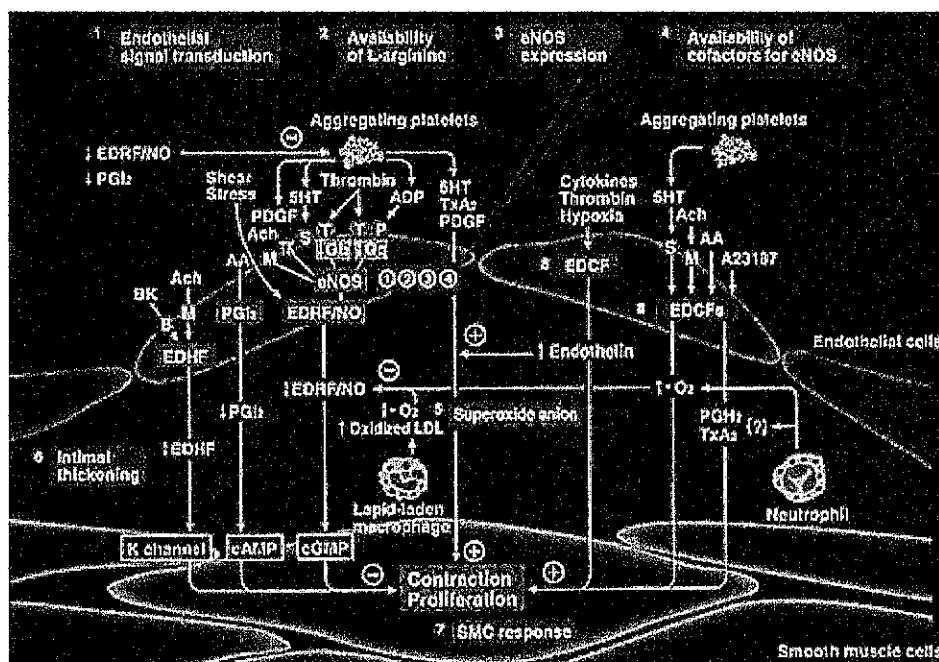
#### 2.4.2. Disfungsi endotel

Sel endotel berfungsi sebagai vasodilator, anti trombotik dan anti inflamasi. Sel endotel paling sedikit mensintesis 3 faktor vasodilator yang berbeda: NO, PGI<sub>2</sub> dan EDHF (*endothelium-derived hyperpolarizing factor*) yang belum teridentifikasi. Pada beberapa kondisi patologis, sel endotel juga mensintesis beberapa faktor vasokonstriksi (*EDCF=endothelium-derived constriction factor*) termasuk endothelin, superoksid dan prostaglandin vasokonstriktor<sup>27,56,57,58,59</sup>.

Disfungsi endotel (Gambar 1) merupakan lesi aterosklerotik dini, dimana terjadi respon inflamasi yang merubah homeostasis normal endotel, menjadi endotel dengan; 1) permeabilitas dan adhesivitas yang meningkat terhadap lipoprotein, leukosit, platelet dan kandungan plasma lain, diperantarai NO, prostasiklin, PDGF, angiotensin II dan endothelin, 2) prokoagulan yang lebih banyak dibandingkan antikoagulan, 3) *up-regulation* (pemacuan) molekul adesi leukosit (meliputi; L-selektin, integrin dan PECAM 1 dan molekul adesi endotel (meliputi; E-selektin, P-selektin, ICAM 1, dan VCAM 1, dan 4) memacu migrasi leukosit ke dalam dinding arteri yang diperantarai oleh LDL-oks, MCP 1,

IL-8, PDGF, MCSF dan osteoponin<sup>14,27,51,55,56,57,58,59</sup>.

Shimokawa (2000) menggambarkan secara skematik mekanisme disfungsi endotel yang melibatkan beberapa mekanisme (Gambar 4), meliputi; 1) penurunan dan kegagalan transduksi sinyal pada endotel, 2) berkurangnya ketersediaan L-arginin, 3) berkurangnya ekspresi eNOS, 4) berkurangnya ko-faktor untuk eNOS, 5) peningkatan inaktivasi NO akibat peran oleh anion superoksid yang berasal dari makrofag sel inflamasi lain, 6) pelepasan EDCF secara bersamaan, 7) penebalan intima, dan 8) respon vaskuler miosit<sup>59</sup>.



**Gambar 4.** Mekanisme skematik disfungsi endotel pada aterosklerosis<sup>59</sup>

Apabila respon inflamasi berlangsung terus, dan penjejas tidak dinetralkan atau dihilangkan, maka akan terjadi stimulasi migrasi dan proliferasi miosit yang saling bercampur dengan area inflamasi, membentuk lesi intermedia. Jika respon

inflamasi tidak mereda, maka arteri akan mengalami *remodeling*, yaitu penebalan dan pelebaran dinding arteri bertahap, sampai lumen arteri tidak dapat berdilatasi lagi<sup>14,27,51,55,56</sup>.

Respon inflamasi yang terjadi pada aterogenesis diperantarai oleh makrofag derivat monosit dan limfosit T, yang apabila berlanjut akan meningkatkan jumlah makrofag dan limfosit yang beremigrasi. Aktivasi makrofag dan limfosit menimbulkan pelepasan enzim hidrolitik, sitokin, kemokin dan faktor tumbuh, yang dapat menginduksi kerusakan lebih lanjut dan akhirnya menimbulkan nekrosis fokal<sup>14,33</sup>.

Siklus akumulasi sel-sel mononuklear, migrasi dan proliferasi miosit, serta pembentukan jaringan fibrosa menimbulkan pembesaran dan restrukturisasi lesi lebih lanjut, dan lama kelamaan lesi tersebut menjadi tertutupi oleh *fibrous cap* (sumbat fibrosa) yang melapisi lipid inti dan jaringan nekrotik. Lesi semacam ini juga disebut lesi kompleks lanjut, dimana pada beberapa tempat, arteri tidak dapat berkompensasi lagi dengan berdilatasi, sehingga lesi dapat menonjol ke dalam lumen dan mengubah aliran darah<sup>14,33</sup>.

### **2.4.3. Aktivasi dan akumulasi monosit atau makrofag**

#### **2.4.3.1. Interaksi antara sel endotel, monosit dan sel T**

Tempat-tempat tertentu pada arteri (misalnya percabangan, bifurcatio dan *curvatura*), menyebabkan perubahan khas aliran darah, yaitu menurunnya *shear stres* dan meningkatnya turbulensi. Di area ini terbentuk molekul adesi pada endotel arteri yang bertanggungjawab terhadap aderenasi, migrasi dan akumulasi monosit dan sel T. Molekul-molekul adesi (selektin, ICAM dan VCAM) berperan

sebagai reseptor untuk glikokonjugata dan integrin yang terdapat pada monosit dan sel T. Molekul-molekul itu berhubungan dengan molekul yang mempengaruhi migrasi lekosit melintasi endotel (misalnya PECAM), bekerjasama dengan molekul kemoatraktan yang dihasilkan oleh endotel, miosit dan monosit (misalnya MCP 1, osteopontin, dan LDL termodifikasi), untuk menarik monosit dan sel T ke dalam arteri<sup>10,14,58</sup>.

Aliran darah yang bersifat *shear stres* atau turbulensi tinggi atau rendah merupakan hal penting untuk menentukan apakah lesi terjadi pada area vaskuler tertentu. Perubahan aliran darah akan mengubah ekspresi gen yang memiliki elemen-elemen di regio promotor yang berespon terhadap *shear stres*. Gen-gen tersebut, misalnya; gen ICAM 1, PDGF- $\beta$ , dan faktor jaringan. Sel endotel mempunyai elemen-elemen itu, dan ekspresinya meningkat bila terjadi penurunan *shear stres*. Jadi, perubahan aliran darah terbukti amat penting dalam menentukan area arteri yang mudah terkena lesi. *Rolling* dan adhesi monosit dan sel T juga terjadi di area itu, akibat pemacuan molekul adhesi endotel dan lekosit<sup>10,14,58</sup>.

Kemokin bertanggungjawab terhadap kemotaksis dan akumulasi makrofag dalam garis lemak. Aktivasi monosit dan sel T menimbulkan pemacuan reseptor di permukaan (misalnya; molekul mirip musin yang mengikat selektin, integrin yang mengikat molekul adhesi superfamili imunoglobulin), dan reseptor yang mengikat molekul kemoatraktan. Interaksi reseptor-ligan itu, selanjutnya mengaktivasi sel mononuklear, menginduksi proliferasi sel dan membantu menentukan dan melokalisasi respon inflamasi di

tempat lesi<sup>10,14</sup>.

Pada tikus defisien apo E yang mengalami hiperkolesterolemi, jumlah ICAM 1 di permukaan endotel arteri yang mudah terkena lesi makin bertambah banyak. Meskipun sebenarnya, ICAM1 juga terdapat pada tikus normal dalam jumlah yang sedikit. Sebaliknya, VCAM 1 tidak terdapat pada tikus normal, tetapi pada tikus dengan defisiensi apo-E. Molekul itu berada di tempat yang sama seperti ICAM 1. Akibat peningkatan satu atau lebih molekul adesi yang bekerjasama dengan molekul kemotaktik (misalnya MCP-1, IL-8 atau LDL termodifikasi), maka bisa terjadi aderensi monosit dan sel T. Gangguan pada satu dari beberapa molekul adesi cukup untuk menurunkan inflamasi, sehingga memperlambat atau menghambat proses aterogenesis, misalnya pemberian diet lipid pada tikus yang benar-benar defisien ICAM 1, P-selektin, CD18 atau kombinasi molekul tersebut, akan menimbulkan lesi aterosklerotik yang lebih kecil. Perbandingan peranan molekul-molekul itu pada inflamasi di arteri dan mikrovaskuler bisa merupakan bukti terhadap kemungkinan terjadinya perubahan proses inflamasi yang memodifikasi aterosklerosis<sup>10,14,58</sup>.

Disintegrin (*metalloproteinase-like, disintegrin-like, MDCs*), molekul yang baru saja ditemukan, diidentifikasi pada endotel, miosit dan makrofag. Protein transmembran ini berperan dalam interaksi antar sel, mengandung sekuens *metalloproteinase* di segmen ekstraselnya dan dapat mengaktifkan TNF- $\alpha$ . Disintegrin tidak terdapat di arteri normal, namun MDC15 terdapat pada lesi aterosklerotik. Molekul adesi di permukaan leukosit (misalnya L-selektin) bisa dipecah oleh *metalloproteinase* (L-selektin *sheddase*), sehingga dalam kondisi

inflamasi kronik, dianjurkan menghitung *molekul selubung* dalam plasma, sebagai penanda respon inflamasi yang terus berlangsung. Disintegrin berperan dalam proses penelubungan (*shedding*). Bila terjadi penelubungan, maka bisa dideteksi pada berbagai respon inflamasi yang berbeda. Peningkatan konsentrasi *molekul selubung* dalam plasma dapat dipakai untuk mengidentifikasi pasien berisiko aterosklerosis atau penyakit inflamasi lain<sup>10,14</sup>.

#### 2.4.3.2. Peran monosit dan imunitas

Monosit merupakan prekursor makrofag di semua jaringan dan terdapat di setiap fase aterogenesis. Makrofag derivat monosit adalah pemangsa dan sel penyaji antigen (*antigen-presenting cells/APC*) yang mensekresi sitokin, kemokin, molekul pengatur pertumbuhan, *metalloproteinase* dan enzim hidrolitik lainnya. Sel mononuklear yang terus menerus masuk, bertahan hidup, bereplikasi dalam lesi, sebagian tergantung pada MCSF dan GMCSF untuk monosit dan faktor IL-2 untuk limfosit. Secara *in vitro*, pajanan terus menerus terhadap MCSF, memungkinkan makrofag bertahan hidup dan bermultiplikasi dalam lesi. Sebaliknya, sitokin inflamasi (misalnya IFN- $\gamma$ ) mengaktifkan dan menginduksi makrofag (dalam kondisi tertentu) untuk memprogramkan diri menjalani kematian sel (apoptosis). Jika hal ini terjadi *in vivo*, maka makrofag bisa terlibat dalam inti nekrotik yang merupakan ciri khas lesi kompleks dan lanjut<sup>10,14</sup>.

Awalnya, diduga hanya miosit yang berproliferasi selama perkembangan lesi aterosklerotik. Namun, akhirnya diketahui bahwa replikasi makrofag derivat monosit dan sel T berperan sama pentingnya. Kemampuan makrofag dalam menghasikan sitokin (misalnya TNF- $\alpha$ , IL-1 dan TGF- $\beta$ ), enzim proteolitik

(terutama *metalloproteinase*) dan faktor tumbuh (misalnya PDGF dan *insulin-like growth factor I*), berperan penting dalam kerusakan dan perbaikan lesi aterosklerotik<sup>10,14</sup>.

Makrofag teraktivasi mengespresikan antigen histokompatibilitas kelas II (misalnya HLA-DR), sehingga antigen bisa disajikan ke limfosit T. Keterlibatan respon imun yang diperantarai sel terjadi ketika didapatkan CD4 dan CD8 di semua tahap aterogenesis. Aktivasi sel T terjadi saat mengikat antigen yang diproses dan disajikan makrofag, menghasilkan sekresi sitokin (termasuk IFN-gamma, TNF- $\alpha$  dan  $\beta$ ) yang memperkuat respon inflamasi. Di permukaan sel miosit lesi juga terdapat molekul antigen kelas II HLA-DR/DP, diduga diinduksi oleh IFN-gamma dan juga dapat menyajikan antigen ke sel T. Salah satu antigen itu kemungkinan LDL-oks yang dapat diproduksi oleh makrofag. HSP 60 juga bisa berperan pada otoimunitas. Fungsi HSP 60 dan HSP lain meliputi; penyusunan, transpor intersel dan pemecahan protein serta pencegahan denaturasi protein yang bisa dibawa menuju endotel dan berpartisipasi dalam respon imun<sup>10,14,60,61,62</sup>.

Pada lesi aterosklerotik *in vivo*, molekul imunoregulator ligan CD40 bisa diekspresikan oleh makrofag, sel T, endotel, dan miosit. Sedangkan reseptornya (CD40) diekspresikan pada sel yang sama. Pemacuan kedua molekul itu, membuktikan lebih lanjut tentang aktivasi imun pada lesi aterosklerotik. Ligan CD40 menginduksi pelepasan IL-1 $\beta$  oleh sel-sel vaskuler, yang secara potensial meningkatkan respon inflamasi. Inhibisi CD40 dengan memblok antibodi, dapat mereduksi pembentukan lesi pada tikus yang defisien apoE<sup>10,14</sup>.

## 2.4.4. Aktivasi dan akumulasi miosit

### 2.4.4.1. Perbedaan *derivasi* embrionik miosit

Untuk memahami faktor penting dalam respon proliferasif dan respon migrasi yang menimbulkan perbedaan dalam organisasi dan pembesaran lesi di cabang arteri yang berbeda, maka perlu memahami *derivasi* (asal mula) embrionik miosit yang menyusun arteri pada regio yang berbeda. Miosit memiliki asal embrionik berbeda, tergantung pada segmen sistem arterinya. Miosit beberapa vertebrata di *pars superior aorta thoracica* berasal dari neuroektoderm, sedangkan miosit aorta abdominalis berasal dari mesenkim. Miosit arteri koroner berasal dari sepertiga populasi prekursor mesenkim intrakardia. Perbedaan itu memperlihatkan bahwa miosit di cabang arteri yang berbeda dapat merespon secara berlainan terhadap rangsang yang menyebabkan lesi aterosklerotik. Namun, derivasi embrionik miosit tunika media arteri besar bisa heterogen, dan berkemampuan berbeda dalam proliferasi dan produksi matrik<sup>10,14</sup>.

Perbedaan asal pembentukan miosit tersebut juga menimbulkan perbedaan respon miosit terhadap sitokin, mitogen, faktor kemotaktik atau matriks ekstrasel, dan mungkin menjelaskan perbedaan jenis lesi di arteri perifer dengan lesi di arteri karotis dan arteri koroner<sup>10,14</sup>.

### 2.4.4.2. Peranan matriks

Miosit tunika media arteri dan di lesi, dikelilingi oleh berbagai jaringan ikat yang berbeda. Di tunika media, matriks sebagian besar terdiri atas kolagen fibriler tipe I dan III. Sedangkan pada lesi aterosklerotik, matrik terdiri atas proteoglikan bercampur kolagen fibriler yang tersebar longgar. Ketika kultur

miosit arteri manusia dilapiskan pada kolagen fibriler, kolagen menghambat proliferasi sel lewat pengaturan ke atas inhibitor spesifik siklus sel. Secara *in vivo*, degradasi kolagen oleh kolagenase, atau migrasi menjauhi lingkungan penghambisi, memungkinkan miosit berespon terhadap rangsang dan replikasi mitogenik, seperti saat di kultur pada kolagen monomerik nonfibriler. Molekul matrik lain, misalnya fibronektin dan heparan sulfat, juga dapat menghambat siklus sel, dan interaksi sel-matriks bisa menimbulkan ekspresi kemokin oleh makrofag. Jika terjadi di arteri, maka interaksi itu berpengaruh amat besar terhadap respon inflamasi dan fibroproliferatif. Jadi, matriks yang mengelilingi sel tidak bersifat netral dan bisa menentukan apakah matriks tersebut tetap diam tidak bergerak atau bermultiplikasi sebagai respon terhadap faktor tumbuh<sup>10,14,63,64,65</sup>.

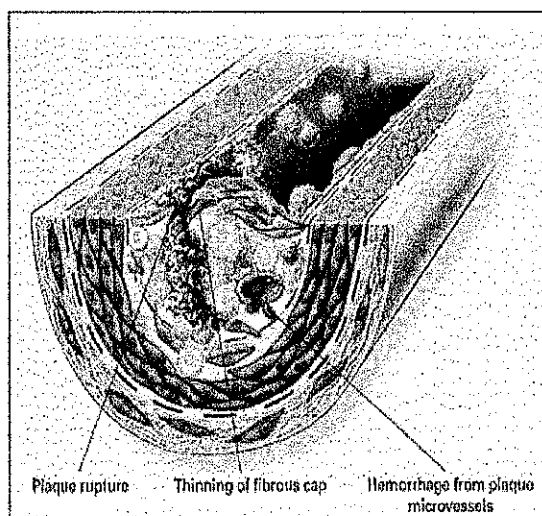
#### **2.4.5. Peranan platelet**

Lesi aterosklerosis inisial pada hewan dan manusia, selalu terdapat adesi platelet dan trombosis mural di berbagai tempat. Platelet beradrensi pada endotel yang mengalami disfungsi, kolagen dan makrofag. Bila diaktivasi, platelet akan melepaskan granula berisi sitokin dan faktor tumbuh, dan bersama trombin memacu migrasi dan proliferasi miosit dan monosit. Aktivasi platelet menyebabkan pembentukan asam arakhidonat bebas yang dapat diubah menjadi prostaglandin, misalnya tromboksan A<sub>2</sub> (vasokonstriktor dan agregator platelet paling poten), atau menjadi leukotrien yang memperkuat respon inflamasi<sup>10,14</sup>.

Apabila tidak terjadi jejas, platelet berperan dalam mempertahankan keutuhan vaskuler dan mencegah perdarahan spontan. Platelet yang diaktivasi dapat berakumulasi di dinding arteri dan menarik platelet lain ke dalam trombus

yang meluas. Selama aktivasi platelet, reseptor glikoprotein IIb/IIIa terdapat di permukaan platelet, membentuk trombus dan berfungsi sebagai hemostatik<sup>10,14</sup>.

Ruptur atau ulserasi di daerah tutup/plak fibrosa yang tipis (Gambar 5), cepat sekali menimbulkan trombosis. Penipisan tutup fibrosa disebabkan aktivasi dan masuknya makrofag ke dalam plak yang terus berlanjut, melepaskan enzim *metalloproteinase* dan enzim proteolitik lain. Enzim-enzim tersebut mendegradasi matrik, sehingga menimbulkan perdarahan vasa vasorum atau lumen arteri, mengakibatkan pembentukan trombus dan oklusi arteri<sup>15</sup>.



**Gambar 5.** Plak fibrosa tak stabil pada aterosklerosis<sup>14</sup>.

## 2.5. Faktor-faktor yang Menginisiasi dan Mempromosi Aterogenesis

### 2.5.1. Hiperkolesterolemi, lipid dan lipoprotein yang mengalami modifikasi menginisiasi aterogenesis

Kadar kolesterol LDL yang tinggi merupakan penjejas utama edotel dan miosit. Kolesterol LDL dapat mengalami oksidasi, glikasi, agregasi, berikatan dengan proteoglikan, atau menyatu menjadi kompleks imun<sup>14</sup>.

Partikel LDL yang masuk ke intima arteri bisa mengalami oksidasi progresif menjadi LDL-oks dan difagosit oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* (pemangsa) di permukaan sel. Fagositosis menyebabkan terbentuknya peroksida lipid dan mempermudah akumulasi ester kolesterol yang menghasilkan pembentukan sel busa. Jadi, sel busa teraktivasi begitu terjadi modifikasi dan fagositosis LDL oleh makrofag<sup>14,27,55</sup>.

Schwenke (1989) membuktikan bahwa konsentrasi dan kecepatan degradasi LDL pada kelinci normal akibat pemberian kolesterol, akan meningkat di area aorta yang paling rentan mengalami lesi dini aterosklerotik. Diet 2 % kolesterol selama 16 hari, tidak menimbulkan lesi yang kasat mata. Namun, gambaran histologinya memperlihatkan adanya sedikit sel busa yang hanya ditemukan pada *lesion-prone site* (tempat yang mudah mengalami lesi), terutama pada pemberian diet yang lebih lama. Penelitian Schwenke menunjukkan bahwa setelah 16 hari diet kolesterol, konsentrasi LDL plasma kelinci meningkat 7,6 kali lipat, dimana konsentrasi LDL di *lesion-prone sites* aorta abdominalis, meningkat 22 kali lipat, lebih tinggi 2 sampai 5,7 kali lipat dibanding konsentrasi LDL di area aorta abdominalis non percabangan. Kecepatan degradasi LDL lebih meningkat di arcus aorta dan percabangan aorta abdominalis, dibanding tempat

lain. Schwenke menyimpulkan bahwa pemilihan waktu, fokus asal dan spesifisitas tempat terjadinya perubahan tersebut mengesankan bahwa peningkatan konsentrasi LDL di dinding arteri merupakan indikasi dini pembentukan lesi, dan merupakan langkah awal penting dalam patogenesis lesi aterosklerotik, pada kelinci yang diberi diet kolestrerol<sup>34,61</sup>.

LDL termodifikasi (LDL-oks, LDL teragregasi, LDL dengan kompleks imun) juga merupakan kemotaktik bagi monosit dan dapat memacu ekspresi gen untuk MCSF dan MCP yang berasal dari endotel. Jadi, LDL termodifikasi dapat membantu memperluas respon inflamasi dengan menstimulasi replikasi makrofag derivat monosit dan masuknya monosit baru ke dalam lesi dan berperan dalam pembentukan sel busa<sup>14,27,55</sup>.

Respon inflamasi yang terjadi berefek amat besar terhadap migrasi lipoprotein dalam arteri, namun kadar lipoprotein plasma bukan merupakan penentu utama banyaknya akumulasi protein di berbagai tempat arteri yang berbeda. Regio dimana terjadi akumulasi lipoprotein yang banyak adalah di area yang mengalami paparan mekanik yang besar, sehingga meningkatkan *residence time* (waktu tinggal) partikel aterogenik yang bersirkulasi di permukaan lumen arteri<sup>14,27,55</sup>.

Faktor lain yang memberikan peluang masuknya lipoprotein plasma ke dalam tunika intima adalah mediator inflamasi. Mediator inflamasi (misalnya TNF- $\alpha$ , IL-1 dan MCSF) dapat meningkatkan ikatan LDL terhadap endotel dan miosit, serta meningkatkan transkripsi gen reseptor LDL<sup>14,27,55</sup>.

Setelah berikatan dengan reseptor pemangsa, LDL termodifikasi memulai

serangkaian proses intrasel, termasuk induksi urokinase dan sitokin inflamasi (misalnya IL-1). Jadi, dengan adanya lipid termodifikasi, siklus tak berujung pangkal, yaitu; peradangan, lipoprotein termodifikasi dan peradangan selanjutnya, dapat terus terjadi dalam dinding arteri<sup>14,27,55</sup>.

Pembuangan LDL termodifikasi merupakan bagian penting dari peran protektif inisial makrofag dalam respon inflamasi, serta meminimalkan efek LDL termodifikasi pada endotel dan miosit. Antioksidan (misalnya vitamin E) bisa mereduksi pembentukan radikal bebas yang dibentuk oleh LDL termodifikasi. Pada binatang dengan hiperkolesterolemi, antioksidan dapat mereduksi ukuran lesi, dan mereduksi garis lemak pada *primata* non manusia. Observasi terakhir menyimpulkan bahwa antioksidan mempunyai efek anti inflamasi, dengan mencegah pemacuan molekul adesi untuk monosit. Antioksidan meningkatkan resistensi LDL manusia terhadap oksidasi *ex vivo* yang seimbang dengan kadar vitamin E plasma. Asupan vitamin E berbanding terbalik dengan insidensi infark miokard, dan pada uji klinik pendahuluan, suplementasi vitamin E terbukti mengurangi kejadian penyakit jantung koroner<sup>14,27,55</sup>.

#### **2.5.1.1. Potensi LDL-oks dalam menginisiasi aterogenesis**

Kemampuan LDL-oks dalam memulai terjadinya aterosklerosis disebabkan LDL-oks bersifat; 1) kemoatraktan untuk monosit, sehingga menghambat migrasi makrofag jaringan, 2) sitotoksik bagi sel endotel, 3) menghambat vasodilatasi yang normalnya diinduksi oleh NO, 4) mitogenik untuk makrofag dan miosit, 5) menstimulasi pelepasan MCP-1 dan MCSF dari sel

endotel dan 6) imunogenik dan autoantibodi. Berbagai sifat itu menunjukkan bahwa LDL-oks sangat mudah menimbulkan terbentuknya sel busa<sup>14,27,55</sup>.

Oksidasi LDL dipengaruhi oleh beberapa faktor misalnya  $\text{Cu}^{2+}$ , kejenuhan asam lemak penyusun LDL dan kandungan antioksidan, sehingga menghasilkan berbagai tingkatan oksidasi LDL<sup>14</sup>. Tempat berlangsungnya oksidasi LDL masih belum diketahui secara pasti, namun mestinya terjadi di lingkungan mikro dimana LDL tidak terlindung lama oleh komponen antioksidan (tempat perlindungan efektif adalah pada plasma atau cairan ekstrasel). Pada kultur, sel endotel, miosit, monosit, makrofag, fibroblas, netrofil dan lainnya, juga diidentifikasi mampu mengoksidasi LDL<sup>14,55</sup>.

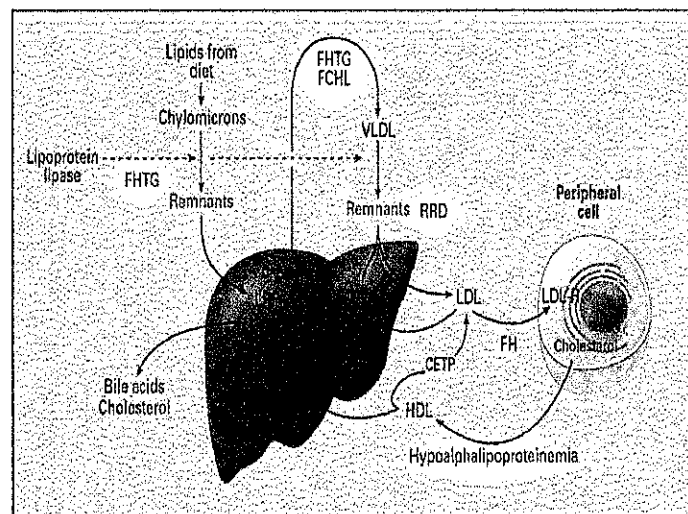
Peran sistem enzim, misalnya NADPH-oksidas, 15-lipoksigenase, mieloperoksidase, sistem transpor elektron mitokondria (*the mitochondrial electron transport system*) dan lainnya dalam oksidasi LDL *in vivo* masih belum pasti. Namun, hasil analisis produk yang diisolasi dari lesi aterosklerotik memperlihatkan peran enzim lipoksigenase dan mieloperoksidase yang amat menonjol<sup>55</sup>.

Pada kultur sel, diidentifikasi bermacam jenis sel yang mampu mengoksidasi LDL, termasuk sel endotel, miosit, monosit, makrofag, fibroblas, netrofil dan sel lain. Namun, belum ada bukti *in vivo* yang menunjukkan sel yang paling berperan dalam oksidasi LDL<sup>55</sup>.

#### **2.5.1.2. Jalur transport lipid**

Kolesterol diabsorpsi dari intestinum dan diangkut kilomikron *remnant*, diambil LRP (*LDL-receptor-related lipoprotein*) masuk ke dalam hati.

Kolesterol hepatic masuk ke dalam sirkulasi sebagai VLDL dan dimetabolisme menjadi lipoprotein *remnant* setelah lipoprotein lipase melepaskan trigliseridanya. Lipoprotein *remnant* disingkirkan oleh LDL-R (*LDL-receptor*) atau dimetabolisme dulu menjadi LDL, baru kemudian disingkirkan oleh LDL-R. Kolesterol diangkut dari sel-sel perifer menuju hati oleh HDL. Kolesterol didaur ulang menjadi LDL dan VLDL oleh CETP (*cholesterol-ester transport protein*) atau diambil oleh ensim lipase hepatic untuk dieksresi ke dalam empedu (Gambar 6)<sup>66</sup>.



**Gambar 6.** Jalur transport lipid<sup>66</sup>.

### 2.5.1.3. Peran kolesterol HDL

Kolesterol HDL lebih dikenal sebagai kolesterol 'baik' karena kadarnya yang tinggi dalam darah dapat mencegah terjadinya serangan jantung dan kadar kolesterol HDL berbanding terbalik dengan risiko terjadinya aterosklerosis. Kolesterol HDL cenderung membawa kolesterol menjauhi arteri dan kembali ke hati, menyingkirkan kolesterol yang berlebihan di plak ateroma dan menghambat

perkembangan plak atheroma. Rader (2000) menyatakan bahwa HDL mampu menghambat perkembangan aterosklerosis, namun dasar biologis penghambatan itu belum dimengerti<sup>67,68</sup>.

Ekspresi protein HDL, misalnya apoA-I dan apoE, menghambat perkembangan dan menyebabkan regresi aterosklerosis, serta menginduksi perubahan morfologik lesi aterosklerotik yang konsisten dengan stabilisasi lesi. Selain itu, HDL juga langsung mengatur fenotipik VSMC (*vascular smooth muscle cell*), terhadap ekspresi molekul adesi serta fungsi migrasi dan proliferasi miosit. Namun, metabolisme HDL amat dipengaruhi oleh CETP (*cholesteryl ester transfer protein*), sehingga mengubah potensi anti aterogeniknya. CETP memperantarai pertukaran lipid dan menghasilkan *transfer cholesteryl ester* HDL, yang diubah menjadi LDL, sehingga menurunkan kadar HDL plasma, serta meningkatkan aktivitas enzim lipolitik<sup>67,68</sup>.

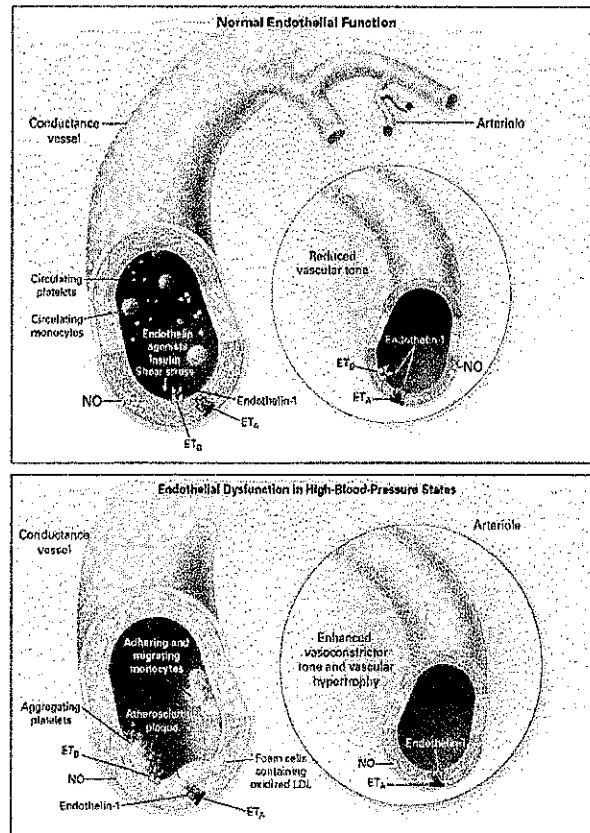
### 2.5.2. Faktor hipertensi

Hipertensi menginisiasi disfungsi endotel dalam proses aterogenesis (Gambar 7). Pada arteri normal, platelet dan monosit bersirkulasi bebas, serta terjadi pembentukan NO yang mencegah oksidasi LDL dan mempertahankan penurunan tonus vaskuler. Endotelin-1 menstimulasi reseptor endotelin A (ET<sub>A</sub>) miosit menghasilkan vasokonstriksi minimal atau tidak menginduksi vasokonstriksi, dan merangsang reseptor endotelin B (ET<sub>B</sub>) endotel yang berperan pada pelepasan NO. Pada keadaan hipertensi, mikrovaskuler mengalami ketidakseimbangan faktor endotelial, dimana terjadi penurunan aktivitas NO dan peningkatan aktivitas endotelin yang menyebabkan peningkatan

tonus vaskuler dan hipertrofi medial, sehingga meningkatkan tahanan vaskuler sistemik. Pada arteri, ketidakseimbangan tersebut menimbulkan lingkungan proaterosklerotik yang kondusif terhadap oksidasi LDL, adesi dan migrasi monosit, serta pembentukan sel busa. Aktivitas tersebut akhirnya menimbulkan pembentukan plak aterosklerotik, ruptur, yang berhubungan dengan meningkatnya agregasi platelet dan kegagalan fibrinolisis, menghasilkan trombosis intravaskuler akut, sehingga menjelaskan peningkatan risiko kejadian kardiovaskuler pada pasien dengan hipertensi<sup>69</sup>.

Hipertensi menyebabkan konsekuensi hemodinamik, peningkatan aktivitas simpatis dan sistem renin-angiotensin, bahkan faktor risiko lingkungan dan psikososial<sup>69</sup>. Penderita hipertensi sering mengalami peningkatan kadar angiotensin II, yang merupakan vasokonstriktor poten, sehingga memperberat atherogenesis dengan menstimulasi pertumbuhan miosit<sup>14</sup>. Angiotensin II berikatan dengan reseptor spesifik miosit, menghasilkan aktivasi fosfolipase C yang dapat meningkatkan konsentrasi kalsium intraseluler dan kontraksi miosit, meningkatkan sintesis protein dan hipertrofi miosit, serta meningkatkan aktivitas lipoksigenase yang dapat meningkatkan inflamasi dan oksidasi LDL<sup>14</sup>.

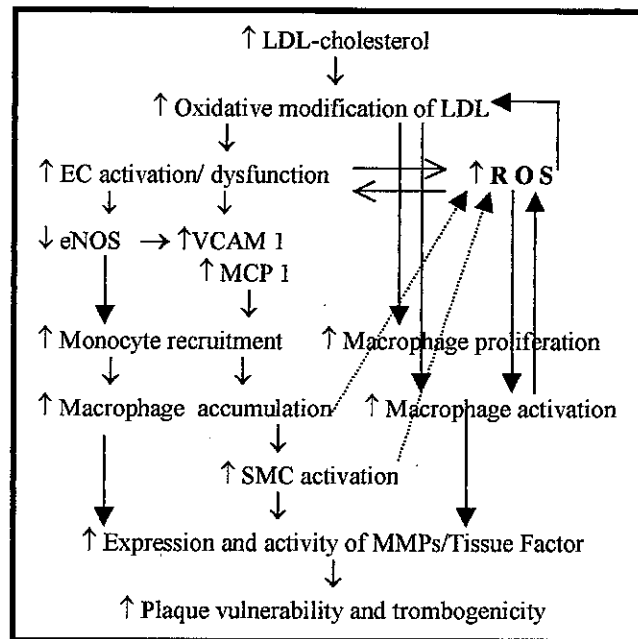
Hipertensi juga berperan proinflamasi dengan meningkatkan pembentukan hidrogen peroksida (hidroksi radikal) dan radikal bebas (superoksid anion) dalam plasma. Substansi itu mereduksi pembentukan NO, meningkatkan adesi lekosit dan tahanan perifer<sup>14</sup>.



Gambar 7. Fungsi endotel pada vaskularisasi normal dan hipertensi<sup>69</sup>

### 2.5.3. Stres oksidatif

Makrofag pada lesi aterosklerotik memproduksi ROS berupa  $O_2^-$  yang berlebihan, dan mampu menginduksi oksidasi LDL. Stres oksidatif tersebut dapat mempromosi aktivasi atau disfungsi endotel, serta menginduksi ekspresi molekul adesi (misalnya, VCAM 1) dan kemokin (misalnya, MCP 1), sehingga memacu migrasi monosit. *In vitro*, LDL-oks menginduksi ekspresi VCAM 1, lalu berakumulasi ke dalam intima, sedangkan MCP 1 (kemoatraktan monosit yang poten) menginduksi migrasi monosit masuk ke dalam intima. Stres oksidatif juga menurunkan ekspresi eNOS, sehingga mempromosi pembentukan sel busa<sup>70</sup>.



**Gambar 8.** Mekanisme stres oksidatif dan aktivasi/difungsi endotel mempromosi akumulasi makrofag (Aikawa 2000)<sup>70</sup>

## 2.6. Aterosklerosis dan Penyakit Inflamasi Kronik Lainnya

Interaksi seluler pada aterogenesis pada dasarnya tidak berbeda dengan penyakit inflamasi kronik-fibroproliferatif (misalnya; sirosis, artritis reumatik, glomerulosklerosis, fibrosis pulmoner dan pankreatitis kronik). Tabel 1, memperlihatkan respon inflamasi setiap jaringan atau organ utama yang tergantung pada karakteristik dan arsitektur sel, perdarahan, suplai limfe dan asal mula agen penjejasnya<sup>14</sup>. Dibandingkan dengan kelainan lain di Tabel 1, respon inflamasi pada aterosklerosis memperlihatkan sedikit perbedaan, yaitu granulosit yang jarang terdapat pada aterosklerosis, namun hanya terdapat pada artritis reumatik dan fibrosis pulmoner<sup>14</sup>. Respon inflamasi pada aterosklerosis paling sedikit terdapat tiga macam makrofag yang diatur oleh sitokin sel T yang

berbeda, yaitu; IFN-gamma, IL-2, IL-4 dan IL-10. Jika agen penjejas tidak dihilangkan atau ditiadakan oleh respon inflamasi, sehingga inflamasi terus berjalan, maka terjadi perubahan respon proteksi menjadi respon penjejas. Jejas berulang dan konstan dapat menstimulasi setiap jaringan untuk memperbaiki atau menutupi kerusakan dengan respon fibroproliferatif. Apabila berlebihan, maka jejas tersebut dapat menurunkan kemampuan fungsional jaringan atau organ<sup>14</sup>.

**Tabel 1.** Karakteristik aterosklerosis dan Penyakit Inflamasi Kronik Lainnya<sup>14</sup>

TABLE 1. CHARACTERISTICS OF ATHEROSCLEROSIS AND OTHER CHRONIC INFLAMMATORY DISEASES.*							
DISEASE	MONOCYTES AND MACROPHAGES	LYMPHOCYTES	GRANULOCYTES	CONNECTIVE-TISSUE CELLS	EXTRACELLULAR MATRIX	PATHOGENETIC MECHANISMS	STUDIES
Atherosclerosis	+	-	-	Smooth-muscle cells	Collagen types I, III, and IV, elastin, fibronectin, proteoglycan	Endothelial-cell injury and dysfunction; fibrous caps; new matrix formation and degradation; necrotic core	Ross, <sup>9</sup> Libby and Hansson, <sup>10</sup> Ross and Fuster <sup>11</sup>
Clerhosis	+	+	-	Fibroblasts, Ito cells	Collagen types I and III	Parenchymal-cell injury; new matrix and scarring replacing necrotic parenchyma	Maher, <sup>12</sup> Anthony et al. <sup>13</sup>
Rheumatoid arthritis	+	+	+/-	Synovial fibroblasts	Collagen types I and III, fibronectin, proteoglycan	Synovial-cell injury; erosion of cartilage; new matrix scarring (pannus)	Sewell and Trentham, <sup>14</sup> Harris <sup>15</sup>
Glomerulosclerosis	+	+	-	Mesangial cells	Collagen types I and IV, fibronectin	Epithelial- and endothelial-cell injury and dysfunction; decrease in glomerular filtration; new matrix formation	Johnson, <sup>16</sup> Magid and Cohen <sup>16</sup>
Pulmonary fibrosis	-	+	+/-	Smooth-muscle cells, fibroblasts	Collagen types III and IV, fibronectin	Inflammatory exudate in alveoli and bronchi, organized by extensive matrix deposition and scarring	Kulu et al., <sup>17</sup> Lukacs and Ward, <sup>18</sup> Brody et al. <sup>19</sup>
Chronic pancreatitis	-	-	-	Fibroblasts	Collagen, fibronectin, proteoglycan	Epithelial (ductal) injury; periductal inflammation; interstitial fat necrosis; new matrix formation	Sarles et al., <sup>20</sup> DiMaggio et al. <sup>21</sup>

\*Plus signs denote the presence of a cell type, and minus signs its absence

## 2.7. Instabilitas dan Ruptur Plak Ateroma

Lesi aterosklerotik lanjut (plak ateroma) yang stabil biasanya mempunyai sumbat fibrosa sama tebal di seluruh permukaannya. Lesi yang berpotensi bahaya sering non oklusif, sehingga sulit didiagnosis dengan angiografi. Otopsi plak ateroma yang mengalami ruptur, didapatkan inflamasi aktif pada akumulasi

makrofag. Akumulasi makrofag berkaitan dengan peningkatan konsentrasi fibrinogen dan protein reaktif C, dua marker inflamasi penanda dini aterosklerosis. Ruptur plak dan trombosis bertanggungjawab atas 50 persen kasus sindrom koroner akut dan infark miokard<sup>14</sup>.

Infark miokard pada sebagian besar pasien, terjadi akibat erosi atau penipisan dan ruptur sumbat fibrosa. Erosi dan ruptur itu seringkali terjadi di pinggiran lesi (di tempat makrofag masuk, berakumulasi dan diaktivasi), dan di tempat terjadinya apoptosis. Degradasi sumbat fibrosa bisa diakibatkan oleh penyebaran *metalloproteinase*, misalnya; kolagenase, elastase, dan stromelisin (lihat Gambar 5). Sel T teraktivasi bisa merangsang makrofag pada lesi untuk memproduksi *matrix metalloproteinases (MMPs)*, mempromosi instabilitas plak dan melibatkan respon imun. MMPs merusak struktur kolagen, sehingga memperlemah plak. Perubahan ini juga bisa disertai produksi faktor prokoagulan jaringan dan faktor hemostatik lain, sehingga memperbesar kemungkinan terjadinya trombosis<sup>14,71</sup>.

Hiperkolesterolemia dan *heat shock protein* (aktivator sel T) memperberat inflamasi pada plak ateroma, karena menginduksi aktivasi dan akumulasi makrofag. Makrofag mensintesis dan mensekresi enzim proteolitik dan MMPs. Aktivasi sel T yang mensekresi IFN $\gamma$ - yang menyebabkan kegagalan sintesis kolagen<sup>14</sup>.

## 2.8. Aspek Genetika Molekuler dan Pandangan Baru Terhadap Pembentukan dan Perkembangan Lesi Aterosklerotik

Sel dapat mengekspresikan sekumpulan gen yang berbeda, sehingga secara fenotip bervariasi, tergantung lingkungannya. Teknik baru identifikasi DNA telah dikembangkan, dan menghasilkan banyak informasi tentang ekspresi, pola dan informasi genetik yang membantu memecahkan kompleksitas penyebab aterogenesis<sup>14</sup>. Karena aterosclerosis merupakan penyakit multigen, maka pola pemahaman ekspresi gen bisa membantu menjelaskan perbedaan kerentanan terhadap agen penyebab. Pola ekspresi gen di lesi setiap orang dan tempat yang berlainan bisa bervariasi, sehingga mengisyaratkan adanya perbedaan genetik yang berkaitan dengan kerentanan dan respon terhadap terapi<sup>14,15</sup>.

Kemajuan genetika molekuler telah memungkinkan untuk menghilangkan atau menginsersi gen, dan menentukan peran produknya terhadap suatu penyakit. Banyak model binatang yang amat berguna dalam mempelajari genetika aterogenesis yang telah dihasilkan, misalnya tikus yang defisien apo-E. Dalam keadaan tidak ada apo-E, sisa lipoprotein tidak di bawa menuju hati, (dimana terjadi metabolisme normal), sehingga tikus menjadi hiperkolesterolemi dan lesi aterosklerotiknya berkembang mirip dengan lesi pada manusia. Untuk menggali peran monosit, platelet dan PDGF dalam aterogenesis, sedang dilakukan penelitian dengan membuat tikus defisien apo-E menjadi kimerik terhadap defisiensi PDGF dalam monosit dan platelet yang bersirkulasi<sup>14,15</sup>.

Studi pada tikus transgenik telah mengungkapkan bahwa lipoprotein Lp(a), *cholesterol ester transfer protein*, apolipoprotein A (apoprotein utama HDL) dan molekul-molekul lain, berpengaruh kecil terhadap aterogenesis,

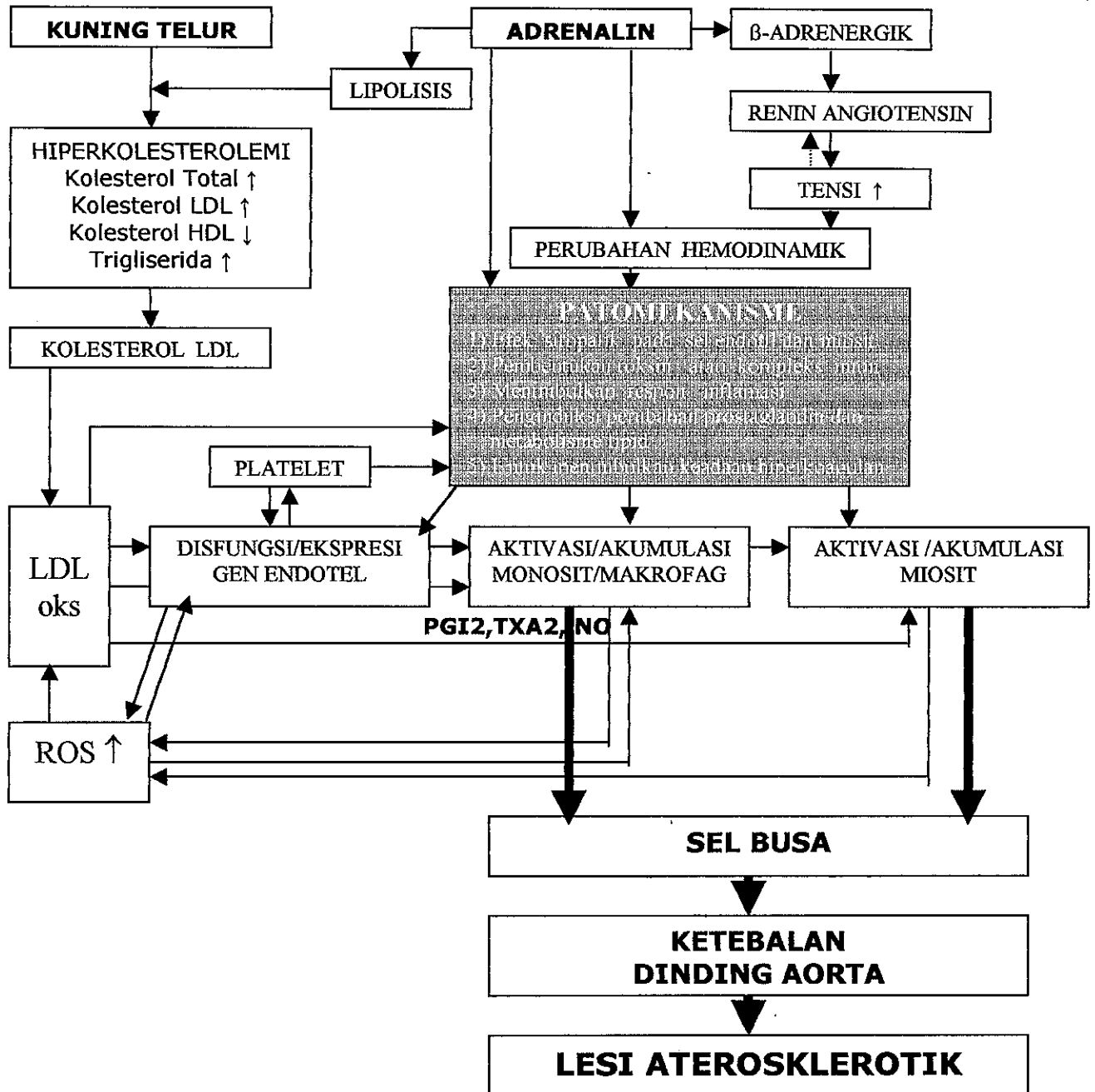
sedangkan MCSF penting untuk mengatur jumlah monosit dan makrofag dalam pembentukan lesi<sup>14,15</sup>.

Jadi, walaupun hiperkolesterolemia penting pada sekitar 50 persen pasien kardiovaskuler, faktor-faktor lainnya perlu dipertimbangkan. Aterosklerosis jelas bukan hanya merupakan akibat sederhana dari akumulasi lipid, namun juga akibat respon inflamasi. Jika berbagai komponen inflamasi berbahaya bagi arteri secara selektif dapat dimodifikasi dengan mempertahankan keutuhan aspek protektifnya, maka bisa tercipta pandangan baru dalam diagnosis dan manajemen penyakit pada 50 persen pasien kardiovaskuler yang tidak mengalami hiperkolesterolemia<sup>14</sup>.

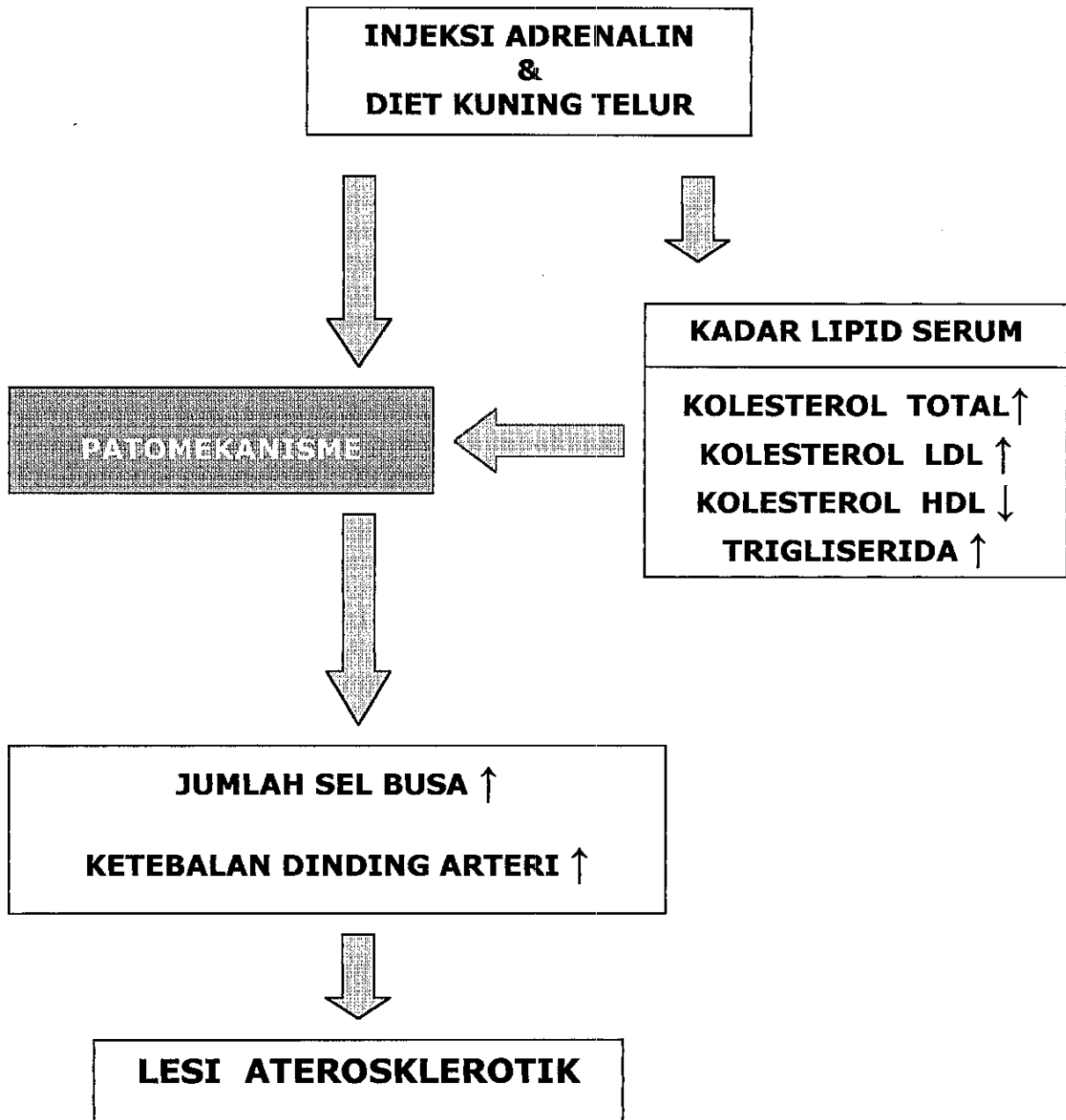
### BAB 3.

## KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1. Kerangka Teori



## 3.2. Kerangka Konseptual



### 3.3. Hipotesis

- 3.3.1. Injeksi inisial adrenalin I.V meningkatkan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- 3.3.2. Diet kuning telur *intermitten* meningkatkan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- 3.3.3. Kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis pada tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V. lebih besar dibanding dengan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten*.
- 3.3.4. Injeksi inisial adrenalin I.V yang diteruskan dengan diet kuning telur *intermitten* meningkatkan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- 3.3.5. Diet kuning telur *intermitten* yang diteruskan dengan injeksi adrenalin I.V meningkatkan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.
- 3.3.6. Kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis pada tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan dilanjutkan dengan diet kuning telur *intermitten* lebih besar dibanding dengan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten* yang dilanjutkan dengan injeksi adrenalin I.V.
- 3.3.7. Peningkatan kadar kolesterol LDL berhubungan dengan penambahan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis. Penambahan jumlah sel busa berhubungan dengan penambahan ketebalan dinding aorta abdominalis. Peningkatan kadar HDL berhubungan dengan penurunan

## **BAB 4.**

### **METODA PENELITIAN**

#### **4.1. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *Randomized Post-test Control Group*, yang dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap<sup>72</sup>. Randomisasi sederhana dilakukan dengan menggunakan komputer. Perlakuan yang digunakan yaitu pemberian injeksi inisial adrenalin bitatras intra vena (I.V) dan diet kuning telur *intermitten* pada tikus, dengan keluaran (*outcome*) berupa perbedaan kadar lipid, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

#### **4.2. Populasi dan Jumlah Sampel**

Populasi penelitian ini adalah 20 tikus jantan galur Wistar, berumur 40 minggu, dibagi secara acak menjadi 5 kelompok atau 4 tikus di setiap kelompok.

#### **4.3. Variabel Penelitian**

##### **4.3.1. Klasifikasi variabel**

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah injeksi inisial adrenalin bitatras I.V dan diet kuning telur *intermitten*.

b. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

### 4.3.2. Definisi operasional variabel

4.3.2.1. Injeksi adrenalin bitatras I.V adalah pemberian injeksi 0,006 mg/200 gr BB adrenalin bitatras intra vena, pada hari pertama, seperti metode Constantinides<sup>12,73,74</sup>.

4.3.2.2. Diet kuning telur *intermitten* adalah pemberian 10 gram kuning telur lewat sonde lambung, setiap dua hari sekali, seperti metode Constantinides<sup>12</sup>.

4.3.2.3. Kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida serum darah, diukur secara ensimatik dengan spektrofotometer<sup>75,76,77</sup>.

4.3.2.4. Jumlah sel busa adalah hitung sel busa di tunika intima secara kwantitatif pada potongan melintang aorta abdominalis setebal 5  $\mu$  dengan metode potong beku yang dipulas dengan pengecatan khusus *Oil-O-red*<sup>78</sup>.

4.3.2.5. Ketebalan dinding aorta abdominalis adalah pengukuran ketebalan aorta dari tunika intima sampai tunika adventitia (pada potongan penampang melintang aorta abdominalis dalam satuan ukuran mikron, yang dipulas dengan Hematoksilin Eosin), diamati dengan mikroskop yang dilengkapi *ocular micrometer*, sesuai metode Tjarta<sup>79</sup>.

### 4.3.3. Faktor inklusi

- a. Bobot badan tikus normal 180-200 gram pada umur 40 minggu.
- b. Aktivitas dan tingkah laku normal

#### 4.3.4. Faktor eksklusi

- a. Tikus diare selama penelitian, ditandai dengan feses yang tidak berbentuk.
- b. Bobot badan tikus menurun.
- c. Tikus mati dalam masa penelitian.

#### 4.4. Alat dan Bahan

##### 4.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang hewan, timbangan elektronik AND, Spektrofotometer Metertex, sentrifus, tabung reaksi, tabung *ependorf*, pipet mikrohematokrit, alat pemroses jaringan dan pengecatan, *ocular micrometer* dan mikroskop.

##### 4.4.2. Bahan

Hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM, umur 40 minggu, bobot badan antara 180-200 gram, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal. Selama penelitian tikus tidak sakit dan mengalami diare atau mati. Tikus diberi pakan standar AIN-93 M dan minum secara *ad libitum*<sup>80</sup>.

Bahan perlakuan adalah injeksi adrenalin bitatras dan diet kuning telur. Penentuan dosis adrenalin dilakukan dengan menggunakan konversi perhitungan dosis untuk tikus dengan berat 200 gram dan manusia 70 kg sebesar 0,018<sup>74</sup>. Dosis maksimal adrenalin ada manusia sebesar 0,005 mg/kgBB, atau 0,35 mg/70 kgBB. Dosis konversi untuk tikus sebesar 0,006 mg/200 gram BB.

## **4.5. Prosedur Perlakuan Sampel**

### **4.5.1. Injeksi adrenalin**

Injeksi adrenalin dilakukan secara intra vena pada ekor tikus dilakukan dengan cara; 1) masukkan tikus ke dalam kotak berlobang, sehingga ekor bisa ditarik keluar, 2) kompres ekor tikus dengan kapas yang dibasahi air hangat selama sekitar 5 menit agar terjadi vasodilatasi vena, 3) injeksi vena dengan kemiringan 15 derajat, lalu diaspirasi. Apabila sudah yakin bahwa jarum telah masuk ke dalam vena (sprit terdapat darah saat diaspirasi), maka injeksi dilakukan perlahan.

### **4.5.2. Diet kuning telur**

Pembuatan diet kuning telur dilakukan dengan cara; 1) memisahkan kuning telur dari putihnya, 2) membuat emulsi kuning telur dengan cara mengocok perlahan, 3) menimbang emulsi kuning telur. Diet kuning telur ditentukan sebesar 3-4 % BB tikus atau sekitar 10 gram, diberikan lewat sonde lambung secara *intermitten* (pada setiap 2 hari sekali)<sup>12</sup>.

## **4.6. Prosedur Pemeriksaan dan Pengukuran**

Pemeriksaan sampel pada hari ke-15. Semua tikus dalam kelompok dilakukan pemeriksaan sebagai berikut;

- a. Kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kolesterol HDL dan trigliserida serum darah dengan spektrofotometer.
- b. Jumlah sel busa dengan pengecatan *Oil-O-Red* dan mikroskop.
- c. Ketebalan dinding aorta abdominalis yang diukur dengan *ocular micrometer*.

#### 4.6.1. Pengukuran kadar kolesterol total

Teknik pemeriksaan dan pengukuran kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL dan trigliserida didahului dengan pengambilan darah dengan tabung mikrohematokrit lewat arteri retroorbitalis sebanyak 0,5 sampai 1 cc, kemudian dilakukan pengukuran secara ensimatik dengan spektrofotometer<sup>75,76,77</sup>.

Kadar kolesterol total ditentukan dengan metoda CHOD-PAP. Prinsip metoda ini adalah kolesterol dan bentuk esternya dibebaskan dari lipoprotein oleh deterjen. Selanjutnya, bentuk esternya dihidrolisis oleh enzim *kolesterol esterase*. Dengan bantuan enzim *kolesterol oksidase*, kolesterol akan dioksidasi menghasilkan peroksida hidrogen. Senyawa ini selanjutnya akan mengubah *4-aminoantipirin* dan *phenol* (dengan bantuan enzim *katalase peroksidase*) menjadi *quinonamine* yang berwarna dan intensitasnya dapat diukur secara fotometrik<sup>75,76,77</sup>.

#### 4.6.2. Pengukuran kadar kolesterol HDL

Kadar kolesterol HDL ditentukan dengan metoda CHOD-PAP. Prinsip metoda ini adalah; kolesterol VLDL dan LDL diendapkan dengan reagen pengendap asam fosfotungstat dan ion magnesium. Selanjutnya supernatan yang mengandung HDL dipisahkan dengan sentrifus, untuk selanjutnya ditetapkan kadar kolesterol HDL dengan metoda CHOD-PAP seperti pada penetapan kolesterol total<sup>75,76,77</sup>.

#### 4.6.3. Pengukuran kadar kolesterol LDL

Kadar kolesterol LDL diperhitungkan dengan rumus<sup>75,76,77</sup>:

Kolesterol LDL = (kolesterol total – kolesterol HDL – 1/5 trigliserida) mg/dL

#### 4.6.4. Pengukuran kadar trigliserida

Kadar trigliserida ditentukan dengan metoda GPO-PAP. Prinsip metoda ini adalah; trigliserida dihidrolisis secara ensimatis menjadi gliserol dan asam-asam lemak bebas dengan bantuan ensim lipase khusus. Gliserol yang dibebaskan kemudian akan bereaksi dengan *gliserol kinase* menjadi gliserol fosfat yang selanjutnya oleh ensim *gliserolphosphat oksidase* akan diubah menjadi dihidroksiaseton fosfat dan peroksida hidrogen. Peroksida hidrogen akan bereaksi dengan *chlorophenol* dan *4-aminoantipirin* membentuk kompleks *4-o-benzoquinone monomine* yang berwarna dan dapat diukur intensitas absorbansinya<sup>75,76,77</sup>.

#### 4.6.5. Penghitungan jumlah sel busa

Teknik pemeriksaan dan penghitungan jumlah sel busa pada tunika intima aorta abdominalis adalah sebagai berikut; 1) tikus didekapitasi, 2) mengambil aorta abdominalis sepanjang 5 cm (di bawah arteri renalis sampai percabangan arteri illiaca)<sup>81</sup>, 3) melakukan pemrosesan jaringan secara 'potong beku', 4) melakukan prosedur pengecatan *Oil-O-Red*, 4) melakukan pemeriksaan dengan mikroskop dengan pembesaran 400 X (okuler 10X, obyektif 40X), 5) menghitung semua sel busa di tunika intima aorta abdominalis secara membata<sup>78</sup>.

#### 4.6.6. Pengukuran ketebalan dinding aorta abdominalis

Sisa jaringan aorta abdominalis yang dilakukan 'potong beku', dilakukan; 1) pemrosesan jaringan dan pembuatan blok parafin, sesuai standar pemeriksaan histopatologi, 2) prosedur pengecatan HE, 3) pemeriksaan dengan mikroskop dengan pembesaran 400 X (okuler 10X, obyektif 40X) (diameter aorta abdominalis yang

diperiksa antara 225 sampai 275 mikron), 4) mengukur ketebalan penampang lintang aorta, dari tunika intima sampai tunika adventitia pada 8 zona (jam 12.00, 13.30, 15.00, 16.30, 18.00, 19.30, 21.00 dan 22.30) secara membujur, 5) menghitung ketebalan dinding aorta, yaitu: (jumlah skala:pembesaran) X 1000 mikron atau jumlah skala X 2,5 mikron, 6) menghitung rata-rata ketebalan dinding penampang lintang aorta abdominalis, dari tunika intima sampai tunika adventitia pada ke-8 zona tersebut<sup>78,79</sup>.

#### **4.7. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini berlangsung selama 1 (satu) bulan. Pemeliharaan hewan coba dan pembuatan injeksi adrenalin dan kuning telur dilakukan di Laboratorium Biokimia FK-UNDIP. Pengukuran kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL dan trigliserida dilakukan di laboratorium klinik 'Setia Husada' Semarang, penghitungan jumlah sel busa dan pengukuran ketebalan dinding aorta dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK-UNDIP.

#### **4.8. Prosedur Persiapan Sampel**

##### **4.8.1. Pembuatan ransum pakan**

Ransum pakan dibuat berdasarkan standar diet murni dari AIN (*American Institute of Nutrition*) 93 M. Pemberian minum dilakukan secara *ad libitum*<sup>80</sup>.

##### **4.8.2. Aklimatisasi**

20 ekor tikus jantan galur Wistar yang sehat berumur 40 minggu dengan bobot normal (180-200 gram), diaklimatisasi di laboratorium dengan dikandangkan per





kelompok dan diberi ransum pakan standar AIN-93 M dan minum secara *ad libitum* selama 1 minggu.

#### 4.8.3. Pembagian kelompok dan pemberian perlakuan

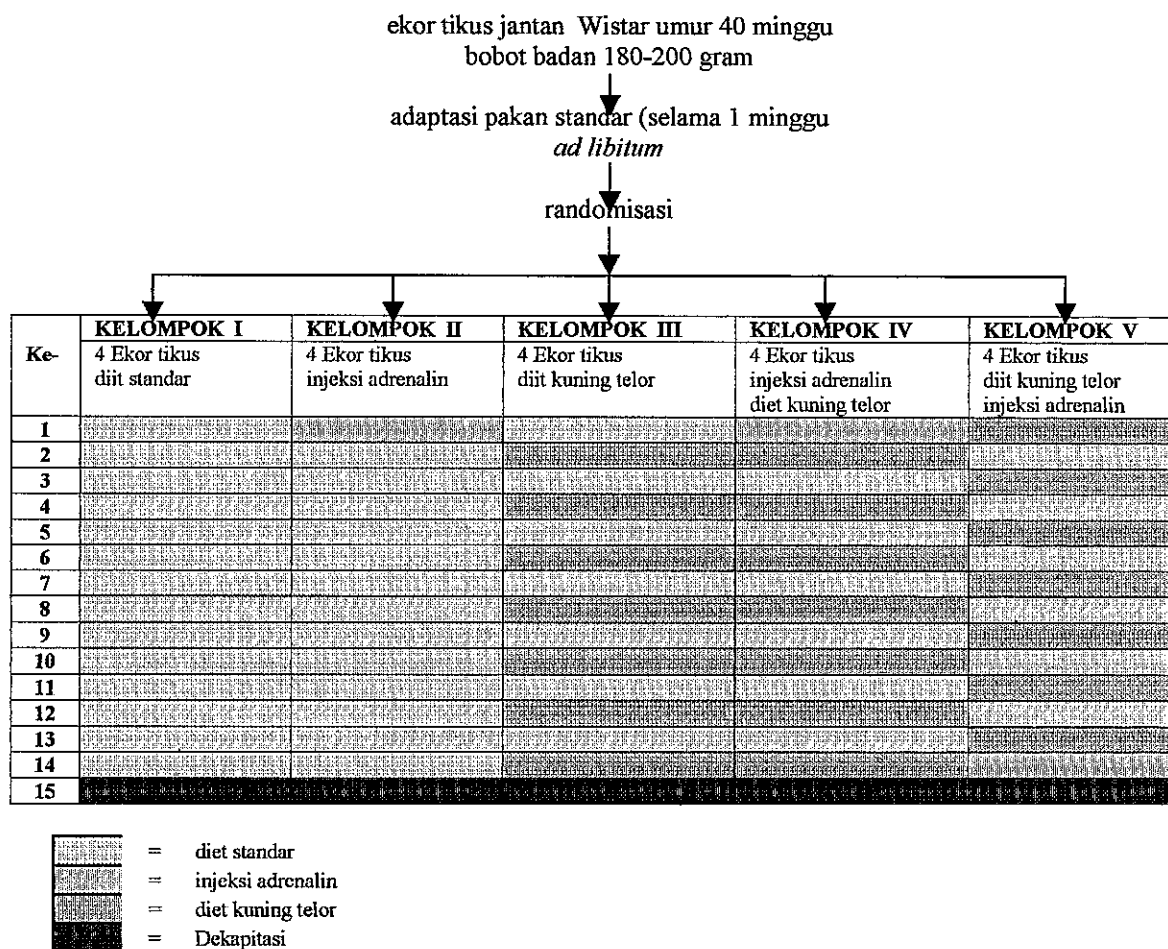
Empat ekor tikus dimasukkan dalam kelompok I (kontrol) dengan hanya diberi pakan standar. Kelompok II adalah 4 ekor tikus yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dengan diet standar. Kelompok III terdiri atas 4 ekor tikus yang diberi diet standar ditambah kuning telur per sonde secara *intermitten*, pada hari ke-2 sampai ke-14. Empat ekor tikus kelompok IV diinjeksi inisial adrenalin di hari pertama, dilanjutkan dengan kuning telur per sonde secara *intermitten* di hari ke-2 sampai ke-14, yang dibarengi dengan pakan standar. Kelompok V adalah 4 tikus yang diberi kuning telur per sonde secara *intermitten* hari ke-1 sampai ke-13, dan diinjeksi adrenalin I.V di hari ke-14.

**Tabel 2.** Pembagian kelompok dan pemberian perlakuan

HARI KE- KELOMPOK	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
I	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet
II	Adrenalin	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet
III	Standard Diet	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Standard Diet
IV	Adrenalin	Standard Diet	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Yellow Egg	Standard Diet
V	Yellow Egg	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Standard Diet	Adrenalin

	= diet standar
	= injeksi adrenalin
	= diet kuning telur
	= dekapitasi

#### 4.8.4. Alur penelitian



Pengambilan darah untuk analisis kadar lipid dan dekapitasi untuk pengambilan aorta abdominalis pada hari ke-15.

**Gambar 9.** Diagram alur penelitian

#### 4.9. Analisa Data

Populasi penelitian ini adalah 20 tikus Wistar jantan, berumur 40 minggu, didapat dari UPHP Yogyakarta, dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, dimana selama penelitian tidak terdapat *drop out*. Pengukuran kadar kolesterol total,

kolesterol HDL, kolesterol LDL dan trigliserida dilakukan sekali dengan spektrofotometer. Penghitungan sel busa dan pengukuran ketebalan dinding aorta dilakukan secara membuta dengan mikroskop pembesaran 400 X.

Data hasil penelitian yaitu; kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL dan trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis, setelah *diedit* dan *dikoding*, akan *dientri* ke dalam *file* komputer. Setelah dilakukan *cleaning*, akan dilakukan analisis statistik dengan urutan sebagai berikut<sup>82</sup>;

#### **4.9.1. Analisa deskriptif**

4.9.1.1. Dilakukan analisis *univariat* dengan menghitung nilai *mean* dan *median* terhadap kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis tiap kelompok, serta disajikan dalam bentuk tabel.

4.9.1.2. Dibuat grafik *box-plot* terhadap kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis menurut kelompok perlakuan.

#### **4.9.2. Analisis Analitik**

4.9.2.1. Dilakukan uji beda antar kelompok, terhadap variabel pengukuran kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, trigliserida, jumlah sel busa dan ketebalan aorta abdominalis, dalam kelompok perlakuan dengan uji *Kruskal-Wallis*.

- 4.9.2.2. Setelah uji *Kruskal Wallis*, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* antara kelompok I dan II, kelompok I dan III, kelompok II dan III, kelompok I dan IV, kelompok I dan V, serta kelompok IV dan V.
- 4.9.2.3. Dilakukan uji korelasi *Spearman*, untuk mengetahui hubungan antara variabel kadar kolesterol HDL, kolesterol LDL dengan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis, setelah setelah didapatkan distribusi data yang tidak normal dengan uji *Kolmogorov-Smirnov*.

## BAB 5.

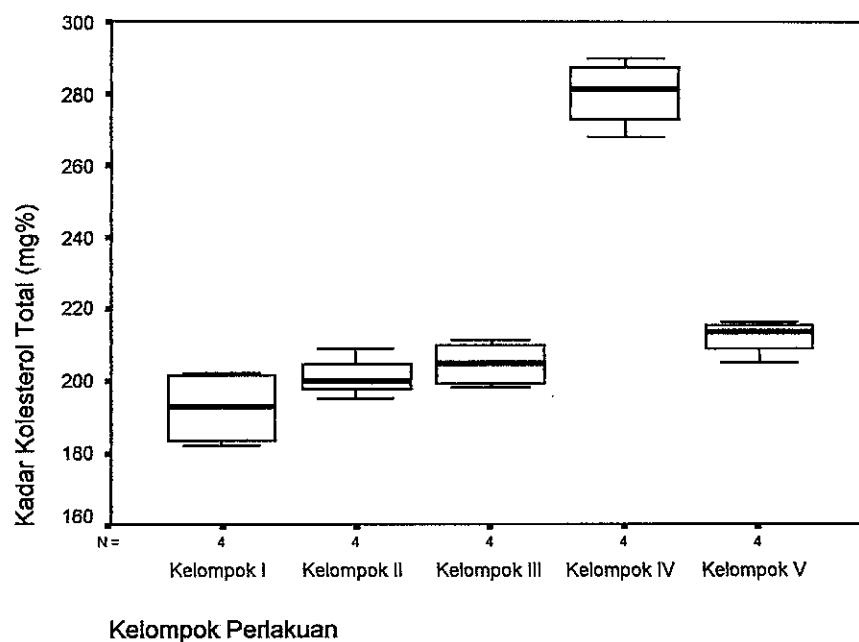
### HASIL PENELITIAN

#### 5.1. Analisis Deskriptif

##### 5.1.1. Kadar kolesterol total

Rerata kadar kolesterol total tikus yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dengan diet KT *intermitten* (kelompok IV) sebesar  $280 \pm 9,63$  atau paling tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain (Tabel 3).

Grafik *boxplot* menggambarkan bahwa *median* kelompok I, II dan III hampir sama, sedangkan *median* kelompok V tidak terlalu berbeda dengan kelompok I, II dan III. *Median* kelompok IV jelas berbeda dengan kelompok lain (Gambar 10).



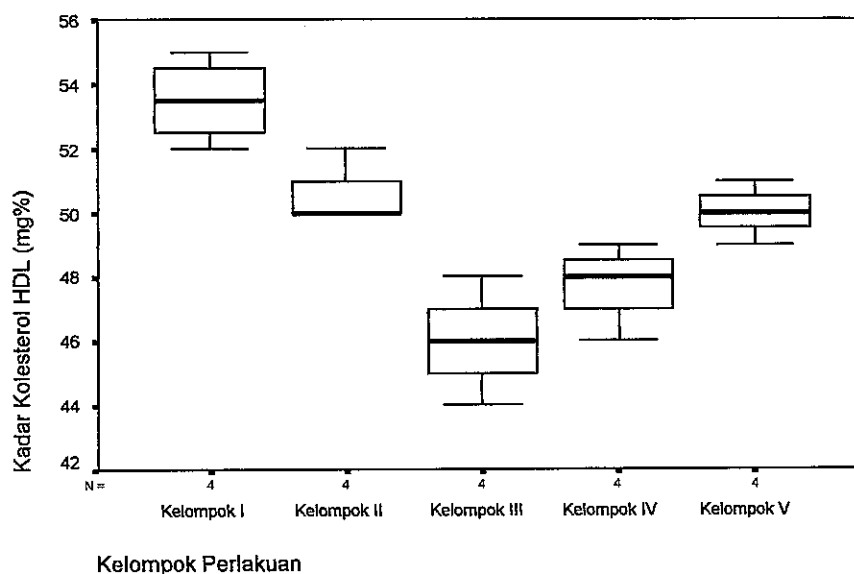
**Gambar 10.** Grafik *boxplot* kadar kolesterol total

Rata-rata kadar kolesterol total tikus yang diberi diet KT *intermitten* yang dilanjutkan injeksi inisial adrenalin I.V (kelompok V), lebih rendah dibandingkan dengan kelompok IV. Sedangkan kadar kolesterol total tikus dengan diet KT *intermitten* (kelompok III) lebih tinggi dibandingkan tikus yang hanya diinjeksi inisial adrenalin I.V (kelompok II). Namun rerata kadar kolesterol total tikus kelompok II masih lebih besar dibandingkan kelompok kontrol ( $192,5 \pm 10,47$ )<sup>82</sup>.

### 5.1.2. Kadar kolesterol HDL

Rata-rata kadar kolesterol HDL kelompok I (kontrol) sebesar  $53,5 \pm 1,29$ , atau paling tinggi dibandingkan kelompok perlakuan (Tabel 3).

Gambaran yang lebih jelas tampak pada grafik *boxplot* (Gambar 11), dimana *median* kelompok I, II, III, IV dan V terlihat berbeda sekali. Namun *median* kelompok II dan V tidak terlalu berbeda.



**Gambar 11.** Grafik *boxplot* kadar kolesterol HDL

Rerata kadar kolesterol HDL tikus kelompok V lebih tinggi dibandingkan kelompok IV. Sedangkan pada tikus kelompok III, lebih rendah dibandingkan kelompok II, dan bahkan rerata kadar kolestrol HDL tikus kelompok II ( $50 \pm 0,82$ ), juga masih lebih tinggi dibandingkan kelompok IV (Gambar 11)<sup>82</sup>.

**Tabel 3.** Nilai *median* dan *mean* kadar kolesterol total, HDL, LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan aorta pada kelompok tikus kontrol (Kelompok I), Kelompok II, Kelompok III, Kelompok IV dan Kelompok V.

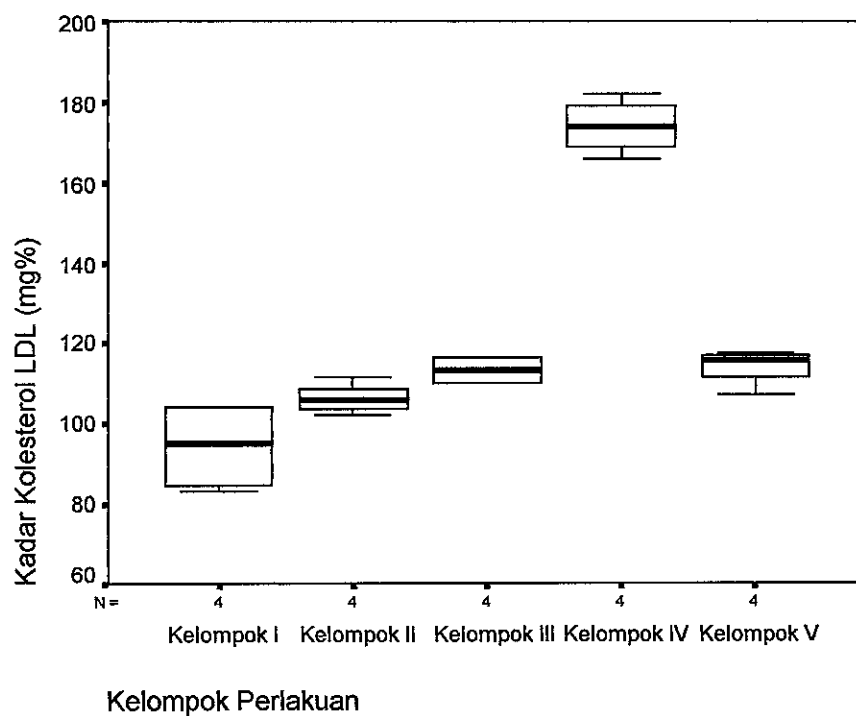
	Kol.Total (mg%)	HDL (mg%)	LDL (mg%)	Trigliserida (mg%)	Jumlah Sel Busa (sel)	Ketebalan Aorta (mikron)
Kelompok I (n=4)						
Median	193	53,5	95	224	1	68
Mean	192,5	53,5	94,25	223	1	68
SD	(10,47)	(1,29)	(11,32)	(3,46)	(0,82)	(0,82)
Kelompok II (n=4)						
Median	200	50	105,5	224	8,5	83,5
Mean	201	50,5	106	222,5	8,75	84
SD	(5,83)	(1)	(3,74)	(6,19)	(0,96)	(1,41)
Kelompok III (n=4)						
Median	204,5	46	113	228	7	79
Mean	204,5	46	113	228,5	7	79
SD	(6,45)	(1,63)	(3,46)	(7,55)	(0,82)	(1,15)
Kelompok IV (n=4)						
Median	281	48	174	292,5	15,5	92,5
Mean	280	47,75	174	291,25	15,5	93,75
SD	(9,63)	(1,26)	(6,73)	(8,06)	(1,29)	(3,59)
Kelompok V (n=4)						
Median	213,5	50	115,5	243	12,5	87,5
Mean	212	50	113,5	241,5	12,5	87,25
SD	(4,83)	(0,82)	(4,57)	(5,26)	(0,58)	(0,96)
<i>p</i>	0,007	0,002*	0,003*	0,006	0,001*	0,001*

\*Kruskal Wallis,  $p < 0,05$

### 5.1.3. Kadar kolesterol LDL

Data kelompok IV pada Tabel 3 menunjukkan bahwa rerata kadar kolesterol LDL paling tinggi ( $174 \pm 6,73$ ), dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain.

Nilai *median* kelompok I, II, III dan IV hampir sama, seperti tergambar pada grafik *boxplot* (Gambar 12). Namun *median* kelompok V berbeda sekali dengan kelompok perlakuan lain.



**Gambar 12.** Grafik *boxplot* kadar kolesterol LDL

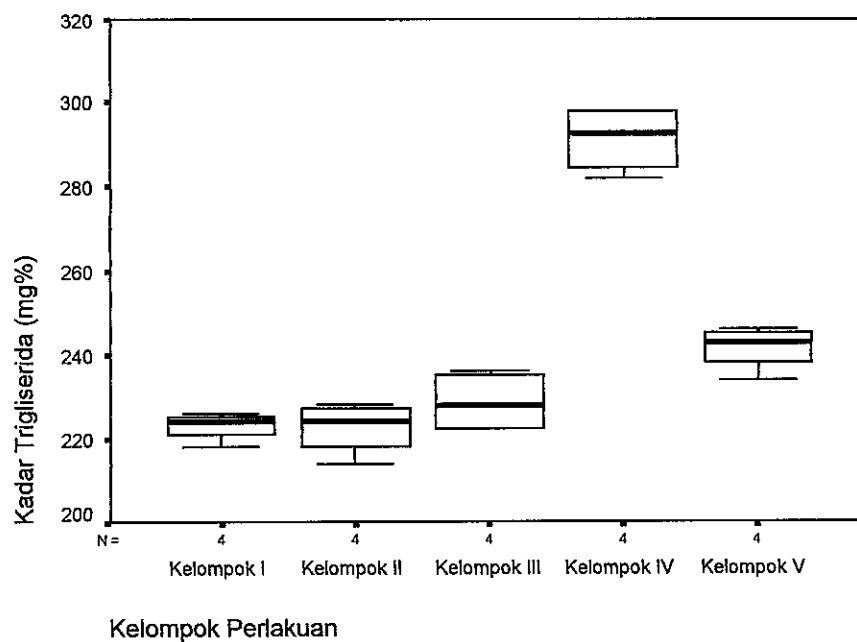
Tikus yang diberi diet KT *intermitten* yang dilanjutkan injeksi inisial adrenalin I.V, rerata kadar kolesterol LDL-nya lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan diteruskan dengan pemberian diet KT *intermitten*.

Sedangkan kadar kolesterol LDL tikus dengan diet KT *intermitten* lebih tinggi dibandingkan tikus yang hanya diinjeksi inisial adrenalin I.V (kelompok II), namun rerata kadar kolesterol LDL tikus kelompok II masih lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol ( $94,25 \pm 11,32$ )<sup>82</sup>.

#### 5.1.4. Kadar trigliserida

Kadar trigliserida rata-rata kelompok IV ( $291,25 \pm 8,06$ ) paling tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain (Tabel 3).

Perbedaan *median* kelompok I, II dan III tampak tidak terlalu besar, seperti tergambar pada grafik *boxplot* (Gambar 13), sedangkan *median* kelompok IV jelas berbeda. Namun, *median* kelompok V tampak berbeda sekali dengan kelompok perlakuan lain.



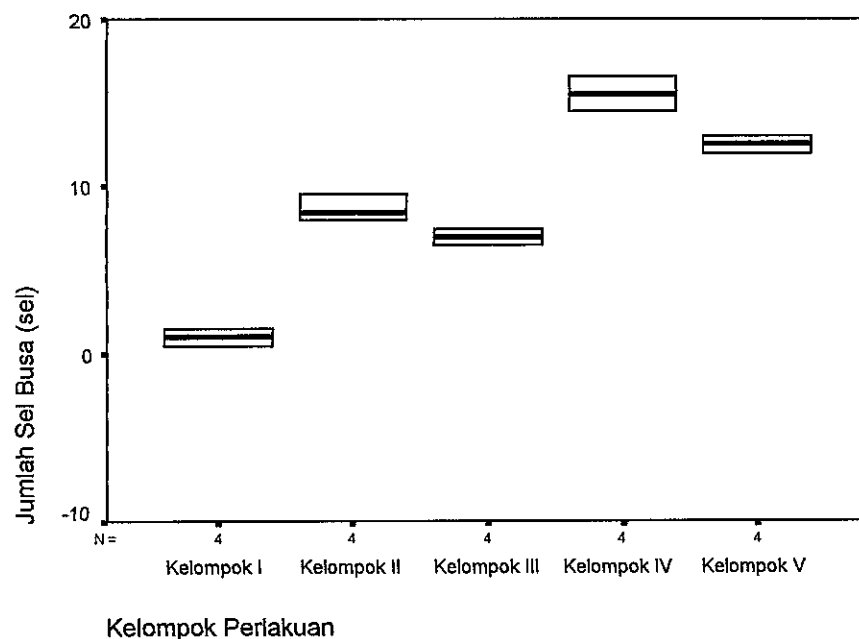
**Gambar 13.** Grafik *boxplot* kadar trigliserida

Rerata kadar trigliserida tikus kelompok V lebih rendah dibandingkan kelompok IV. Sedangkan rerata kadar trigliserida tikus kelompok III lebih tinggi dibandingkan tikus kelompok II, namun rerata kadar trigliserida tikus kelompok II sedikit lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol ( $223 \pm 3,46$ )<sup>82</sup>.

#### 5.1.5. Jumlah sel busa

Rata-rata jumlah sel busa kelompok IV sebanyak  $15,5 \pm 1,29$  (Tabel 3), paling tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain.

Nilai *median* kelompok I jelas berbeda dengan kelompok II, III, IV dan V. Sedangkan perbedaan *median* antara kelompok II dan III tidak terlalu besar, seperti tergambar pada grafik *boxplot* (Gambar 14). Sedangkan *median* kelompok IV dan V sedikit berbeda, namun tampak berbeda sekali dengan kelompok perlakuan lain.



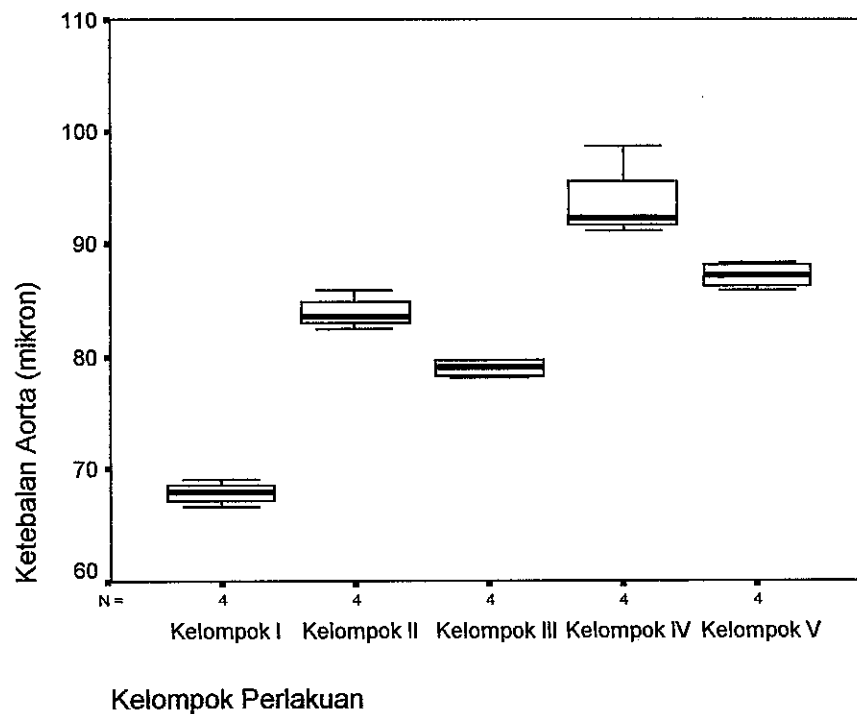
**Gambar 14.** Grafik *boxplot* jumlah sel busa

Tikus yang diberi diet KT *intermitten* yang dilanjutkan injeksi inisial adrenalin I.V, rata-rata jumlah sel busanya lebih sedikit dibandingkan dengan tikus yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan diteruskan dengan pemberian diet KT *intermitten*. Sedangkan rerata jumlah sel busa pada tikus dengan diet KT *intermitten* (kelompok III) lebih sedikit dibandingkan tikus yang hanya diinjeksi inisial adrenalin I.V (kelompok II), namun rerata jumlah sel busa pada tikus kelompok III lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol ( $1 \pm 0,82$ )<sup>82</sup>.

#### 5.1.6. Ketebalan dinding aorta abdominalis

Rata-rata ketebalan dinding aorta kelompok IV sebesar  $93,67 \pm 3,43$  (Tabel 3), atau paling tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan lain.

Grafik *boxplot* (Gambar 15) lebih jelas menggambarkan bahwa *median* kelompok I berbeda sekali dengan kelompok II, III, IV dan V. Sedangkan *median* antara kelompok II dan III tidak begitu berbeda, seperti halnya *median* antara kelompok IV dan V.



**Gambar 15.** Grafik *boxplot* ketebalan dinding aorta abdominalis

Tikus yang diberi diet KT *intermitten* yang dilanjutkan injeksi inisial adrenalin I.V, rata-rata ketebalan dinding aortanya lebih sedikit dibandingkan dengan tikus yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan diteruskan dengan pemberian diet KT *intermitten*. Sedangkan ketebalan dinding aorta tikus dengan diet KT *intermitten* (kelompok III) lebih kecil, dibandingkan tikus yang hanya diinjeksi inisial adrenalin I.V (kelompok II). Namun rata-rata ketebalan dinding aorta tikus kelompok III lebih besar dibandingkan kelompok kontrol, yang hanya  $67,89 \pm 1,03^{82}$ .

## 5.2. Uji Hipotesis

### 5.2.1. Kadar kolesterol total

Untuk menguji lebih dari dua sampel yang bersifat bebas satu dengan yang lain dilakukan uji *Kruskal Wallis* terhadap kadar kolesterol total dalam kelompok perlakuan, dan hasilnya dimuat pada Tabel 3. Kadar kolesterol total dalam kelompok perlakuan  $p=0,007$ , atau tidak berbeda bermakna ( $p>0,05$ )<sup>82</sup>.

Setelah uji *Kruskal Wallis*, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dan hasilnya dimuat dalam Tabel 4. Uji *Mann-Whitney* (Tabel 4) memperlihatkan bahwa kadar kolesterol total kelompok I tidak berbeda bermakna dengan kelompok II dan III ( $p>0,05$ ), demikian juga kadar kolesterol total antara kelompok II dan III ( $p=0,457$ ). Sedangkan kadar kolesterol total kelompok I berbeda bermakna dengan kelompok IV dan V ( $p<0,05$ ), juga kadar kolesterol total antara kelompok IV dan V ( $p=0,021$ )<sup>82</sup>.

**Tabel 4.** Uji beda kadar kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, trigliserida, sel busa dan ketebalan aorta antara kelompok I, kelompok II, kelompok III, kelompok IV, kelompok V.

	Kol. Total (mg%)	HDL (mg%)	LDL (mg%)	Trigliserida (mg%)	Jumlah Sel Busa (sel)	Ketebalan Aorta (mikron)
Kel.IvsKel.II( $p$ )	0,561	0,026*	0,081	0,884	0,019*	0,021*
Kel.IvsKel.III( $p$ )	0,248	0,020*	0,019*	0,559	0,019*	0,021*
Kel.IIvsKel.III( $p$ )	0,457	0,017*	0,080	0,375	0,037*	0,021*
Kel.IvsKel.IV( $p$ )	0,021*	0,020*	0,020*	0,019*	0,020*	0,021*
Kel.IvsKel.V( $p$ )	0,021*	0,020*	0,020*	0,020*	0,019*	0,021*
Kel.IVvsKel.V( $p$ )	0,021*	0,027*	0,021*	0,020*	0,019*	0,021*

\* $p<0.05$

### 5.2.2. Kadar kolesterol HDL

Uji beda kadar kolesterol HDL dalam kelompok perlakuan  $p=0,002$  atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ), seperti tampak pada Tabel 3. Sedangkan hasil uji beda (Tabel 4) HDL antara kelompok I dengan kelompok II ( $p=0,026$ ), kelompok I dengan III ( $p=0,020$ ), kelompok I dengan IV ( $p=0,020$ ), kelompok I dengan dan V ( $p=0,026$ ), atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Uji beda antara kelompok II dan III ( $p=0,017$ ), serta antara kelompok IV dengan V ( $p=0,027$ ), juga berbeda bermakna ( $p<0,05$ ).

### 5.2.3. Kadar kolesterol LDL

Uji beda kadar LDL dalam kelompok perlakuan (Tabel 3)  $p=0,003$  atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ), dimana uji beda LDL kelompok I tidak berbeda bermakna ( $p>0,05$ ) dengan kelompok II ( $p=0,081$ ), demikian juga antara kelompok II dan III ( $p=0,080$ ) (Tabel 4). Tabel 4 juga menunjukkan bahwa kelompok I berbeda bermakna ( $p<0,05$ ) dengan kelompok IV ( $p=0,020$ ) dan kelompok I dengan kelompok V ( $p=0,020$ ) serta antara kelompok IV dengan kelompok V ( $p=0,021$ ), juga berbeda makna ( $p<0,05$ ).

### 5.2.4. Kadar trigliserida

Uji beda kadar trigliserida dalam kelompok perlakuan (Tabel 3),  $p=0,006$  atau tidak berbeda bermakna ( $p>0,05$ ). Pada tabel 4, uji beda kadar trigliserida kelompok I tidak berbeda bermakna ( $p>0,05$ ) dengan kelompok II ( $p=0,084$ ), dan kelompok I dengan kelompok III ( $p=0,559$ ), demikian juga antara kelompok II dengan kelompok

III ( $p=0,375$ ). Sedangkan kelompok I berbeda bermakna ( $p<0,05$ ) dengan kelompok IV ( $p=0,019$ ), dan antara kelompok I dengan kelompok V ( $p=0,020$ ), demikian juga antara kelompok IV dengan kelompok V ( $p=0,021$ ).

#### **5.2.5. Jumlah sel busa**

Uji beda jumlah sel busa dalam kelompok perlakuan (Tabel 3)  $p=0,001$  atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Sedangkan uji beda jumlah sel busa antara kelompok I dengan kelompok II ( $p=0,019$ ), kelompok I dengan kelompok III ( $p=0,019$ ), kelompok I dengan kelompok IV ( $p=0,020$ ) dan kelompok I dengan kelompok V ( $p=0,020$ ), atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Demikian juga antara kelompok II dengan kelompok III ( $p=0,037$ ), serta kelompok IV dengan kelompok V ( $p=0,019$ ), juga berbeda bermakna ( $p<0,05$ ).

#### **5.2.6. Ketebalan aorta abdominalis**

Tabel 3 memperlihatkan bahwa uji beda ketebalan aorta abdominalis,  $p=0,001$  atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Tabel 4 memperlihatkan bahwa uji beda jumlah sel busa antara kelompok I dengan kelompok II ( $p=0,021$ ), kelompok I dengan kelompok III ( $p=0,021$ ), kelompok I dengan kelompok IV ( $p=0,021$ ) dan kelompok I dengan kelompok V ( $p=0,021$ ), atau berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Demikian juga antara kelompok II dengan kelompok III ( $p=0,021$ ), serta kelompok IV dengan kelompok V ( $p=0,021$ ), juga berbeda bermakna ( $p<0,05$ ).

#### **5.2.7. Uji korelasi *Spearman***

Uji korelasi *Spearman* digunakan untuk mengetahui apakah di antara dua variabel terdapat hubungan, serta bagaimana arah hubungan dan seberapa besar

hubungan tersebut, setelah didapatkan distribusi data yang tidak normal dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* ( $p < 0.05$ ). Hasil uji korelasi *Spearman* dimuat dalam Tabel 5<sup>82</sup>.

Uji korelasi (Tabel 5) antara kelompok perlakuan dengan variabel LDL (0,756), antara kelompok perlakuan dengan variabel jumlah sel busa (0,793) dan antara kelompok perlakuan dengan variabel ketebalan aorta (0,776), atau terdapat arah korelasi positif kuat yang signifikan dengan  $p \leq 0,01$ . Sedangkan, koefisien korelasi antara kelompok perlakuan dengan variabel HDL sebesar -0,502 atau terdapat arah korelasi negatif kuat yang bermakna dengan  $p < 0,05$ .

Uji korelasi antara variabel HDL dengan LDL sebesar -0,667 atau terdapat arah korelasi negatif kuat yang signifikan, dengan  $p \leq 0,01$ . Sedangkan koefisien korelasi antara HDL dengan jumlah sel busa adalah -0,415 ( $p = 0,069$ ) dan antara HDL dengan ketebalan aorta sebesar -0,425 ( $p = 0,062$ ), atau terdapat arah korelasi negatif yang tidak bermakna (Tabel 5).

**Tabel 5.** Koefisien korelasi *Spearman* antara variabel kelompok perlakuan, HDL, LDL, jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis.

	Kel.Perlakuan	HDL (mg%)	LDL (mg%)	Sel Busa (sel)	Ketebalan Aorta ( $\mu$ )
Kel.Perlakuan	-	-0,502*	0,756**	0,793**	0,776**
<i>p</i>	-	0,024*	0,000**	0,000**	0,000**
HDL (mg%)	-0,502*	-	-0,667**	-0,415	-0,425
<i>p</i>	0,024*	-	0,001**	0,069	0,062
LDL (mg%)	0,756**	-0,667**	-	0,794**	0,770**
<i>p</i>	0,000**	0,001**	-	0,000**	0,000**
Sel Busa (sel)	0,793**	-0,415	0,794**	-	0,968**
<i>p</i>	0,000**	0,069	0,000**	-	0,000**
Ketebalan Aorta	0,776**	-0,425	0,770**	0,968**	-
<i>p</i>	0,000**	0,062	0,000**	0,000**	-

\*  $p < 0.05$  \*\*  $p \leq 0.01$

Uji korelasi antara variabel LDL dengan jumlah sel busa adalah 0,794 dan antara LDL dengan ketebalan aorta sebesar 0,770, atau terdapat arah korelasi positif kuat yang bermakna, dimana  $p \leq 0,01$  (Tabel 5).

Pada Tabel 5, uji korelasi antara variabel jumlah sel busa dengan ketebalan aorta sebesar 0,968 atau terdapat arah korelasi positif kuat yang signifikan ( $p=0,000$ ).

## BAB 6.

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan apakah aterosklerosis terjadi akibat hiperlipidemia atau akibat jejas pada sel endotel yang menimbulkan respon inflamasi, ataukah interaksi antara hiperlipidemia dan respon inflamasi akibat jejas pada sel endotel. Oleh karena itu, dilakukan injeksi inisial adrenalin intra vena (I.V) dan diet kuning telur *intermitten* untuk menimbulkan proses aterogenesis, dengan mengukur pengaruhnya terhadap perubahan kadar lipid (kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL, trigliserida), jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis<sup>12,15</sup>.

Teori patogenesis aterosklerosis telah mengalami perkembangan, namun masih terdapat kontroversi tentang penyebab utama aterosklerosis, berupa teori infiltrasi lipid dan teori respon terhadap jejas, ataukah kedua teori ini berpartisipasi dalam patogenesis aterosklerosis<sup>12,13,14,15,16</sup>. Penelitian Freestone dan Everson et al. (1997) melaporkan bahwa stres dapat menginduksi bertambahnya ketebalan arteri<sup>15,24</sup>. Sedangkan, Taylor (1997) membuktikan bahwa pemberian kuning telur dapat menimbulkan lesi aterosklerotik, yang ditandai dengan deposit lipid dan penebalan dinding arteri<sup>13</sup>. Sary et al. (1984), Sloop dan Napoli et al. (1999) membuktikan juga bahwa patogenesis aterosklerosis melibatkan makrofag yang menjadi sel busa dan ditimbun dalam tunika intima<sup>8,9,10,12,13</sup>.

### 6.1. Injeksi Adrenalin I.V Meningkatkan Kadar Lipid

Pada penelitian ini, injeksi adrenalin I.V menyebabkan peningkatan yang tidak bermakna terhadap kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida. Namun, justru menurunkan kadar kolesterol HDL secara signifikan. Penelitian pendahuluan Prasetyo, dkk. (2000), juga mendapatkan kesimpulan yang sama<sup>32</sup>.

Peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida terjadi karena adrenalin bersama dengan neurotransmitter lain yang dilepaskan (norepinefrin dan dopamin) dapat memacu terjadinya lipolisis. Lipolisis terjadi akibat adanya afinitas relatif reseptor beta yang sedikit lebih tinggi di jaringan adiposa, dengan mengaktifkan triasilgliserol lipase, kemudian mengakselerasi pemecahan triasilgliserol endogen yang akhirnya meningkatkan lipolisis dan kadar trigliserida<sup>84,85,86</sup>. Adrenalin merangsang aktivitas *adenilat siklase*, enzim yang mengubah ATP menjadi c-AMP, sehingga kadar c-AMP meningkat<sup>87,88</sup>. Lipolisis yang terjadi pada sel lemak, sebagian besar dikendalikan oleh jumlah c-AMP. Sehingga, pemberian adrenalin intravena bisa meningkatkan lipolisis dan meningkatkan kadar trigliserida<sup>84,85,87,838</sup>.

Perlakuan injeksi adrenalin I.V pada penelitian ini sesuai dengan teori dan penelitian terdahulu, yaitu dapat meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida secara tidak bermakna, serta menurunkan kadar kolesterol HDL secara bermakna.

## 6.2. Injeksi Adrenalin I.V Menambah Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis

Penelitian ini mendapatkan bahwa injeksi adrenalin I.V menyebabkan penambahan bermakna jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis. Kalayoglu dan Byrne (1998) juga mengungkapkan bahwa peningkatan jumlah sel busa yang bermakna dapat ditimbulkan dengan menginfeksi *Chlamydia pneumoniae*<sup>16</sup>. Sedangkan Everson et al. (1997) juga melaporkan bahwa terdapat interaksi bermakna antara beban kerja yang menginduksi stres dengan bertambahnya ketebalan arteri<sup>24</sup>.

Injeksi adrenalin I.V menimbulkan respon inflamasi seluler yang menginduksi jejas dan mempengaruhi homeostasis sel endotel, sehingga mengaktivasi dan menimbulkan disfungsi endotel<sup>14</sup>, serta menyebabkan perubahan hemodinamik yang juga memicu terjadinya respon inflamasi dan perubahan ekspresi gen endotel yang menginisiasi terjadinya aterosklerosis<sup>12,14,53</sup>.

Kondisi stres dan ketegangan memicu dan meningkatkan sekresi adrenalin. Pada sistem kardiovaskuler, adrenalin merangsang reseptor  $\beta$ -1 miokardium, meningkatkan denyut dan kekuatan kontraksi jantung (inotropik dan kronotropik positif), COP, metabolisme miokardium, sehingga meningkatkan konsumsi oksigen serta memperpendek tekanan sistolik. Adrenalin juga meningkatkan konduksi melalui nodus AV yang bisa mengakibatkan aritmia ventrikuler, menghasilkan efek vasokonstriksi pembuluh darah kulit dan membran mukosa, mendilatasi pembuluh

darah otot, sehingga menghasilkan efek penurunan tahanan perifer. Pengaruh adrenalin pada sistem kardiovaskuler adalah meningkatkan tekanan sistolik dan menurunkan tekanan diastolik. Keadaan tersebut menimbulkan turbulensi aliran darah, terutama di area percabangan arteri, sehingga menginisiasi jejas endotel dan menginduksi respon inflamasi yang menimbulkan akumulasi makrofag, aktivasi miosit, aktivasi/difungsi endotel dan stres oksidatif, dimana terjadi interaksi sitokin (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IGF, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  dan TNF- $\beta$ ), yang menyebabkan migrasi monosit (secara kemotaktik) menuju ke tempat lesi. Perubahan hemodinamik, juga mengubah ekspresi gen endotel yang memacu adhesi monosit dan sel T di area itu<sup>14,84,86,86</sup>. Stimulasi  $\beta$ -adrenergik akibat adrenalin pada saraf simpatik ginjal, berpengaruh juga pada aktivitas renin plasma, sehingga meningkatkan kadar angiotensin II, yang berakibat meningkatkan tekanan darah dan mempromosi terjadinya aterosklerosis<sup>84,85,89</sup>.

Jadi, injeksi adrenalin I.V pada tikus dalam penelitian ini menginisiasi respon inflamasi seluler yang menginduksi jejas dan mempengaruhi homeostasis sel endotel. Perubahan hemodinamik yang terjadi juga mempromosi respon inflamasi dan ekspresi gen endotel, menginduksi terjadinya aterosklerosis. Akibatnya dapat menambah jumlah sel busa di tunika intima aorta serta mempertebal dinding aorta abdominalis secara signifikan.

### 6.3. Diet Kuning Telur (KT) *Intermitten* Meningkatkan Kadar Lipid

Pemberian diet kuning telur *intermitten* meningkatkan kadar kolesterol total dan trigliserida secara tidak bermakna, namun kadar kolesterol LDL meningkat signifikan. Namun, pada penelitian ini, kadar kolesterol HDL menurun signifikan. Penelitian pada manusia memperlihatkan bahwa asupan kolesterol sebesar 100 mg/hari, rata-rata mengubah kadar kolesterol plasma sebesar 2,5 mg/dl<sup>90</sup>. Schorr et al. (1994) menyatakan bahwa konsumsi 2 butir telur sehari, akan meningkatkan kadar kolesterol total sebanyak 4%, sedangkan kadar HDL meningkat 10%<sup>40</sup>. Vuoristo dan Miettinen (1994) memerlukan tambahan 3 kuning telur (690 mg kolesterol) per hari untuk meningkatkan kadar kolesterol total 23 mg/dl selama 2 bulan., sedangkan kadar HDL naik sekitar 10 mg/dl. Pemberian diet KT pada tikus menyebabkan penurunan kadar kolesterol HDL, sehingga fenomena ini berbeda dengan manusia<sup>91,92,93,94,95</sup>.

Pada manusia, diet KT kaya kolesterol dan trigliserida akan diuraikan oleh enzim lipase lambung, setelah sebelumnya diemulsikan oleh garam empedu. Hasil penguraiannya berupa asam lemak bebas dan dua monogliserida dalam bentuk misel dalam usus halus. Asam lemak bebas dan monogliserida disintesis kembali oleh usus halus menjadi trigliserida dan fosfolipid, kemudian bergabung dengan kilomikron, diangkut menuju hati dan jaringan.

Pada tikus, pemberian diet KT akan sangat mempengaruhi metabolisme kadar kolesterol darah. Namun, kecepatan sintesis kolesterol dalam tubuh akan semakin menurun dengan semakin banyaknya kolesterol yang diabsorpsi<sup>92,93,94</sup>.

Efek pemberian diet KT pada tikus dalam penelitian ini sesuai dengan teori dan penelitian terdahulu, yaitu dapat meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL secara tidak bermakna dan trigliserida serta menurunkan kadar kolesterol HDL secara bermakna.

#### **6.4. Diet Kuning Telur Menambah Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis**

Penelitian ini mendapatkan bahwa diet KT menyebabkan penambahan bermakna jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis. Penelitian ini sejalan dengan pendapat Constantinides (1994) yang menyatakan bahwa pemberian kuning telur per infus pada tikus, akan menyebabkan penimbunan partikel lipid dalam dinding arteri. Sedangkan Steinberg (1997) menyebutkan bahwa, LDL-oks berperan penting dalam proses pembentukan sel busa dan penambahan ketebalan dinding arteri<sup>12,96</sup>.

Adanya korelasi positif kuat yang signifikan antara peningkatan kadar kolesterol LDL dengan penambahan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis, semakin memperkuat teori tentang peran LDL-oks dalam proses aterogenesis. Sedangkan arah korelasi negatif antara pemberian kolesterol HDL dengan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis, juga semakin memperjelas peran HDL dalam proses penghambatan aterogenesis<sup>67,68</sup>. Korelasi positif kuat yang signifikan juga didapatkan pada hubungan antara peningkatan jumlah sel busa dengan penambahan ketebalan dinding aorta abdominalis, yang berarti bahwa setiap penambahan sel busa akan menambah ketebalan aorta.

Diet KT *intermitten* dalam konsentrasi rendah (0,5% sampai 1 %BB) dapat menimbulkan hiperlipidemia. Pemberian diet KT pada tikus yang dilakukan setiap hari, dapat menyebabkan kematian, yang diduga akibat keracunan kolesterol akut. Apabila terjadi hiperlipidemia *prolong*, maka akan terjadi akumulasi lipoprotein di tempat yang mudah mengalami lesi, sehingga menginisiasi disfungsi endotel dengan peningkatan lintas *pinositosis transendotelial* dan mempromosi masuknya plasma ke dalam dinding arteri. Deposit lipid dalam tunika intima akan mencederai miosit dan mendegradasi produk ekstraseluler, sehingga merangsang autoimun. Hiperlipidemi *prolong* memungkinkan terjadinya oksidasi LDL yang mempromosi aterogenesis.

12,94,95,96

Pemberian diet KT *intermitten* pada tikus, sesuai dengan teori dan penelitian terdahulu, yaitu meningkatkan jumlah sel busa dan mempertebal dinding aorta abdominalis secara bermakna.

#### **6.5. Perbedaan Peningkatan Kadar Lipid, Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis, pada Injeksi Adrenalin I.V dan Diet KT *Intermitten***

Peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida pada tikus yang diinjeksi adrenalin I.V, lebih kecil dibandingkan tikus yang diberi diet KT *intermitten*, walaupun perbedaannya tidak bermakna. Sebaliknya penurunan kadar kolesterol HDL pada tikus yang diberi KT *intermitten*, lebih besar dibandingkan pada tikus yang diinjeksi adrenalin I.V, dengan perbedaan penurunan yang bermakna.

Penelitian yang membandingkan pengaruh pemberian penjejas arteri (adrenalin,

kalsiferol, bakteri dll.) dengan diet hiperlipidemia, dengan mengukur perbedaan peningkatan kadar lipidnya belum pernah dilakukan. Penelitian yang ada sebatas mengukur efek pemberian diet hiperlipidemia terhadap perubahan kadar lipid<sup>91,92,93,94,95</sup>.

Pada tikus, efek diet KT terhadap peningkatan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida, serta penurunan kadar kolesterol LDL, lebih besar dibandingkan injeksi adrenalin, karena pemberian diet KT sangat mempengaruhi metabolisme lipid, walaupun kecepatan sintesisnya akan semakin menurun dengan semakin banyaknya lipid yang diabsorpsi<sup>92,93,94,99</sup>.

Penambahan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis pada tikus yang diinjeksi adrenalin I.V, lebih besar secara bermakna dibandingkan tikus dengan diet KT *intermitten*. Teori dan penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa pemicuan adrenalin akibat stres, menimbulkan respon inflamasi seluler yang menginduksi jejas dan menyebabkan disfungsi sel endotel, yang ditandai dengan bertambahnya ketebalan arteri<sup>84,85,89,97,98,100</sup>.

#### **6.6. Pengaruh Injeksi Inisial Adrenalin I.V dan Diet KT *Intermitten* Terhadap Kadar Lipid, Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis**

Penelitian ini mendapatkan bahwa tikus yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dilanjutkan dengan diet KT *intermitten*, mengalami peningkatan kadar kolesterol total, kadar kolesterol LDL dan trigliserida, serta penambahan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis yang bermakna. Sedangkan kadar kolesterol HDL mengalami penurunan yang bermakna. Prasetyo, dkk (2000) juga melaporkan

bahwa perubahan kadar lipid yang lebih besar dapat terjadi pada perlakuan seperti itu. Namun, belum ada laporan penelitian lain yang menghitung jumlah sel busa dan mengukur ketebalan dinding aorta, akibat perlakuan tersebut.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa tikus yang diberi diet KT *intermittent*, kemudian diinjeksi inisial adrenalin I.V, mengalami peningkatan kadar kolesterol total, kadar kolesterol LDL dan trigliserida, serta penambahan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis yang bermakna. Kadar kolesterol HDL-pun mengalami penurunan bermakna. Namun, efek perlakuan ini lebih kecil secara bermakna, dibandingkan perlakuan dengan injeksi inisial adrenalin I.V lebih dulu, baru dilanjutkan dengan diet KT *intermittent*.

#### **6.7. Injeksi Inisial Adrenalin I.V dilanjutkan dengan Diet KT *Intermittent* Sebagai Model Induksi Lesi Aterosklerotik**

Berdasarkan hasil penelitian ini dan mempertimbangkan hasil studi pada tikus transgenik yang telah mengungkapkan bahwa lipoprotein Lp(a), *cholesterol ester transfer protein*, apolipoprotein A (apoprotein utama HDL) dan molekul-molekul lain berpengaruh kecil terhadap aterogenesis<sup>15</sup>, maka upaya untuk menginduksi ateroklerosis dengan memberikan diet hiperkolesterol perlu diperbandingkan dengan perlakuan pada penelitian ini, walaupun hiperkolesterolemia penting pada sekitar 50 persen pasien kardiovaskuler, namun faktor-faktor risiko ateroklerosis lainnya perlu dipertimbangkan<sup>15</sup>.

Pengaruh adrenalin dalam proses terjadinya ateroklerosis adalah sebagai inisiator sekaligus promotor, sedangkan diet KT lebih sebagai promotor aterogenesis.

Adrenalin dapat memicu terjadinya patomekanisme aterosklerosis secara lebih signifikan apabila terjadi kondisi hiperlipidemia, namun kondisi hiperlipidemia tanpa disertai pemicuan respon inflamasi (misalnya oleh adrenalin), kurang bermakna dalam menimbulkan lesi aterosklerotik.

Lesi aterosklerotik tipe I (lesi inisial) secara seluler ditandai dengan penambahan sejumlah sel busa di tunika intima arteri dan penebalan adaptif tunika intima, terutama di regio yang mudah terkena<sup>12,14,53</sup>, maka penghitungan penambahan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis merupakan alternatif teknik identifikasi histopatologis terhadap terjadinya lesi inisial aterosklerotik.

Pengaruh injeksi adrenalin I.V dan diet KT pada perubahan histopatologis aorta abdominalis tikus membantu memperjelas bahwa aterosklerosis jelas suatu respon inflamasi dan bukan merupakan akibat sederhana dari akumulasi lipid, sehingga hasil penelitian ini secara jelas membuktikan bahwa aterosklerosis merupakan interaksi antara hiperlipidemia dan respon inflamasi akibat jejas pada sel endotel arteri. Jika berbagai komponen inflamasi berbahaya bagi arteri secara selektif dapat dimodifikasi dengan mempertahankan aspek protektifnya tetap utuh, maka bisa tercipta pandangan baru dalam diagnosis dan manajemen penyakit pada 50 persen pasien kardiovaskuler yang tidak mengalami hiperkolesterolemi<sup>12,14</sup>.

#### **6.8. Beberapa Keterbatasan Dalam Penelitian**

Penelitian ini memiliki beberapa kelemahan metodologis dan aplikasi klinis. Kelemahan pada metodologi penelitian antara lain; 1) penelitian ini dilakukan pada tikus, sehingga hasilnya tidak mungkin digeneralisasikan pada manusia, 2) jumlah

sampel penelitian ini adalah 4 (empat) untuk tiap kelompok, sehingga pengolahan data menggunakan statistik non parametrik, yang menyebabkan pengambilan kesimpulan lebih lemah, 3) perbedaan kandungan lipid dalam tiap kuning telur dan jumlah diet standar yang dikonsumsi oleh tikus tidak diperhitungkan.

Kelemahan dalam aplikasi klinis pada penelitian ini antara lain; 1) identifikasi aterosklerosis dengan menghitung jumlah sel busa dan mengukur ketebalan aorta abdominalis tidak mungkin diaplikasikan, 2) injeksi adrenalin yang ditujukan sebagai penjejas arteri menjadi tidak relevan dalam aplikasi klinis, karena dalam kenyataannya injeksi adrenalin banyak digunakan sebagai terapi.

## BAB 7.

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1. Kesimpulan

Injeksi inisial adrenalin I.V meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida, namun menurunkan kadar kolesterol HDL. Injeksi inisial adrenalin I.V juga menambah jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

Pemberian diet kuning telur *intermitten* meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida, namun menurunkan kadar kolesterol HDL. Diet kuning telur *intermitten* juga menambah jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

Kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida, tikus Wistar yang diinjeksi adrenalin I.V. lebih rendah dibandingkan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten*, namun kadar kolesterol HDL tikus Wistar yang diinjeksi adrenalin I.V. lebih tinggi dibandingkan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten*. Sedangkan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diinjeksi adrenalin I.V. lebih besar dibandingkan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten*.

Injeksi inisial adrenalin I.V yang diteruskan diet kuning telur *intermitten* meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida, namun menurunkan kadar kolesterol HDL. Perlakuan ini juga menambah jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

Pemberian diet kuning telur *intermitten* yang diteruskan injeksi adrenalin I.V meningkatkan kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida, namun menurunkan kadar kolesterol HDL. Perlakuan ini juga menambah jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

Kadar kolesterol total, kolesterol LDL dan trigliserida, tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan diberi diet kuning telur *intermitten* lebih tinggi dibandingkan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten* dan dilanjutkan injeksi adrenalin I.V, namun kadar kolesterol HDL tikus Wistar yang diinjeksi inisial adrenalin I.V dan diberi diet kuning telur *intermitten* lebih rendah dibandingkan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten* dan dilanjutkan injeksi adrenalin I.V. Sedangkan jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar yang diinjeksi adrenalin I.V. dan diberi diet kuning telur *intermitten* juga lebih besar dibandingkan tikus Wistar yang diberi diet kuning telur *intermitten* dan dilanjutkan injeksi adrenalin I.V

Peningkatan kadar kolesterol LDL berkaitan dengan penambahan jumlah sel busa dan penebalan dinding aorta abdominalis, sedangkan penambahan jumlah sel busa juga berhubungan dengan penambahan ketebalan dinding aorta abdominalis. Sebaliknya, peningkatan kadar HDL berhubungan dengan penurunan kadar kolesterol LDL, serta berkurangnya jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar.

## 7.2. Saran

Sebaiknya dapat dilakukan penelitian yang sama dengan menambah sampel dan memperpanjang masa perlakuan dengan terminasi bertahap, agar lebih mendapatkan kesimpulan yang kuat terhadap tahapan pembentukan lesi aterosklerotik.

Penelitian yang serupa dengan berbagai variasi dosis adrenalin dan kuning telur juga perlu dikerjakan, agar dapat lebih memperjelas efek patogenik yang dihasilkan. Sedangkan untuk lebih membuktikan pengaruh proaterogenik adrenalin dan kuning telur, maka perlu dilakukan penelitian yang ditujukan sebagai penghambat proses aterogenesis (anti aterogenik).

Penghitungan kadar lipid pada kuning telur dan ransum diet standar yang diberikan lebih baik dilakukan.

Pengkajian lebih lanjut untuk melakukan penelitian pada manusia, dengan mempertimbangkan aspek etik dan identifikasi lesi aterosklerotik perlu dilakukan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Ridker, P.M. Inflammation, Atherosclerosis and cardiovascular risk: An epidemiologic view. *Blood-Coagul-Fibrinolysis*. 1999 Feb; 10 Suppl 1: S9-12
2. Hippisley-Cox, Julia., Pringle, Mike., Crown, Nicola., Meal, Andi., Wynn, Alison. Sex inequalities in ischemic heart disease in general practise: cross sectional survey. *BMJ*. 2001 April 7: 7290; 832-834
3. Sijbrands, Eric JG., Westendorp, Rudi GJ., Defesche, Joep C., de Meir, Paul HEM., Smelt, Augustinus HM., Kastelein, John JP. Mortality over two centuries in large pedigree with familial hypercholesterolaemia: family tree mortality study, *BMJ*. 2001 April 28: 7293;1019-1022
4. Magee, R. History of arterial disease in antiquity. *MJA*. 1998; 169:663-666
5. Reddy, K.S., Yusuf S. Emerging epidemic of cardiovascular disease in developing countries. *Circulation*. 1998;97:596-601.
6. Libby, P. The vascular biology of atherosclerosis. <http://www.harcourthealth.com/SIMON/Braunwald/chapter30.pdf>
7. Malcolm, G.T., Oalman M.C., Strong, J.P. Risk factors for atherosclerosis in young subjects: the PDAY Study. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 817:179-188
8. Sary, H.C., Bleakley Chandler, A. & Glasgow, S. A definition of initial fatty streak and intermediate lesions of atherosclerosis. *Circulation*. 1984. 89:2462-2478
9. Napoli, C., Glass, C.K., Witzum, J.L., Deutsch, R., D'Armiento, F.P., & Palinski, W. Influence of maternal hypercholesterolemia during pregnancy on progression of early atherosclerotic lesion in children. Fate of Early Lesions in Children (FELIC) study. *The Lancet*. 1999. 354: 1234-1351
10. Sloop, G.D., Kevin J.W., Ira Tabas, Peter L.W., Martin R.B. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *The New England Journal of Medicine*. June 17. 1999. Volume 340. Number 24:1928-1929
11. Banning, M. The pathogenesis of atherosclerosis. <http://www.Continuingeducation.com/nursing/atherosclerosis/atherosclerosis.pdf>
12. Constantinides, P. The commonest causes of anoxic necrosis. Dalam: *General Pathobiology*. Norwalk Connecticut: Appleton & Lange. 1994; 59-116
13. Taylor, J.M., Jianglin, F. Transgenic rabbit models for study of atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience* 2. d298-308. June 15. 1997
14. Ross, R. Atherosclerosis-an inflamatory disease. *The New England Journal of Medicine*. January 14. 1999; Volume 340. Number 2:115-126
15. Freestone, T., Turner, R.J., Higman, DJ., Lever, MJ., Powell, JT. Influence of hypercholesterolemia and adventitial inflammation on the development of aortic aneurysm in rabbits. *Arteriosclerosis, thrombosis and vascular biology*. 1997;17:10-17
16. Kalayoglu, M.V., Byrne, G.I. Induction of macrophage foam cell formation by *Chlamydia pneumoniae*. *J Infect Dis*. Mar 1998. 177(3):725-9
17. Shih, D.M., Welch, C., Lusic, A.J. New insights into atherosclerosis from studies with mouse models. *Mol-Med-Today*. 1995 Nov; 1(8): 364-72

18. Smith, R. Animal research: the need for a middle ground. Let's promote the three Rs of animal research: replacement, reduction, and refinement. *BMJ*. 2001 February 3; 7281; 248-249
19. Fazio, S., MacRae F.Linton. Mouse models of hyperlipidemia and atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience* 6, d515-525, March 1, 2001
20. Mitchell R.N., Ramzi, S., Cotran. Cell injury and adaptation. In: *Basic Pathology Sixth Ed.* Philadelphia. WB. Saunders Co., 1997; 1-25
21. Segelken, Roger. Turning the 'fight-or-flight' response: Molecular memory of stress prompts adrenaline surges, Cornell study shows. [http://www. Stress & adrenaline\Cornell News Molecular memory of stress.htm](http://www.Stress & adrenaline\Cornell News Molecular memory of stress.htm)
22. Bowyer, D.E., Lecture 39: Trombosis and embolism. [http://www. Stress & adrenaline\L\\_39.htm](http://www. Stress & adrenaline\L_39.htm)
23. Conway, E. de Macario., alberto J.L.M. Stressor, stress, and survival: overview. <http://www.bioscience.org\Frontiers in Bioscience 5, d780-786, September 1, 2000.htm>
24. Everson SA., John W. Lynch, Margareth A. Chesney, George A. Kaplan, Debie E. Goldberg, Starley B. Shade, Richard D. Cohen, Ritta Salonen, Jukka T. Salonen. Interaction of workplace demands and cardiovascular reactivity in progression of carotid atherosclerosis: population based study. *BMJ*. 1997 February 22: 314;553
25. Mehta, D., Angelini, GD., Bryan, AJ. Experimental models of accelerated atherosclerosis syndromes. *Int-J-Cardiol*. 1996 Oct 25; 56(3): 235-57
26. Andre,P., Bal-dit-Sollier, C., Bonneau, M., Pignaud, G., Hainaud, P., Azzam, K., Drouet, L. Which experimental model to choose to study arterial thrombosis and evaluate potentially useful therapeutics?. *Haemostasis*. 1996 Oct; 26 Suppl 4: 55-69
27. Sary H.C. et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis. American Heart Association. <http://www.americanheart.org/Scientific/statements/1994/059401/html>
28. Constantinides,P. General cell injury. In: *General pathobiology*. Norwalk Connecticut: Appleton & Lange. 1994; 1-58
29. Mitchell Richard, N., Ramzi, S., Cotran. Acute and chronic inflammation. In: *Basic pathology sixth ed.* Philadelphia. WB. Saunders Co., 1997; 1-25
30. Constantinides, P. Inflammation response. In: *General pathobiology*. Norwalk Connecticut: Appleton & Lange. 1994; 133-58
31. Mitchell Richard, N., Vinay Kumar. Hemodynamic disorders, thrombosis, and shock. In: *Basic pathology sixth ed.* Philadelphia. WB. Saunders Co., 1997; 60-80
32. Prasetyo, A., Udadi, S., Ika, PM. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin bitatras intra vena dan diet kuning telur intermitten. *Penelitian pendahuluan. Media medika Indonesiana*. Vol. 35 No. 3. 2000; 149-157
33. Tuveri M. Pathophysiological aspects of vascular disease, role of hemodynamic factors. *Biomedical application group. METDST* 1999. September 2; 18:51:14

34. Potnios AV., Severina D'Mello. Essential hypertension--A review. [http://www.bhj.org/journal/1996/3801\\_jan/reviews\\_127.htm](http://www.bhj.org/journal/1996/3801_jan/reviews_127.htm)
35. Konecky, N. et al. Correlation between plasma homocyst(e)ine and aortic atherosclerosis. *Am.Heart.J* 133 (5):534-40, 1997. Mosby-Year Book, Inc.
36. Djokomoeljanto, R. The role of folic acid in the prevention of cardiovascular diseases. Dalam: *Kumpulan Makalah Lengkap Asam Folat dari Vitamin ke Obat*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang. April 2001: 8-28
37. Fowkes FGR., JF. Price, GC. Leng. Targeting subclinical atherosclerosis. *BMJ* 1998. June 13;316:1764-1770
38. Min Song-Jong, Hyo-Soo Kim et al. Effects of hypercholesterolemia on macrophage infiltration after ballon injury to rabbit iliac artery. <http://plaza.umin.ac.jp/%7Ecirc/conV62.html>
39. Tuomilehto J. Diabetes as a risk factor for cardiovascular disease. <http://plaza.umin.ac.jp/%7Ecirc/conV64.html>
40. Elizabeth B.C., Deborah L. Wingard. 'Normal' blood glucose and coronary risk. Dose response effect seems consistent throughout the glycaemic continuum. *BMJ*. 2001 January 6: 7277; 5-6
41. Owa M. et al. Emotional stress-induced 'ampulla cardiomyopathy'-disparency between the metabolic and symphathetic innervation imaging performs during the recovery course. *Jpn Circ J* 2001; 65:349-352
42. Diez Roux AV., et al. Neighborhood of residence and incidence of coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine*. 2001 July 12. Number 2. Vol 345:99-106.
43. Glaser, R., Kiecolt-Glaser, J.K., Marucha, P.T., MacCallum, R.C., Laskowski, B.F. & Malarkey, W.B. Stress-related changes in proinflammatory cytokine production in wounds. *Archives of General Psychiatry*. 1999;56:450-456
44. Kiecolt-Glaser, J.K. Page, G.G., Marucha, P.T., MacCallum, R.C., & Glaser, R. Psychological influences on surgical recovery: Perspectives from psychoneuroimmunology. *American Psychologist*. 1998.53; 1209-1218
45. Kiecolt-Glaser, J.K., Marucha, P.T., Malarkey, W.B., Mercado, A.M., & Glaser, R. (1995). Slowing of wound healing by psychological stress. *Lancet*, 346, 1194-1996
46. Marucha, P.T., Kiecolt-Glaser, J.K., & Favagehi, M. Mucosal wound healing is impaired by examination stress. *Psychosomatic Medicine*. 1998;60;362-365
47. Sherer Y., Aviv Shaish, Hana Levkovitz, Pnina Keren, Zora Janackovic, Yehuda Shoenfeld, Dror harats. Magnesium fortification of drinking water supresses atherogenesis in male LDL-receptor-deficient mice. *Pathobiology* 1999;67:207-213
48. Rabinoff MDO. Body iron stores, infection and risk of acute myocardial infarction. *Circulation*. 1999;100:446-449
49. Visser MR., GM. Vercellotti, JB. McCarthy, JL. Goodman, TJ. Herbst, LT. Furcht, HS. Jacob. Herpes simplex virus inhibit endothelial cell attachment and migration to extracellular matrix proteins. *American Journal of Pathology*, Vol 134, 1999;323-230

50. Libby P., Debra Egan, Sonia S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: An assesment of the evidence and need for future research. *Circulation*. 1997;96:4095-4103.
51. Napoli C., Francesco PD., Francesco PM., Alfredo P., Joseph LW., Giuseppe P., Wulf P. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation preecede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J.Clin.Invest*. Volume 100, Number 11, December 1997;2680-2690.
52. Gurr, MI., Role of fats in food and nutrition. 2<sup>nd</sup> Ed. New York: Elseiver Science Publisher Ltd. 1992:7-51; 79-95.
53. Kumar V., Cotran, RS., Robbins, SL., Blood and vessels. Dalam: Basic Pathology Sixth Ed. Philadelphia. WB. Saunders Co., 1997; 281-307.
54. Underwood, JCE. Sistem kardiovaskuler. Dalam: Patologi umum dan sistematik. Edisi bahasa Indonesia. Ed: Sarjadi. EGC. Jakarta.2000;323-378.
55. Stary H.C. et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.1995;15:1512-1531
56. Carr, C. Sandra, Vasana Cheanvechai. Histology and clinical significance of the carotid atherosclerotic plaque: Implications for endovascular treatment. *Journal of Endovascular Therapy*. Vol 4, No. 4, pp.321-325
57. Murohara, T., Horowitz, J.R., Silver, M., Tsurumi, Y., Chen, D., Sullivan, A.I.J.M. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation* 97(1):99-107, 1998 Jan 6-13
58. Graves, D.T., Yanling Jiang, Anthony J.V. The expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and other chemokines by osteoblast. *Frontriers in Bioscience* 4. July 1.1999: d571-580.
59. Shimokawa, H. Clinical assesment of endothelial function. <http://www.j-circ.or.jp/english/sessions/reports/64th-ss/shimokawa.htm>
60. Van der Wal, AC., PK. Das, AJ. Tigges, AE. Becker. Adhesion molecules on the endothelium and mononuclear cells in human atherosclerotic lesions. *American Journal of Pathology*. 1992. Vol 141:1427-1433
61. Schwenke, DC., TE Carew. Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits. I. Focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis*. Vol 9.1989.895-907.
62. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*.1995;91:2844-2850.
63. Stinga, E. V. Knauper, G. Murphy, J. Gavrilovic. Collagen degradation and platelet-derived growth factor stimulate the migration of vascular smooth muscle cells. *J.Cell Sci*.113.2000:2055-2064
64. Grainger, DJ., JC. Metcalfe, AA. Grace, DE. Mosedale. Transforming growth factor-beta dynamically regulates vascular smooth muscle differentiation in vivo. *J.Cell ci*. 111. 2000:2977-2988

65. Sanz-Gonzales, SM., Enric Poch, R. Ignacio Perez, J. Antonio Diez. Control of vascular smooth muscle cell growth by cyclin-kinase inhibitory proteins and its implication in cardiovascular. *Frontiers in Bioscience* 5. July, 2000: d619-628
66. Knopp R.H. Drug treatment of lipid disorders. *NEJM*. Augst 12,1999. Volume 341:498-511
67. Kuivenhoven, JA., J. Wouter J., Aeilko H.Zwinderman, Peter de Kniff, Ruth McPherson, Albert V.G. Brusckke, Kong I. Lie, John J.P. Kastelein. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. *NEJM*. Jan 8,1998. Vol. 338:86-93
68. Rader D.J. Research summary. <http://health.upenn.edu/~CET/rader.htm>
69. Panza J.A. High-normal blood pressure-more "high" than "normal". *The New England Journal of Medicine*. November 1. 2001; Volume 345. Number 18:1337-1339.
70. Aikawa, M. Lipid lowering as an anti-inflammatory therapy on vulnerable atherosclerotic plaques. [Webmaster@j-circ.or.jp](mailto:Webmaster@j-circ.or.jp)
71. Rekher, M.D., et al. Hypercholesterolemia causes mechanical weakening of rabbit atheroma. Local collagen loss as a prerequisite of plaque rupture. *Circ Res*.2000;86:101-108
72. Sastroasmoro, S., Sofyan Ismael. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Binarupa Aksara. 1995;109-125
73. Campbell, S. Expressing the dose of adrenaline in milligrams is easier. <http://www.bmj.com.campbell311/70>
74. Donatus I.A., Nurlaila. Prinsip umum uji toksisitas. Dalam: Kursus penyegaran obat tradisional dan fitoterapi uji toksikologi. Panitia Lustrum VIII & Reuni Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 1986.
75. Tim Patologi Klinik. Tuntunan praktikum patologi klinik. Yogyakarta: Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. 1996:39-44
76. Valtek diagnostics. Total cholesterol (CHOD-PAP), HDL cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides GPO-PAP. <http://www.valtekdiagnostics.com>
77. Spectralab. Cholesterol enzymatic colorimetric test (CHOD- PAP) <http://www.spectralab.org/reagents.asp?Reagtid=15>
78. Luna L.G. Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. McGraw-Hill Book Co. Third Ed.140-141
79. Tjarta, A., M. Kanoko. Panduan pemeriksaan histopatologi. Dalam: Workshop on multicenter study on etiology and clinicopathology of skin cancer. Jakarta. Okt. 1997
80. Reeves, PG., Nielsen, FH., Fahey, GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *J. Nutr.*, 1993;123:1939-1951
81. Davies M.J., Aortic aneurysm formation. Lessons from human studies and experimental models. *Circulation*.1998;98:193-195
82. Santoso S., SPSS, mengolah data statistik secara professional. PT. Elex Media Komputindo. Gramedia. Jakarta. Desember 2000.

83. Santoso S., Buku latihan SPSS statistic non parametrik. PT. Elex Media Komputindo. Gramedia. Jakarta. 2001.
84. Hoffman B.B. Adrenoceptor activating drugs. In: Basic & clinical pharmacology, 7<sup>th</sup> edition. Editor: Bertram G. Katzung. Norwalk Connecticut. Appleton & Lange.1998;118-133.
85. Setiawati, A. Adrenergik. Dalam: Farmakologi dan terapi. Ed. 4 (dengan perbaikan). Bagian Farmakologi FK-UI. Jakarta.1998;57-67.
86. Weine, N. Norepinephrin, epinephrine and the sympathomimetic amines. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Sixth Ed. Macmillan Publishing Co. Inc. Canada; 138-175
  
87. Mayes, Peter A. Pengangkutan dan penyimpanan lipid. Dalam Biokimia Harper. Edisi 24. Terjemahan. Penerbit EGC. Jakarta.1999; 260-276
88. Granner D.K. Hormon korteks adrenal. Dalam Biokimia Harper. Edisi 24. Terjemahan. Penerbit EGC. Jakarta.1999; 562-575
89. Feghali, C.A., Timothy M.W. Cytokines in acute and chronic inflammation. Frontiers in Bioscience 2,d12-26, January 1, 1997.htm
90. Ginsberg et al., A dose-response study of the effects of dietary cholesterol on fasting and postprandial lipid and lipoprotein metabolism in healthy young men. 1994. Arterioscler. Trombosis. 14:576-586
91. Schnohr et al., Egg consumption and high-density lipoprotein cholesterol. 1994. J. Intern. Med. 235:249-251.
92. Vuoristo, Miettinen. Absorption, metabolism and serum concentrations of cholesterol in vegetarians: effects of cholesterol feeding. 1994. Am.J.Clin.Nutr. 59:1325-1331
93. Kern. Effects of dietary cholesterol on cholesterol and bile acid homeostasis in patients with cholesterol gallstones. 1994. J. Clin. Invest. 93:1186-1194.
94. Ginsberg et al., Increases in dietary cholesterol are associated with modest increases in both LDL and HDL cholesterol in healthy young women. 1995. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 15: 169-178.
95. Ferrier et al. Alpha-linolenic acid-and docosahexaenoic acid-enriched eggs from hens fed flaxseed: influence on blood lipids and platelet phospholipid fatty acid in humans. 1995. Am. J. Clin. Nutr. 62: 81-86.
96. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation. and its pathobiological significance. JBC Online. August 22.1997; Volume 272.Number 34:20963-20966
97. Feghali, C.A., Timothy M.W. Cytokines in acute and chronic inflammation. Frontiers in Bioscience 2,d12-26, January 1, 1997.htm
98. Potnios AV., Severina D'Mello. Essential hypertension—A review. [http://www.bhj.org/journal/1996/3801\\_jan/reviews\\_127.htm](http://www.bhj.org/journal/1996/3801_jan/reviews_127.htm)
99. Prasetyo, A., Udadi S. Peran omega-3 terhadap penghambatan aterogenesis. Dalam: Media medika Indonesiana. Vol. 34 No. 4. 1999; 233-36
100. Kumar,V. Cotran, RS., Robbins ,SL. Blood and vessels. In: Basic pathology sixth ed. Philadelphia. WB. Saunders Co. 1997; 281-307