

**PERBEDAAN KADAR *NITRIC OXIDE*  
DAN DERAJAT STENOSIS PADA PENDERITA  
PENYAKIT JANTUNG KORONER  
DENGAN DAN TANPA DIABETES MELITUS**

***DIFFERENCE OF NITRIC OXIDE CONCENTRATION  
AND STENOSIS DEGREE IN CONGESTIVE HEART FAILURE  
PATIENT WITH AND WITHOUT DIABETES MELLITUS***



**Tesis**

**Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat sarjana S-2  
dan memperoleh keahlian dalam bidang Patologi Klinik**

**WIDIASTUTI**

**PROGRAM PASCASARJANA  
MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
DAN  
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I PATOLOGI KLINIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2010**

**LEMBAR PENGESAHAN HASIL PENELITIAN**

**PERBEDAAN KADAR *NITRIC OXIDE* DAN DERAJAT STENOSIS  
PADA PENDERITA PENYAKIT JANTUNG KORONER  
DENGAN DAN TANPA DIABETES MELITUS**

Disusun oleh :

Widiastuti

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing utama,

Pembimbing kedua,

Dr. Purwanto AP,SpPK(K)  
NIP. 195304051983011001

dr. Herniah AstiW, SpPK  
NIP. 196108181989022001

Mengetahui

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik  
Program Pascasarjana UNDIP

Ketua Program Studi  
Patologi Klinik  
Fakultas Kedokteran UNDIP

DR.dr. Winarto, SpMK, SpM(K), DMM  
NIP.194061711978021001

dr. Purwanto AP, SpPK(K)  
NIP. 195304051983011001

**LEMBAR PENGESAHAN HASIL PENELITIAN**

**PERBEDAAN KADAR *NITRIC OXIDE***

**DAN DERAJAT STENOSIS**

**PADA PENDERITA PJK DENGAN DAN TANPA DM**

Disusun oleh :

Widiastuti

Menyetujui,  
Komisi Pembimbing

Pembimbing utama,

Pembimbing kedua,

Dr. Purwanto AP, SpPK(K)  
NIP. 195304051983011001

dr. Herniah AstiW, SpPK  
NIP. 196108181989022001

Mengetahui

Ketua Program Studi Patologi Klinik  
Fakultas Kedokteran UNDIP

dr. Purwanto AP, SpPK(K)  
NIP. 195304051983011001

Ketua Program Studi  
Patologi Klinik  
Fakultas Kedokteran UNDIP

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik  
Program Pascasarjana UNDIP

dr. Purwanto AP, SpPK(K)  
NIP. 195304051983011001

DR.dr.Winarto, SpMK, SpM(K), DMM  
NIP.194061711978021001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya 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 tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang , M e i 2010

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

### I. Identitas

Nama : dr.Widiastuti  
NIM Magister Biomedik : GA4006044  
NIM PPDS-I Patologi Klinik : G3R006125  
Tempat tanggal lahir : Bandung, 14 April 1967  
Agama : Kristen  
Jenis kelamin : Perempuan

### II. Riwayat Pendidikan

1. Sekolah Dasar : SDN Pasirkaliki 96 Bandung  
2. SLTP : SMPN 6 Bandung  
3. SLTA : SMAN 1 Bandung  
4. Dokter Umum : FK. UNPAD Bandung

### III. Riwayat Pekerjaan

1. Dokter PTT (1995-1997) : Puskesmas Jambu Kecamatan Jambu  
Kabupaten Semarang. Jawa Tengah  
2. Dokter IGD ( 1997-1998 ) : RS William Booth Semarang  
3. Dokter purna waktu : RS Panti Wilasa Citarum Semarang  
( 1998- sekarang )

### III. Riwayat Keluarga

Nama suami : Drs. Wawan Mispahatmo  
Nama Anak  
1. Citra Wanodya Primaloka  
2. Tista Gita Pritala

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa sehingga atas berkat dan karuniaNya kami dapat menyelesaikan tugas laporan penelitian guna memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan Program Dokter Spesialis I dalam bidang Patologi Klinik dan Program Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Penulis menyadari tugas ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa bantuan dari berbagai pihak. Kepada **Dr. Purwanto AP, SpPK(K)** selaku pembimbing utama dan kepada **dr.Herniah Asti. W, SpPK** selaku pembimbing kedua atas segala doa, dukungan dan semangat yang telah diberikan untuk mengerjakan dan menyelesaikan penelitian ini. Kami menyampaikan rasa terima kasih dengan tulus atas bimbingan sekaligus sebagai guru kami yang dengan sabar dan bijaksana telah meluangkan waktu membantu dan mengarahkan demi terselesainya program pendidikan kami. Dalam kesempatan ini penulis juga menghaturkan terima kasih kepada :

1. **Prof. Dr. dr. Susilo Wibowo, MS.Med, Sp.And,** Rektor Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS-I Patologi Klinik.

2. **Prof. Drs. Y. Warella, MPA, PhD**, Direktur Pasca Sarjana Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik.
3. **Dr.dr. Winarto, SpMK, SpM(K),DMM**, Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan Program Pasca Sarjana Ilmu Biomedik.
4. **dr. Purwanto AP, SpPK(K)**, Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis –I Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini
5. **dr. Imam Budiwiyono, SpPK(K)**, Kepala Bagian Patologi Klinik Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini
6. **dr. Soejoto, PAK, SpKK(K)**, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS-I Patologi Klinik.
7. **dr. Hendriani Selina, SpA(K)**, Direktur RS Dr. Kariadi atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada kami dalam rangka menyelesaikan PPDS-I Patologi Klinik.
8. Seluruh staf pengajar PPDS-I Patologi Klinik FK UNDIP, para guru kami :  
**Prof.dr. Lisyani B. Suromo SpPK(K), dr.MI. Tjahjati, SpPK; dr.Hj. Banundari RH, SpPK(K) ; dr. Indranila KS, SpPK(K) ; dr. Herniah AW,**



**SpPK ; dr. Ria Triwardhani, SpPK ; dr. Nyoman Suci, Mkes,SpPK** yang telah membimbing dan membantu kami selama pendidikan ini.

9. Seluruh tim penguji, **Prof.Dr.dr.H.Tjahjono,SpPA(K),FIAC; Dr.dr. Winarto, SpMK, SpM(K),DMM, dr.MI. Tjahjati, SpPK; dr. Sodiqur Rifky, SpJP,FIHA ; dr.Niken Puruhita, MMed.Sc,SpGK ; Dr.dr. Andrew Johan , M.Si**
10. **Ayah, Bapak Pardjan; Ibu, Martha( Alm. )** tercinta, yang dengan penuh kasih sayang dan pengorbanan telah mengasuh, membesarkan, mendidik dan menanamkan rasa disiplin dan tanggung jawab, senantiasa memberikan semangat. sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus
11. Kedua **Mertuaku (Alm)** yang dengan penuh kasih sayang dan perhatian memberikan dorongan semangat, bantuan moril , sujud dan bakti kami haturkan dengan tulus hati
12. Suamiku tercinta **Drs. Wawan Mispahatmo**, buah hatiku **Citra Wanodya Primaloka** dan **Tista Gita Pritala** yang senantiasa memberikan nuansa hidup serta cinta kasih yang tak ternilai, yang begitu luar biasa setia dan tabah mendampingi dalam segala suasana, memberikan dorongan, semangat, pengorbanan dan doa selama menjalani pendidikan.
13. Teman-teman sejawat residen Patologi Klinik ;**dr.Andreas CH,MSi.Med,SpPK; dr. Birhasani MSi.Med.SpPK; dr.Kristiawan ; dr.Emmy ; dr.Muji ; dr.Benny ; dr. Rini ; dr. Inda ; dr. Dian ; dr.Meita ; dr.Emma ;dr. Laily ; dr.Rosyid ;dr.Kaban ; dr.Lia ; dr.Ety ; dr.Fraulein;**

**dr Ferika ; dr.Agus I ; dr.Siti ; dr.Sri ;dr.Yinyin ; dr.Laning ;dr.Seno ;dr.Indra ; dr.Monik ; dr.Agus R ; dr.Edward ; dr.Darmawan ; dr.Dyah ; dr.Jimmy ; dr.Nurul ; dr.Ratri ;dr.Sari ;dr.Tamti**, yang selalu memberi bantuan, dukungan dan semangat selama pendidikan ini.

14. Para sejawat **alumni Patologi Klinik FK NDIP : dr.Indrayani P, MSi.Med,SpPK ; dr.Junaidi W, MSi.Med,SpPK ;dr.Edy P, MSi.Med, SpPK ; dr.Prima A, MSi.Med,SpPK ; dr.Lily V, MSi.Med,SpPK ; dr.Danis P, MSi.Med,SpPK ; dr. Juwairiyah, MSi.Med,SpPK ; dr.Yekti H, MSi.Med,SpPK ; dr. Tjhi Megawati, MSi.Med,SpPK ; dr. Rachmania Q, SpPK ; dr. Agus M, SpPK ; dr. Ima AL, MSi.Med,SpPK**, yang banyak mendukung dan mendoakan selama selama pendidikan ini.
15. Seluruh **staf laboratorium RS Dr.Kariadi beserta keluarga , staf laboratorium GAKI, dan staf UPJ** yang telah membantu dan berpartisipasi dalam penelitian ini
16. **Semua pihak** yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, yang turut membantu dan mendukung pendidikan kami selama ini.

Akhirnya kami menyadari bahwa karya akhir ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu sumbang saran dan kritik dari para guru serta pembaca lainnya akan kami terima dengan senang hati demi perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap penelitian ini dapat berguna bagi masyarakat dan memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Tak lupa kami mohon maaf yang sebesar-besarnya apabila selama menempuh pendidikan

maupun dalam pergaulan sehari-hari ada hal-hal yang kurang berkenan Semoga Allah SWT melimpahkan berkat dan kemurahanNya kepada kita semua . Amin

Semarang M e i 2010

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	x
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT	xx
BAB 1      PENDAHULUAN	
1.1.    Latar Belakang	1
1.2.    Rumusan Masalah	4
1.3.    Tujuan Penelitian	
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4.    Manfaat Penelitian	5
1.5.    Originalitas Penelitian	6
BAB 2      TINJAUAN PUSTAKA	
2.1.    Penyakit Jantung Koroner (PJK)	7
2.1.1. Definisi	7

2.1.2.	Patofisiologi PJK	7
2.1.3.	Faktor risiko PJK	9
2.1.3.1.	DM sebagai faktor risiko PJK	9
2.1.3.1.1.	Definisi DM	9
2.1.3.1.2.	Patofisiologi DM	10
2.1.3.1.3.	Diagnosis DM	11
2.1.3.1.3.1.	Pemeriksaan fisik pada DM	11
2.1.3.1.3.2.	Pemeriksaan Laboratorium DM	11
2.1.4.	Gambaran klinis PJK	12
2.1.5.	Diagnosis PJK	12
2.1.5.1.	Pemeriksaan laboratorium PJK	12
2.1.5.2.	Pemeriksaan diagnosis lain	13
2.1.5.2.1.	Angiografi koroner Pemeriksaan laboratorium PJK	13
2.2.	Nitric Oxide (NO)	14
2.2.1.	Definisi	14
2.2.2.	Struktur dan sintesa	15
2.2.2.1.	Struktur	15
2.2.2.2.	Genetika	15
2.2.3.	Peran metabolik	16
2.2.4.	Hubungan DM, PJK dan NO	18
2.2.5.	Faktor-faktor lain yang mempengaruhi NO	22
2.2.5.1.	Merokok.	22
2.2.5.2.	Hipertensi	23
2.2.6.	Metode Pemeriksaan NO	24
2.2.6.1.	Prinsip pemeriksaan	24
2.2.6.2.	Nilai rujukan	24
2.2.6.3.	Interferensi hasil	24

2.3.	Kerangka teori	26
2.4.	Kerangka konsep	27
<b>BAB 3</b>	<b>METODOLOGI PENELITIAN</b>	<b>28</b>
3.1.	Ruang lingkup penelitian	28
3.2.	Tempat dan waktu penelitian	28
3.3.	Disain penelitian	28
3.4.	Populasi dan Sampel	28
3.4.1.	Populasi Target	28
3.4.2.	Populasi Terjangkau	29
3.4.3.	Sampel penelitian	29
3.4.3.1.	Kriteria Inklusi	29
3.4.3.2.	Kriteria Eksklusi	29
3.4.3.3.	Besar Sampel	30
3.5.	Alur kerja	31
3.6.	Variabel penelitian dan definisi operasional variabel	32
3.6.1.	Variabel bebas	32
3.6.2.	Variabel antara	32
3.6.3.	Variabel tergantung	32
3.6.4.	Definisi operasional variabel	32
3.7.	Cara kerja	33
3.8.	Prosedur pemeriksaan Nitric oxide	34
3.9.1.	Analisa data	34
3.9.2.	Etika Penelitian	35
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1.	Hasil penelitian	
4.1.1.	Karakteristik subjek penelitian	36
4.1.2.	Riwayat penyakit, risiko dan kebiasaan	37

4.1.3. Pemeriksaan kadar NO dan variabel utama	38
4.2. Pembahasan	39
BAB 5. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Simpulan	44
5.2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	

## DAFTAR SINGKATAN

ADMA	Asymmetrical dimethyl arginine
AGEs	Advanced glycation end products
AGEP	Advanced Glycation end product
APS	Angina pectoris stabil (stable angina)
BH4	Tetrahydrobiopterin
BNP	Brain natriuretic peptide
CK / CPK	Creatine phospho kinase
CKMB	Creatine kinase label M dan B
CRP	C- reactive protein
cTnI	Cardiac troponin I
cTnT	Cardiac troponin T
cGMP	Cyclic guanosin mono phosphat
cGTP	Cyclic guanosin tri phosphat
DDAH	Dimethyl iamino hydrolase
DM	Diabetes melitus
EKG	Elektrokardiografi
EGF	Epidermal growth factor
EDCF	Endothelium derived constricting factor
EDRF	Endothelium derived relaxing factor
eNOS/NOS3	Endotel NO synthase
ET-1	Endothelin-1
ELISA	Enzyme linked immuno sorben assay
ESR	Electron spine resonance
EDRG	Endothelial derived relaxing factor
GDS	Gula darah sewaktu
GH	Growth hormone
Hcy	Homocysteine
HDL	High density lipoprotein
hs CRP	High sensivity C- reactive protein
ICAM- 1	Intercellular adhesion molecule-1,
IHD	Iskemic heart diseases
IGF-1	Insulin like growth factor-1
IL 6	Interleukin-6
IMA	Infark miokard akut
iNOS/NOS2	Inducible NO Synthase
IVUS	Ultrasonografi intravaskular



LDH	Lactat dehidrogenase
LDL	Low density lipoprotein
LAD	Left arterial desending
LCX	Left circumflex artery
LMCA	Left mean coronary artery
MAPK	Mitogen activated protein kinase
MCP- 1	Monocyte chemotactic protein-1
MSCT	Multislice computed tomography
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADP(H)	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
nNOS/NOS1	Neuronal NO synthase
NO	Nitric oxide
NOS	Nitric oxide synthase
NOx	Nitric oxide total
PAI 1	Plasminogen activator inhibitor type 1
PJK	Penyakit jantung koroner
PKV	Penyakit kardiovaskuler
PAC	Premature atrial contraction
PKC	Protein kinase C
RPMI	Roswell park memorial institute
SKA	Sindroma koronaria akut
SMCs	Smooth muscle cells
STEMI	Stabile T- elevation myocard infark
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor- $\alpha$
TGF- $\beta$	Transforming growth factor- $\beta$
TTGO	Tes toleransi glukosa oral
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VCAM -1	Vascular cell adhesion molecule-1

## ABSTRACT

**Background.** Coronary Heart Disease (CHD) is a disease that was caused by total or partial stenosis from one or more coronary vessel. Endothelial dysfunction is the first sign of atherosclerosis that caused of CHD. Endothelial dysfunction marked by decreasing of production or releasing *Nitric Oxide* (NO.) Role NO as mediator neurotransmission endothel and stimulated coroner dilatation. Diabet Mellitus (DM) is the one of main risk factor CHD. There was a few of study about difference NO concentration and stenosis degree on CHD patient with Diabet Mellitus .

**Objective :** To analyze the difference between *nitric oxide* concentration and degree of stenosis on CHD patients with and without DM.

**Material and method :** Cross sectional approach, 40 specimen from CHD patient with DM and without DM who had coronary angiography. Measuring concentration NO, stenosis degree, stenosis length, and vessel number. NO concentration was measured quantitatively with colorimetric method. Statistical analysis difference test with non parametric test Mann whitney.

**Result :** Mean NO concentration CHD patient with DM was lower than CHD patient without DM (296.8 and 343.7  $\mu\text{g/ml}$  with  $p = 0.141$ ). Stenosis degree of CHD patient with DM was worse than CHD patient without DM with  $p = 0.018$ .

**Conclusions :** Mean NO concentration CHD patient with DM was not different to CHD without DM and stenosis degree of CHD patient with DM was worse than CHD without DM significantly.

**Key words :** Nitric Oxide, DM, CHD, degree of stenosis

## ABSTRAK

**Latar belakang.** Penyakit jantung koroner (PJK) merupakan penyakit akibat stenosis pada pembuluh darah koroner . Stenosis arteri koroner terjadi akibat aterosklerosis dengan petanda dini berupa disfungsi endotel. Disfungsi endotel ditandai dengan pengurangan sintesis dan pelepasan *Nitric Oxide* (NO). Peran NO pada penderita PJK sebagai mediator neurotransmisi sel endotel dan merangsang dilatasi koroner. Diabetes melitus (DM) merupakan salah satu faktor risiko utama PJK. Saat ini penelitian tentang perbedaan kadar NO dan derajat stenosis pada penderita PJK dengan DM belum banyak dilakukan.

**Tujuan :** Mengetahui perbedaan kadar NO dan derajat stenosis penderita PJK dengan dan tanpa DM

**Material dan metode:** Pendekatan belah lintang. 40 spesimen penderita PJK dengan DM dan tanpa DM yang menjalani angiografi koroner. Dilakukan pemeriksaan kadar NO, derajat stenosis, panjang stenosis, dan jumlah *vessel*. Kadar NO diukur secara kuantitatif menggunakan metode kolorimetrik. Analisis statistik uji beda non parametrik dengan Mann Whitney.

**Hasil :** rerata kadar NO penderita PJK dengan DM lebih rendah dari penderita PJK tanpa DM. (296,8 dan 343,7  $\mu\text{g/ml}$  dengan  $p=0,414$ . Derajat stenosis penderita PJK dengan DM lebih berat dibandingkan penderita PJK tanpa DM dengan  $p = 0,018$ .

**Kesimpulan :** Rerata kadar NO penderita PJK dengan DM tidak berbeda dibandingkan penderita PJK tanpa DM dan derajat stenosis penderita PJK dengan DM lebih berat secara bermakna dibandingkan penderita PJK tanpa DM.

**Kata kunci :** *Nitric oxide*, DM, penyakit jantung koroner, angiografi koroner.

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar belakang

Penyakit Jantung Koroner (PJK) merupakan masalah kesehatan di negara maju dan negara sedang berkembang. Di seluruh dunia didapatkan 50 juta kematian tiap tahun karena PJK, 39 juta terdapat di negara sedang berkembang.<sup>1</sup>

Faktor risiko terjadinya PJK antara lain diabetes melitus, hipertensi, obesitas, hiperkolesterolemia, merokok, dimana diabetes melitus merupakan faktor risiko terbesar.<sup>2</sup> Penyakit kardiovaskuler penyebab kematian 75-80% penderita DM dan tiga perempatnya karena penyakit jantung Koroner (PJK). Menurut Zimmet dan Alberti komplikasi terjadinya PJK pada penderita DM 2 sampai 5 kali dibanding penderita tanpa DM.<sup>3</sup> Kannel & McGee menemukan bahwa PJK sebagai salah satu bentuk kelainan makrovaskuler penyebab utama morbiditas dan mortalitas penderita DM tipe 2.<sup>4</sup>

PJK merupakan penyakit yang disebabkan oleh penyumbatan sebagian atau total dari satu atau lebih pembuluh darah koroner dan atau cabang-cabangnya.<sup>5</sup> Penyumbatan / stenosis pada arteri koroner diketahui dengan melakukan kateterisasi, biasanya diukur dengan evaluasi visual dari persentasi pengurangan diameter relatif terhadap segmen normal yang berdekatan.<sup>6</sup> Stenosis dikategorikan menurut kriteria Bluth dkk adalah ringan (*mild*) < 30%, *moderate* 30% - 59 %, *severe* 60 % - 79 % dan *critical* 80 % - 99%.<sup>7</sup> Menurut Freskens dan

Kromhout peningkatan prevalensi PJK pada penderita DM disebabkan karena perubahan profil lipid berupa kenaikan LDL serta trigliserida, terjadi pembentukan ateroma lebih awal akibatnya timbul aterosklerosis koroner yang berjalan progresif pada usia lebih muda dan cenderung mengenai arteri besar serta sedang (Feskens & Kromhout,1992 ).<sup>7,8</sup> Hasil kateterisasi jantung penderita DM menunjukkan adanya aterosklerosis serta penyempitan atau stenosis lebih dari 50%.<sup>2</sup> Aterosklerosis pada arteri termasuk arteri koronaria disebabkan adanya kelainan pada endotel yang dikenal dengan disfungsi endotel dimana endotel merupakan barometer permulaan untuk patofisiologi hiperglikemi pada penderita DM.<sup>2,9</sup> Hiperinsulinemi yang menyertai adanya hiperglikemi pada penderita DM menyebabkan terjadinya proliferasi otot polos dinding arteri melalui mediator *insulin like growth factor-1* (IGF-1) mengakibatkan pengecilan lumen dan terhambatnya aliran darah, sedangkan pembentukan *advance glycosilation end product* (AGEP) mengakibatkan penurunan elastisitas pembuluh darah, penebalan tunika intima, pengikatan LDL dan akan mengalami oksidasi sehingga akibat semua itu memicu aterosklerosis, namun pemeriksaan AGEP saat ini sangat sulit dilakukan.<sup>9,10</sup>

Pengaruh hiperglikemia pada penderita DM adalah merangsang endotel sel memproduksi *Nitric Oxide* (NO) yang bekerja menghambat pertumbuhan sel otot pembuluh darah, menurunkan reaksi inflamasi dengan menghambat ekspresi molekul adhesi, menghambat aktifitas sitokin proinflamasi (  $TNF-\alpha$  ), *monocyte chemotractant protein-1* (MCP-1), menurunkan ikatan monosit atau makrofag

dengan dinding pembuluh darah juga menghambat proses adhesi trombosit dan berakibat proses aterosklerosis berjalan progresif.<sup>10</sup>

Diduga peran NO pada proses terjadinya PJK pada penderita DM akibat aterosklerosis melalui mekanisme disfungsi endotel, dimana NO merupakan mediator yang penting yang dapat bertindak sebagai radikal bebas dan dapat berubah menjadi peroxinitrit yang dibentuk oleh sel neuronal yang memodulasi neurotransmisi pada sel endotel dan merangsang relaksasi / dilatasi pembuluh darah. Penurunan kadar NO terjadi karena sintesa NO yang menurun atau akibat degradasi yang meningkat sehingga berlebihannya produksi anion superoksid yang berakibat terjadi penurunan penghambatan proses aterogenik dan trombogenik dan penurunan kemampuan dilatasi arteri koroner.<sup>11,12</sup> Di sisi lain beberapa ahli berpendapat bahwa kadar NO lebih berperan sebagai petanda adanya disfungsi endotel dan bukan merupakan faktor risiko koroner yang independen.<sup>13</sup>

Saat ini penelitian tentang kadar NO pada penderita DM dan hubungannya dengan derajat stenosis akibat komplikasi PJK belum banyak dilakukan. Beberapa hasil penelitian menyebutkan bahwa kadar NO meningkat pada penderita PJK dengan DM, tetapi beberapa menyebutkan tidak berbeda. melalui penelitian ini diharapkan dengan mengetahui kadar NO seorang penderita DM, dapat memprediksikan derajat stenosis yang sudah terjadi pada arteri koroner sebelum timbul gejala klinis PJK atau pada keadaan dimana pemeriksaan kateterisasi jantung belum dapat dilakukan.

**Berdasarkan latar belakang tersebut di atas , maka melalui penelitian ini kami akan membandingkan perbedaan kadar *Nitric Oxide* dan derajat stenosis pada penderita PJK dengan DM dan penderita PJK tanpa DM**

### 1.2. Perumusan Masalah

**Dengan memperhatikan latar belakang tersebut di atas , maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut :**

**Apakah kadar *nitric oxide* penderita PJK dengan DM lebih rendah dari penderita PJK tanpa DM dan derajat stenosis penderita PJK dengan DM lebih berat dari penderita PJK tanpa DM ?**

### 1.3. Tujuan penelitian

#### 1.3.1. Tujuan umum

**Membuktikan kadar *nitric oxide* penderita PJK dengan DM lebih rendah dari penderita PJK tanpa DM dan derajat stenosis penderita PJK dengan DM lebih berat dibandingkan penderita PJK tanpa DM**

#### 1.3.2. Tujuan khusus

- 1. Mendeskripsikan kadar *nitric oxide* penderita PJK dengan dan tanpa DM.**
- 2. Mendeskripsikan derajat stenosis penderita PJK dengan dan tanpa DM**

3. **Menganalisis perbedaan kadar *nitric oxide* penderita PJK dengan DM dibandingkan dengan penderita PJK tanpa DM.**
4. **Menganalisis perbedaan derajat stenosis penderita PJK dengan DM dibandingkan penderita PJK tanpa DM.**

#### 1.4. Manfaat penelitian

**Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat sebagai berikut**

1. **Memberikan masukan mengenai perbedaan kadar *Nitric Oxide* penderita PJK dengan DM dan Penderita PJK tanpa DM.**
2. **Memberikan masukan mengenai perbedaan derajat stenosis penderita PJK dengan DM dan penderita PJK tanpa DM.**
3. **Memberikan tambahan manfaat bagi klinisi dalam pencegahan dini terjadinya komplikasi PJK pada penderita DM.**
4. **Memberikan informasi yang dapat digunakan sebagai landasan bagi penelitian selanjutnya**



## 1.5 Orisinalitas penelitian

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Penyakit jantung koroner ( PJK )

##### 2.1.1. Definisi

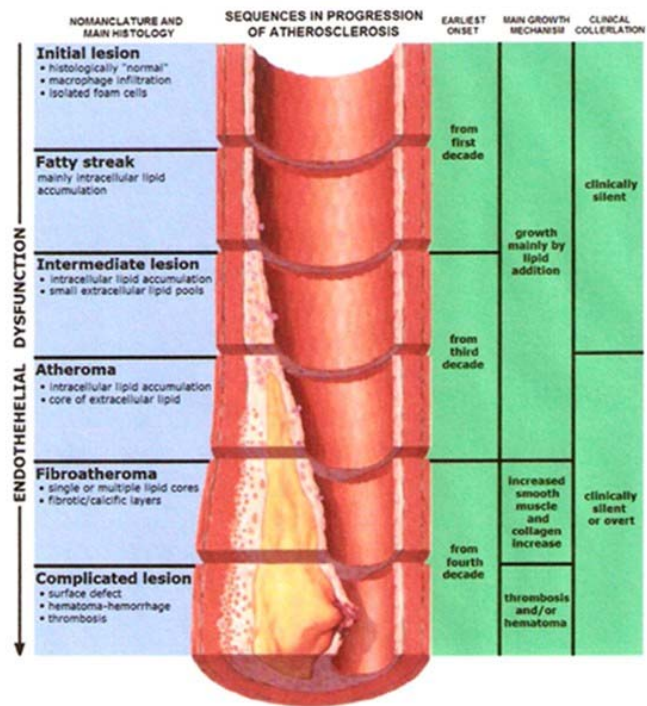
**Penyakit jantung koroner atau penyakit jantung iskemik adalah penyakit jantung yang timbul akibat penyumbatan sebagian atau total dari satu atau lebih pembuluh darah koroner dan atau cabang-cabangnya, sehingga aliran darah dalam pembuluh darah menjadi tidak adekuat lagi, akibatnya dinding otot jantung mengalami iskemia dan dapat sampai infark, karena oksigenasi otot**

**jantung sangat tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan metabolisme sel-selnya.<sup>5,14</sup>**

### **2.1.2. Patofisiologi PJK**

**PJK atau penyakit jantung iskemik (IHD) adalah penyakit jantung akibat ketidakseimbangan antara kebutuhan dan suplai oksigen menyebabkan iskemia pada miokardium.<sup>15</sup> Penyebab utama iskemia pada PJK adalah aliran darah yang tidak memadai akibat penyempitan arteri koroner sebagai komplikasi adanya aterosklerosis.<sup>8,9</sup> Penyempitan lumen pembuluh darah / stenosis dapat mengenai satu atau lebih cabang utama koroner, sehingga menentukan derajat stenosis yang terjadi.<sup>6</sup>**

**Dikenal berbagai teori tentang mekanisme terjadinya iskemi miokardium, pertama ditemukan adanya aterosklerosis sistemik selain di miokardium, pengendapan trombosit yang membentuk sumbat trombosit, menyebabkan trombosis dan adanya spasme pada satu atau lebih arteri koroner.<sup>16</sup>**



Gb. 1 Mekanisme progresifitas aterosklerosis (dikutip sesuai aslinya dari Hunziker.PR.<sup>14</sup>)

Aterosklerosis sistemik pada vaskuler yang menyebabkan hilangnya elastisitas arteri dan ditandai dengan pembentukan bercak jaringan ikat-lipak (ateroma) pada tunika intima vaskuler ukuran sedang dan besar, terjadi penyempitan lumen arteri, bila ateroma pecah timbul trombosis yang dapat menyebabkan lumen tersumbat, aliran darah terganggu, terjadinya iskemia dan kematian jaringan di daerah aliran arteri khususnya pada organ yang miskin kolesterol seperti jantung, sehingga sering berakibat fatal dan dapat menyebabkan kematian.<sup>17</sup> Agregasi trombosit membentuk mikro trombus terjadi pada endotel sel yang rusak akibat trauma hemodinamika atau karena degradasi intrinsik pada

bercak trombus. Proses ini menggeser keseimbangan antara prostasiklin derivat endotel sebagai anti agregasi trombosit dan vasodilator dengan tromboksan derivat trombosit yang bersifat pro agregasi trombosit dan vasokonstriktor. Faktor lokal lain dari endotel yang ikut berperan pada proses ini adalah kadar adenosin difosfat, serotonin, katekolamin, histamin dan faktor aktivasi trombosit.<sup>18,19</sup> Proses trombosis pada arteri bertujuan untuk menutup mikrolesi maupun makrolesi pada membran sel-sel endotel, kemudian disusul oleh regenerasi sel kembali, bila berlangsung berlebihan akan terbentuk trombus yang besar sehingga menutup lumen pembuluh darah koroner yang sudah mengalami aterosklerosis, keadaan ini secara klinis dikenal sebagai sindroma koroner akut.<sup>1</sup>

### 2.1.3. Faktor risiko PJK

Faktor risiko yang berhubungan erat dengan terjadinya PJK melalui kelainan makrovaskuler yang dikenal sebagai faktor risiko mayor adalah diabetes melitus, dislipidemia, hipertensi dan merokok. Faktor risiko minor adalah kurang berolah raga, stres, diet tinggi lemak jenuh, diet rendah antioksidan dan obesitas.<sup>14</sup>

#### 2.1.3.1. DM sebagai faktor risiko PJK

##### 2.1.3.1.1. Definisi DM

**Diabetes melitus didefinisikan sebagai kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan gangguan dalam sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya.<sup>2</sup>**

#### **2.1.3.1.2. Patofisiologi DM**

**DM disebabkan karena ketidakseimbangan antara kapasitas produksi insulin oleh sel Beta langerhans pankreas dan kebutuhan insulin yang bekerja pada target insulin seperti hepar, jaringan lemak, otot skelet. Berbagai faktor yang mengganggu homeostasis glukosa antara lain faktor genetik, lingkungan dan nutrisi serta adanya resistensi insulin.<sup>21</sup> Agar insulin dapat bekerja, insulin harus berikatan dengan reseptor insulin pada dinding sel. Setelah berikatan, akan terjadi serangkaian proses rumit, melalui berbagai sel dan proses antara, menyebabkan dicapainya efek kerja insulin yang dikehendaki dalam sel tersebut. Dalam sel, insulin mempunyai beragam peran, mulai dari peranannya dalam proses metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, sampai pada proses pembentukan DNA dan RNA dan berbagai proses pertumbuhan di dalam sel, jaringan ataupun organ tersebut. Rangkaian proses dan peran tersebut terjadi pula di dalam sel beta pankreas, sehingga dapat dikatakan bahwa terjadinya resistensi insulin akan menjadi dasar untuk terjadinya disfungsi sel Beta pankreas pada DM tipe 2. Resistensi insulin merupakan defek metabolisme sebagai awal terjadinya DM. Resistensi insulin diartikan sebagai kemunduran potensi insulin untuk meningkatkan pengambilan dan penggunaan glukosa oleh sel-sel tubuh. Faktor-**

faktor yang diduga berperan dalam kejadian resistensi insulin adalah genetik, malnutrisi fetus dan obesitas sentral. Resistensi insulin dikenal sebagai suatu kelompok gejala yang disebut sindroma resistensi insulin atau sindroma metabolik. Komponen sindroma ini adalah hiperinsulinisme, obesitas sentral, hipertensi, dislipidemia, albuminuria dan kadar asam urat yang semuanya itu berdampak timbulnya disfungsi endotel yang akan menjadi aterosklerosis yang lebih cepat dari orang normal juga menjadi DM tipe 2. Dislipidemia pada penderita DM lebih toksik terhadap endotel sel dari penderita tanpa DM, sehingga risiko terjadinya PJK meningkat 2-4 kalinya. Toksisitas lipid menyebabkan aterogenesis menjadi lebih progresif, lipoprotein akan mengalami proses glikasi dan oksidasi sehingga meningkatkan risiko aterosklerosis.<sup>22</sup> Penderita sindroma metabolik harus mulai mengatur pola hidup agar tidak timbul komplikasi. Kompensasi hiperinsulinisme yang terjadi memacu proliferasi sel-sel endotel pembuluh darah dan terjadi penyempitan.<sup>23,24</sup>

#### 2.1.3.1.3. Diagnosis DM

##### 2.1.3.1.3.1. Pemeriksaan fisik

Seseorang dicurigai menderita DM bila ditemukan keluhan- keluhan fisik seperti : poliuria, polidipsia, polifagia, berat badan menurun cepat tanpa penyebab yang jelas, makan banyak tetapi berat badan menurun serta keluhan tidak khas: kesemutan, gatal di daerah genital, keputihan, infeksi sulit sembuh, bisul yang hilang timbul, penglihatan kabur, cepat lelah, mudah ngantuk dan lain-lain.<sup>25</sup>

#### 2.1.3.1.3.2. Pemeriksaan Laboratorium

Bila keluhan khas dan  $GDS \geq 200$  mg/dl atau gula darah puasa  $\geq 126$  mg/dl cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Bila tanpa keluhan khas, hasil pemeriksaan abnormal sekali saja belum cukup menegakkan diagnosis DM, perlu dilakukan pengulangan satu kali lagi, atau dapat dilakukan tes TTGO.<sup>26</sup>

Tabel 1. Interpretasi hasil pemeriksaan Glukosa darah.<sup>26</sup>

		Bukan DM	Belum pasti DM	DM
Konsentrasi glukosa darah Sewaktu (mg/dl)	Plasma vena	< 110	110 – 199	$\geq 200$
	Darah kapiler	< 90	90 - 199	$\geq 200$
Konsentrasi glukosa darah Puasa (mg/dl)	Plasma vena	< 110	110 – 125	$\geq 126$
	Darah kapiler	< 90	90 - 109	$\geq 110$

Perkeni 2006.

#### 2.1.4. Gambaran klinis PJK

Manifestasi klinik PJK dapat berupa penyakit jantung iskemik asimtomatik, angina pectoris stabil, sindroma koroner akut (angina tidak stabil, infark miokard non ST elevasi / NSTEMI, infark miokard akut ST elevasi /STEMI), dan kematian jantung mendadak.<sup>16,27</sup>

#### 2.1.5 Diagnosis PJK



Diagnosis ditegakkan dengan serangkaian pemeriksaan fisik, pemeriksaan elektrokardiografi (EKG) dan pemeriksaan laboratorium petanda jantung , *treadmill* serta kateterisasi jantung.<sup>5</sup>

#### 2.1.5.1. Pemeriksaan Laboratorium PJK

Pemeriksaan Laboratorium antara lain *creatine kinase* ( CK ) total dan CK-MB, isoensim *lactat dehydrogenase* ( LDH ). CK-MB, mioglobin, troponin T dan I.<sup>28,29</sup> Pemeriksaan petanda disfungsi endotel yang juga dapat memprediksi kejadian penyakit arteri perifer saat ini adalah *Nitric Oxide*, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin, LOX-1, ligan CD40 dan hs-CRP serta ADMA Penggunaan petanda disfungsi endotel dan petanda inflamasi dapat memberi nilai prognostik yang lebih baik.<sup>30,31</sup>

#### 2.1.5.2. Pemeriksaan Diagnostik Lain

Pemeriksaan EKG yang berguna untuk menunjukkan adanya iskemia selama angina. *Treadmill* atau *bicycle exercise test* merupakan tes yang dapat memicu nyeri dada yang ditunjukkan dengan EKG. Pemeriksaan lain adalah angiografi koroner atau kateterisasi jantung yang merupakan *gold standard* diagnosis PJK.<sup>32</sup>

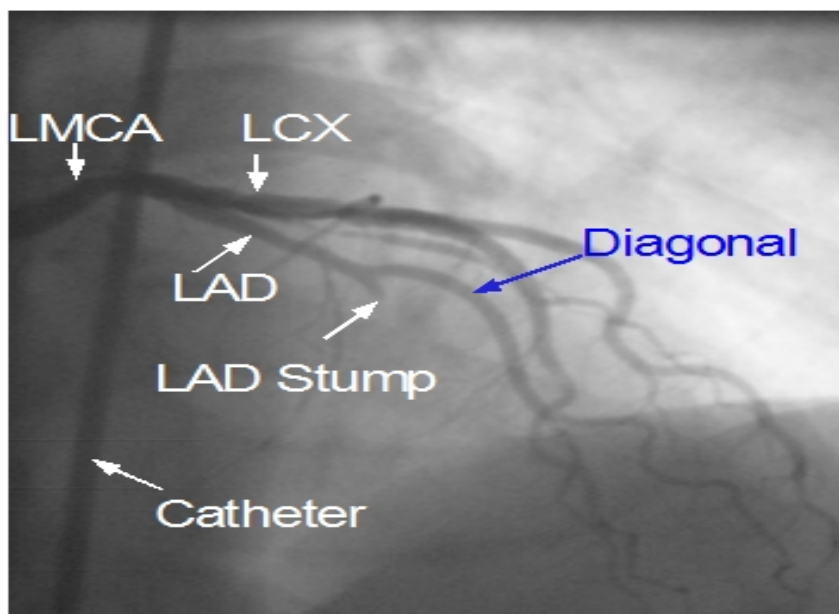
##### 2.1.5.2.1. Pemeriksaan derajat stenosis pada PJK

Pemeriksaan angiografi koroner memberikan informasi tentang lokasi lesi, derajat obstruksi ada tidaknya sirkulasi kolateral serta derajat penyempitan atau

oklusi arteri koroner pada penderita PJK. Dilakukan dengan kateterisasi arterial dengan anastesi lokal, biasanya pada arteri femoralis, arteri radialis atau brakialis. Kateter dimasukkan di bawah kontrol ahli kardiologi ke ventrikel kiri dan arteri koronaria kiri dan kanan, kemudian dimasukkan kontras media. Lesi yang sering tampak pada angiogram koroner adalah stenosis atau oklusi oleh ateroma yang bervariasi derajat luas dan beratnya, dengan kemungkinan adanya sirkulasi kolateral. Lokasi, morfologi dan beratnya lesi stenosis dapat dianalisis dengan lebih rinci, dan dapat memberikan informasi penting untuk rencana tindakan selanjutnya.<sup>33,34</sup>

Derajat stenosis diukur dengan evaluasi visual dari persentasi pengurangan diameter relatif terhadap segmen normal yang berdekatan. Stenosis dikategorikan

menurut kriteria Bluth dkk adalah ringan (*mild*) < 30%, *moderate* 30% -59 %, *severe* 60% - 79% dan *critical* 80% - 99%.<sup>35-38</sup>



**Gb.2. Stenosis arteri koronaria dengan angiografi koroner  
( dikutip sesuai asli, Dokumentasi Catlab RSDK.no <sup>35</sup> )**

2.2. *Nitric Oxide* (NO)

2.2.1. Definisi

*Nitric Oxide* adalah *endothelial-derived relaxing factor* (EDRF) yang disintesa dan dilepaskan oleh sel endotel, merupakan vasodilator kuat, dimana pelepasannya dirangsang oleh bradikinin. Dalam jumlah yang kecil dikeluarkan secara alami dari pembuluh darah untuk konstriksi.<sup>39</sup>

2.2.2. Struktur dan genetika

2.2.2.1. Struktur

Di dalam tubuh *nitric oxide synthase* (NOS) mempunyai 3 jenis isoenzim, yaitu *endothelial NO synthase* (e NOS), *neuronal NO synthase* (nNOS), dan *inducible NO synthase* (iNOS).<sup>40</sup>

Enzim eNOS, suatu bentuk enzim yang bersifat dependen Ca, dapat ditemukan pada berbagai jenis sel dan bertanggungjawab dalam produksi sebagian besar NO pada pembuluh darah yang sehat dilepas secara kontinyu oleh

sel endotel arteri maupun vena dan trombosit. nNOS merupakan bentuk khusus dari eNOS yang berfungsi pada sistem saraf.

iNOS, merupakan suatu bentuk enzim yang dapat diinduksi, dapat ditemukan dan dilepas oleh miosit, makrofag, dan sel endotel pembuluh darah kecil yang diaktifkan serta dapat diinduksi oleh stimulus imunologis oleh sitokin dan endotoxin. *Nitric oxide* disintesis oleh sel endotel dari L-arginine dan oksigen molekular. Aliran darah dan tekanan pada endotel yang disebabkan oleh aliran darah menginduksi sintesis NO melalui fosforilasi *nitric oxide synthase* (NOS). *Nitric oxide synthase* mengkatalisis reaksi dengan mengkonversi L-arginine menjadi citrulline dan NO serta memerlukan bantuan calmodulin dan *pteridin tetrahydrobiopterin* (BH4) sebagai kofaktor.<sup>41</sup>

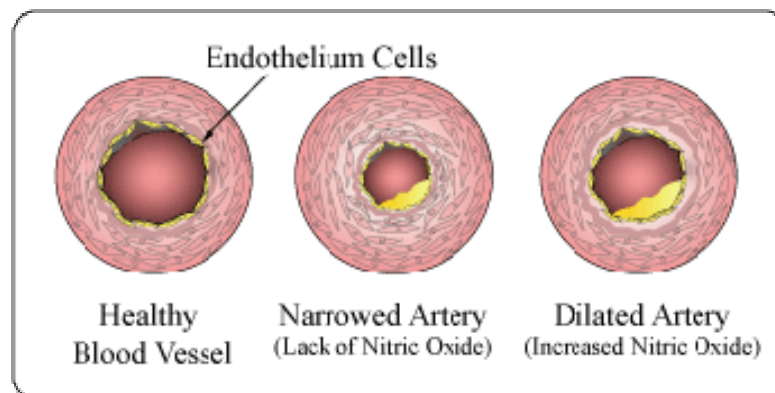
#### 2.2.2.2. Genetika.

Ada 3 bentuk *nitric oxide* yang dikenal yaitu :

1. nNOS, terdapat dalam kromosom 12q24.2, dimana aktifitasnya tergantung pada peningkatan kadar  $Ca^{2+}$ , ditemukan pertama kali pada neuron.
2. iNOS, terdapat pada gen 17 cen-q12, aktifitasnya tidak tergantung kadar  $Ca^{2+}$ .
3. eNOS gen pengkodennya terdapat dalam kromosom 7q35-36, pertama kali diidentifikasi di sel, aktifitasnya tergantung pada peningkatan kadar  $Ca^{2+}$ .

#### 2.2.3. Peran metabolik

*Nitric oxide synthase* (NOS) dibentuk oleh dua unit katalitik berbeda sebagai *C-terminal reductase domain* dan *N-terminal oxygenase domain*. NOS bekerjasama dengan BH4 dalam jumlah cukup mensintesis NO dan pada peningkatan stress oksidatif, mengakibatkan produksi peroksinitrit. Resultan NO menginduksi *guanilat siklase* untuk sintesis cGMP dari cGTP. cGMP memfasilitasi hiperpolarisasi sel akibat aktivasi kanal K. Reaksi ini mengakibatkan inhibisi kalsium dan menghasilkan vasodilatasi sistem kardiovaskular. Sel endotel memproduksi NO sebagai vasodilator pembuluh darah, inhibitor trombosit dan menghambat migrasi serta proliferasi sel otot polos.



**Gb.3 Peran NO pada pembuluh darah arteri**  
(dikutip sesuai aslinya, <http://www.courtneynowell.com>.<sup>41</sup>)

Efek biologik NO terhadap pembuluh darah adalah:

1. NO berasal dari endotel dan merupakan vasodilator poten untuk pembuluh darah.
2. Sebagai inhibitor trombosit dimana katakteristik eNOS diexpresikan oleh sel trombosit maupun sel endotel sama, tetapi secara kuantitatif yang

berasal dari endotel jauh lebih besar. NO bentuk eNOS ini penting dalam regulasi fungsi trombosit yaitu adhesi, agregasi dan aktivasi (pelepasan substansi) sehingga menentukan keseimbangan fisiologik dan trombosis.

3. Bersifat anti inflamasi dan anti aterogenik. NO menghambat migrasi dan adhesi lekosit pada endotel, ploriferasi dan migrasi sel otot polos pembuluh darah, aktivasi dan ekspresi molekul adhesi, menghambat produksi ion superoxide anion dan oksidasi LDL.

Sebagai mediator apoptosis untuk berbagai macam sel termasuk endotel dan otot polos. Efek mediator apoptisis tergantung besarnya konsentrasi NO, dimana kadar NO yang rendah melalui mediator eNOS akan berefek anti apoptosis, sedangkan bila kadar NO tinggi melalui mediator iNOS mempunyai efek sitotoksik dan apoptosis. Kemampuan NO melalui mediator iNOS berefek proapoptosis dan anti ploriferatif pada otot polos mencerminkan peran iNOS pada *remodelling* pembuluh darah.<sup>42,43,44</sup>

Waktu paruh NO di dalam jaringan sangat singkat (sekitar 3-4 detik), maka pemeriksaan NO secara langsung tidak mudah dilakukan oleh karena itu pemeriksaan dilakukan dengan cara tidak langsung dengan menggunakan reaksi Griess.<sup>45</sup>

#### 2.2.4. Hubungan DM, PJK dan NO

Diabetes melitus menjadi faktor risiko PJK, dan meningkatkan risiko sebanyak 2 kali untuk laki-laki dan 4 kali untuk perempuan melalui terjadinya komplikasi makrovaskuler yang didasari proses aterosklerosis. Penelitian klinik

menunjukkan bahwa pada DM lesi aterosklerotik mempunyai tendensi lebih berat dan mengenai pembuluh-pembuluh darah kecil, sehingga mortalitas meningkat hingga 5 kali.<sup>3</sup> Hiperglikemia menyebabkan komplikasi makrovaskuler dengan mempengaruhi *polyol pathway*, AGES/RAGE, aktivasi PKC dan hexosamine yang berakibat peningkatan produksi superoksida dalam mitokondria.

Hiperglikemia akut maupun kronis menyebabkan disfungsi endotel melalui *polyol pathway* menyebabkan pengurangan NADPH yang diperlukan untuk regenerasi molekul oksidan. Adanya penurunan NaK ATPase juga mengakibatkan penurunan rasio NADH/NAD. Hiperglikemia juga meninggikan sintesa diasilgliserol dan mengaktifkan PAC. Akhirnya PAC akan meningkatkan produksi faktor pertumbuhan seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) yang penting untuk proses remodeling. Faktor lain yang dipengaruhi PKC adalah faktor protrombotik seperti von Willebrand, PAI-1 faktor X dan fibrinogen. Hiperglikemia akan meningkatkan AGE yang menyebabkan kemudahan oksidasi LDL dan mengaktifkan RAGE yang berpengaruh terhadap pelepasan interleukin-1 (IL-1), *tumor necrosis factor  $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan faktor pertumbuhan (GH) yang merangsang migrasi dan proliferasi otot polos.<sup>46,47</sup>

*Advanced glycation end products* (AGEs) adalah produk glikosilasi non enzimatis dari protein maupun lemak yang terakumulasi secara berlebihan pada jaringan vaskular. Tingkat glikosilasi non enzimatis ini terutama ditentukan oleh tingginya kadar gula dan lamanya kadar yang tinggi tersebut dalam darah.

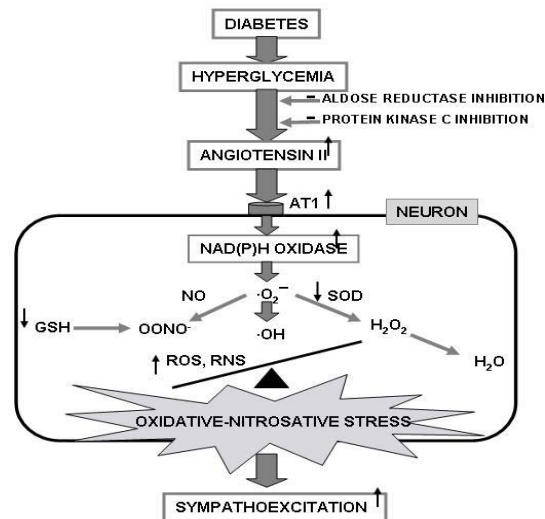
Reseptor AGEs ( RAGE) terdapat pada permukaan sel, dimana rangsangan pada reseptor ini dapat mengaktifkan fungsi inflamasi dari sel-sel endotel, otot polos dan makrofag yang merupakan sel-sel yang sangat terlibat pada proses aterogenesis maupun inflamasi pada dinding arteri penderita DM. Diduga kuat adanya keterkaitan antara RAGE dengan pembentukan dan stabilitas plak ateroma pada penderita DM yang tidak terkontrol. Blokade terhadap RAGE mungkin merupakan strategi baru untuk menstabilkan plak aterosklerosis dan inflamasi vaskuler pada DM dan HbA1c menunjukkan suatu protein yang telah mengalami glikasi non enzimatis dan berhubungan dengan kadar AGEs, sehingga pengontrolan gula darah yang ketat akan mencegah komplikasi vaskuler pada DM.<sup>48,49</sup>

Pada penderita DM adanya hiperglikemia, peningkatan asam lemak bebas dan resistensi insulin mengakibatkan disfungsi endotel dengan inhibisi sintesis NO atau meningkatkan katabolisme NO. Insulin meningkatkan aktivitas NOS dengan menstimulasi *phosphatidylinositol-3 kinase* dan *Akt kinase*. Transduksi sinyal dengan insulin melalui jalur *phosphatidylinositol-3 kinase* pada penderita resistensi insulin terganggu. Insulin menstimulasi NOS menjadi lebih sedikit dan produksi NO menurun. Akibatnya, endothelin diproduksi lebih banyak dan terjadi peningkatan inflamasi dan trombosis.<sup>50</sup>

Hiperglikemia meningkatkan produksi anion superoksida oleh karena transport elektron mitokondria. Superoksida mengaktifasi protein kinase C. Aktivasi protein kinase C, menstimulasi NAD(P)H oksidase yang terikat pada



membran untuk menghasilkan superoksida lebih banyak lagi. Reaktivitas superoksida dan NO mengakibatkan produksi peroksinitrit. Peroksinitrit mengoksidasi BH4 yang merupakan suatu kofaktor untuk NOS. Situasi ini mengakibatkan NOS untuk menghasilkan superoksida daripada menghasilkan NO. Anion superoksida juga meningkatkan produksi *advanced glycation end products* (AGEs). AGE meningkatkan produksi superoksida dan radikal oksigen reaktif. Lebih jauh lagi, stress oksidatif yang disebabkan oleh hiperglikemia akan menghambat DDAH. Hal ini akan meningkatkan kadar ADMA, sebagai akibatnya sintesis NO menurun.<sup>49,50</sup>

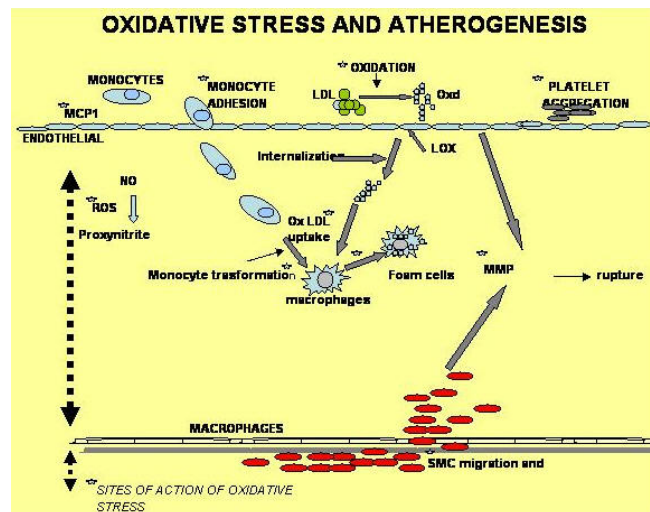


An overview of the major aims of the project relating to an enhanced central Ang II-superoxide signaling in diabetes.

Gb.4 Pengaruh hiperglikemia terhadap oksidatif stress  
(Di kutip sesuai asli The Vrise AS.<sup>53</sup>)

Peningkatan jumlah asam lemak bebas yang terlihat pada diabetes melitus dan resistensi insulin, mempengaruhi keseimbangan NO secara berlawanan dengan meningkatkan oksigen radikal bebas, mengaktifasi protein kinase C dan mengakibatkan dislipidemia.

Mekanisme lain untuk terjadinya disfungsi endotel pada diabetes mellitus dan resistensi insulin adalah peningkatan pelepasan vasokonstriktor prostanoid dan endothelin. Bahkan, pada manusia sehat, pemberian insulin berakibat pada peningkatan konsentrasi endothelin-1 pada plasma.<sup>50</sup>



Gb.5 Mekanisme pengaruh oksidatif stress pada kejadian aterosclerosis ( Di kutip sesuai asli : <http://www.geocities.com>.<sup>46</sup> )

Peranan NO pada penderita PJK melalui mekanisme terjadinya disfungsi endotel, walaupun ada faktor lain yang juga mempengaruhi terjadinya disfungsi endotel selain NO, mengakibatkan kegagalan pada efek antikoagulan vasoaktif

dan pada efek anti-inflamasi dari endotel yang sehat. Tonus vaskuler yang normal tergantung pada keseimbangan antara molekul vasokonstriktor dan vasodilator yang dilepaskan dari endotel, dimana pada endotel yang sehat, keseimbangan bergeser ke arah vasodilatasi, yaitu insufisiensi substrat seperti penurunan L-arginine pada sel, adanya defek dalam transport L-arginine ke sel, adanya inhibitor NOS seperti *asymmetrical dimethylarginine* (ADMA) serta *NG-monomethyl-L-arginine* (L-NMMA), meningkatkan molekul oksigen reaktif, penurunan difusi NO oleh karena penebalan tunika intima, mutasi pada ekspresi gene NOS, peningkatan katabolisme NO, insufisiensi kofaktor serta peningkatan molekul vasokonstriktor.

Masalah mendasar pada disfungsi endotel adalah defisiensi pada bioavailabilitas NO, maka strategi yang bertarget pada peningkatan bioavailabilitas NO akan membantu dalam pencegahan berbagai penyakit kardiovaskular dengan terapi terhadap disfungsi endotel.<sup>45,51,52</sup>

#### 2.2.5. Faktor-faktor lain yang mempengaruhi NO

##### 2.2.5.1. Merokok

Merokok menurunkan aktivitas NO secara langsung dan tak langsung. Merokok menurunkan produksi NO dengan menurunkan kadar BH4. Penurunan bioavailabilitas BH4 mengakibatkan *uncoupling* pada eNOS. Hal ini memicu peningkatan pembentukan peroksinitrit dan supresi aktivitas eNOS lebih lanjut. Di lain pihak, merokok merupakan salah satu faktor risiko mayor untuk

aterosklerosis. Merokok meningkatkan trigliserida dan LDL, dan juga menurunkan HDL. Merokok menginduksi aktivasi platelet dan ekspresi molekul adhesi permukaan, mengakibatkan suatu kondisi pro-trombotik. Merokok juga meningkatkan homosistein, yang memiliki efek toksik langsung pada endotel vaskular. Merokok juga menstimulasi resistensi insulin.

Efek ini menghasilkan suatu kondisi inflamasi derajat rendah dengan suatu peningkatan oksigen radikal bebas, fibrinogen dan CRP yang sangat sensitif dan terkadang penurunan pada bioavailabilitas NO. Efek merusak dari merokok terbukti bersifat independen terhadap dosis. Jadi baik perokok berat maupun perokok ringan memiliki efek serupa pada endotel. Merokok menyebabkan peningkatan agregasi trombosit, penurunan produksi prostasiklin, peningkatan *oxidized*-LDL (ox-LDL), penurunan HDL, stres oksidatif, menghambat aktifitas NOS, dan meningkatkan respon vasokonstriksi endotelin.<sup>53</sup>

#### 2.2.5.2. Hipertensi

Pada hipertensi terjadi penurunan sintesis dan pelepasan nitrit oksida (NO) yang mengakibatkan penurunan respons asetilkolin sebagai *endothelium dependent relaxation*. Hipertensi juga menginduksi stres oksidatif pada dinding vaskuler. Radikal superoksid dapat merusak NO sehingga terjadi penarikan sel mononuklear ke dalam subendotel dan menyebabkan terjadinya plak aterosklerotik dan menginduksi progresifitas plak.<sup>45</sup>

## 2.2.6. Metode Pemeriksaan NO

### 2.2.6.1 Prinsip pemeriksaan

Pengukuran disfungsi endotel bisa dilakukan secara langsung atau pun tidak langsung.. Metode pengukuran *nitric oxide* secara tidak langsung banyak digunakan dalam penelitian-penelitian klinis. Metode secara langsung misalnya dengan *Electron Spin Resonance* (ESR) sedangkan metode secara tidak langsung seperti pengukuran kadar nitrit dan nitrat dengan metode reaksi Griess.<sup>54</sup>

Reaksi Griess merupakan pemeriksaan NO dengan cara tidak langsung secara spektrofotometrik dengan menggunakan reagen Griess Pemeriksaan ini melibatkan konversi enzimatik dari nitrat menjadi nitrit, oleh enzim *Nitrat Reduktase*, dilanjutkan dengan deteksi kolorimetri dari nitrit sebagai suatu produk *azo dye* bewarna dari reaksi Griess yang mengabsorpsi cahaya tampak 540 nm.<sup>55,56</sup>

### 2.2.6.2 Nilai rujukan

Kadar NO orang normal berkisar  $32 \pm 4,9$  umol/ liter (rata-rata  $\pm$  simpang baku).<sup>54</sup>

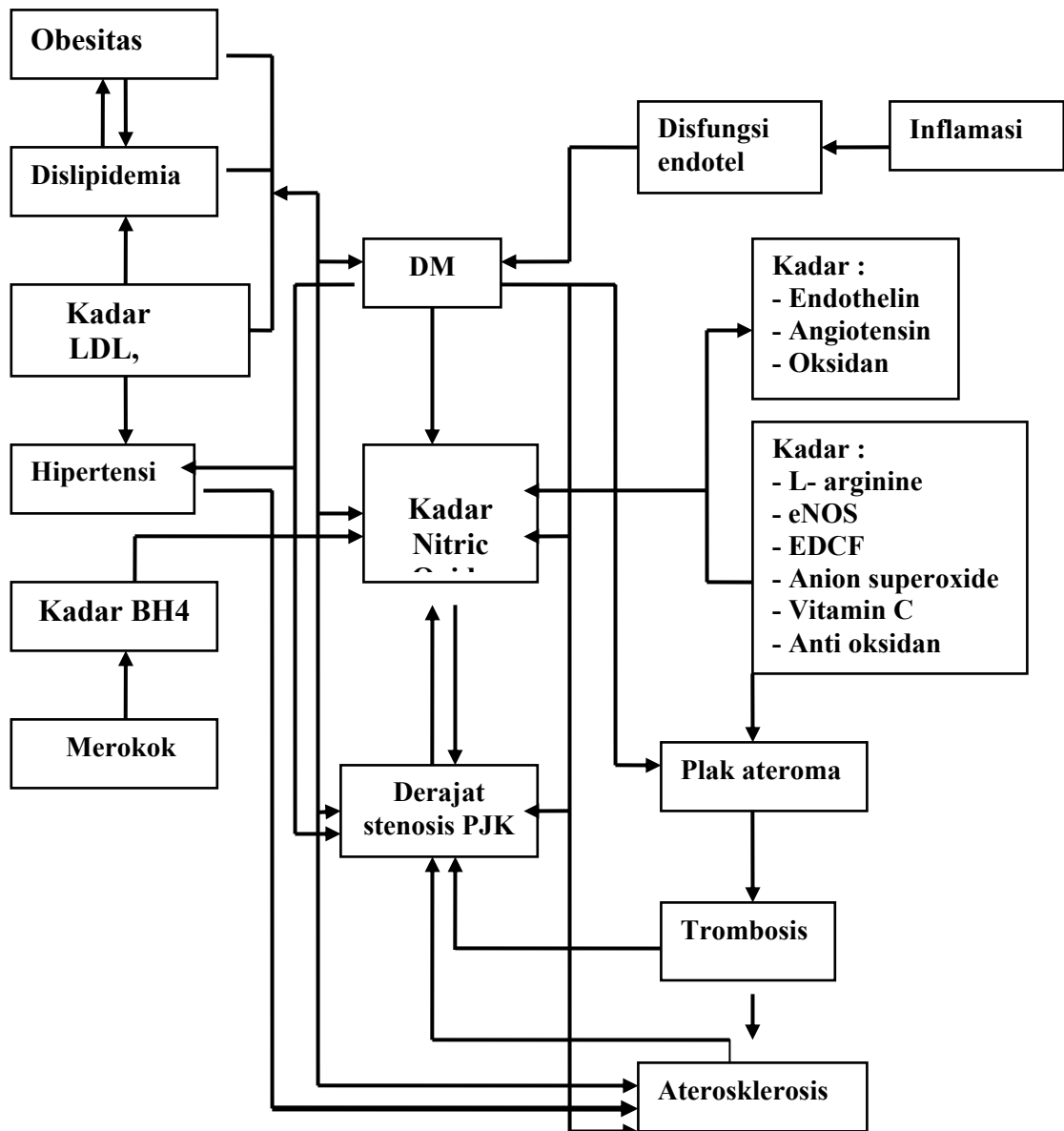
### 2.2.6.3 Interferensi hasil

Reaksi Griess melibatkan interaksi antara ion nitrit dengan 2 molekul organik dan melibatkan reaksi oksidasi dan nukleofilik. Komponen *buffer* atau sampel yang dapat mengganggu oksidasi dan reaksi nukleofilik ini dapat mengganggu pembentukan warna. Konversi nitrat menjadi nitrit melibatkan enzim *Nitrat Reduktase*. Komponen *buffer* atau sampel apapun yang dapat mengganggu enzim ini akan mengurangi konversi sampel nitrat menjadi nitrit sehingga akan memberikan angka estimasi NO yang lebih rendah.

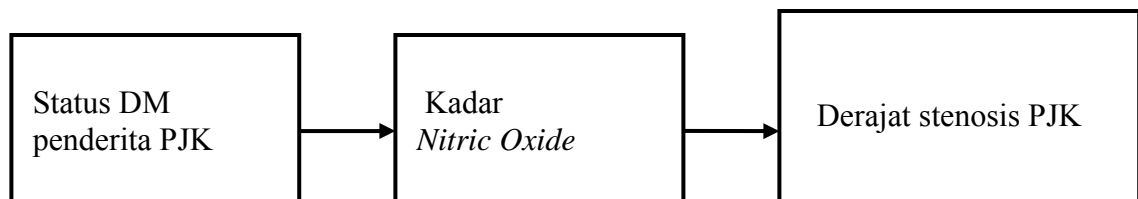
Contoh nukleofil dan antioksidan yang dapat mengganggu pemeriksaan ini adalah azide, asam askorbat, sulfhidril yang mengandung komponen seperti sistein, glutation, DTT, dan  $\beta$ -mercaptoethanol

Beberapa media kultur jaringan, seperti RPMI, mengandung konsentrasi nitrat yang tinggi sehingga tidak boleh digunakan karena dapat mengganggu sensitivitas deteksi.<sup>57,58</sup>

2.3. Kerangka teori



#### 2.4. Kerangka konsep



#### 2.5. Hipotesis

**Berdasarkan kerangka konsep maka hipotesis yang diajukan adalah :**

- 1. Kadar *nitric oxide* penderita PJK dengan DM lebih rendah dari penderita PJK tanpa DM.**
- 2. Derajat stenosis penderita PJK dengan DM lebih berat dibandingkan dengan penderita PJK tanpa DM.**



## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### 3.1. Ruang lingkup penelitian

**Ruang lingkup penelitian adalah ilmu Patologi Klinik khususnya sub ilmu Kardiologi.**

#### 3.2. Tempat dan waktu penelitian

**Wilayah penelitian ini adalah unit perawatan jantung ( UPJ ) RSUP Dr.Kariadi Semarang dan pemeriksaan *nitric oxide* dilakukan di laboratorium**

**GAKI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2009 – Oktober 2009.**

### 3.3. Disain penelitian

**Penelitian ini menggunakan disain observasional analitik dengan pendekatan belah lintang.**

### 3.4. Populasi dan sampel

#### 3.4.1. Populasi target

**Populasi target adalah pasien PJK yang datang ke poliklinik dan bangsal rawat inap bagian UPJ.**

#### 3.4.2. Populasi terjangkau.

**Populasi terjangkau adalah penderita PJK dengan DM atau tanpa DM yang derajat stenosisnya ditentukan oleh kardiolog melalui kateterisasi jantung di UPJ RS. Dr. Kariadi.**

#### 3.4.3. Sampel penelitian

**Pemilihan subjek penelitian dilakukan secara *consecutive sampling* dengan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian. Sampel penelitian adalah penderita PJK dan tanpa DM yang memenuhi kriteria inklusi. Derajat stenosis ditegakkan dengan kateterisasi oleh dokter spesialis jantung, sedangkan DM ditegakkan dengan anamnesa serta pemeriksaan gula darah.**

#### 3.4.3.1. Kriteria inklusi

- **Pasien PJK yang menjalani program diagnostik penyakit jantung dengan kateterisasi**
- **Bebas obat yang berpengaruh terhadap kadar *nitric oxide* (anti oksidan, vitamin C)**
- **Bersedia ikut serta dalam penelitian ini**

#### 3.4.3.2. Kriteria eksklusi

- **Obesitas**
- **Tidak memenuhi kriteria inklusi**

#### 3.3.3. Besar sampel

**Besar sampel dihitung berdasarkan rumus : <sup>59</sup>**

$$N = 2 \left( \frac{(Z\alpha + Z\beta) S}{X1 - X2} \right)^2$$

**Dimana ditetapkan nilai :**

**$Z\alpha$  = 1,6 (tingkat kemaknaan  $\alpha = 0,05$ )**

**$Z\beta$  = 0,84 (power penelitian  $\beta = 80\%$ )**

**$S$  = 0,6 (simpang baku dari penelitian sebelumnya)**

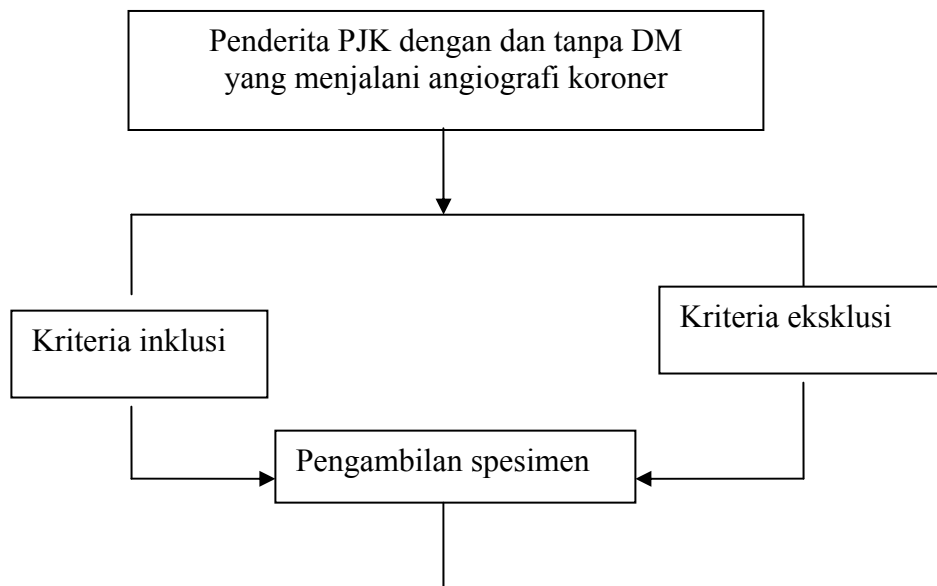
$X1 - X2 = 0,5$  ( selisih rata-rata minimal yang dianggap bermakna yang ditetapkan oleh peneliti)

Perhitungan yang diperoleh :

$$\begin{aligned} N &= 2 \left( \frac{(1,64 + 0,84) 0,6}{0,5} \right)^2 \\ &= 2 ( 2,976 )^2 \\ &= 17,7 \sim 18 \end{aligned}$$

Besar sampel 18 dengan memperhitungkan faktor koreksi *drop out* ( diperkirakan minimal 10 % ) maka besar sampel menjadi 20 untuk tiap kelompok.

### 3.5. Alur kerja



### 3.6. Variabel penelitian dan definisi operasional

#### 3.6.1. Variabel bebas

**Variabel bebas adalah :**

**Kategori status DM penderita PJK**

**Skala data : nominal**

#### 3.6.2. Variabel antara

**Variabel antara adalah :**

*Nitric oxide*

**Skala data : ratio**

3.6.3. Variabel tergantung

**Variabel tergantung adalah :**

**Derajat stenosis**

**Skala data : ordinal**

3.6.4. Definisi operasional variabel

Penderita DM adalah penderita yang memenuhi kriteria sebagai berikut :

- Hasil pemeriksaan gula darah puasa  $\geq 126$  mg/dl
- Hasil pemeriksaan gula darah 2 jam pp  $\geq 200$  mg/dl

Penderita PJK adalah kondisi dimana penderita dengan hasil angiografi koroner ditemukan adanya stenosis minimal pada satu arteri koroner.

*Nitric oxide* adalah kadar *nitric oxide* dalam serum yang diperiksa dengan metode kolorimetrik, dinyatakan dalam umol/liter

Derajat stenosis : kategori stenosis adalah ringan (*mild*)  $< 30\%$ , *moderate*  $30\% - 59\%$ , *severe*  $60\% - 79\%$  dan *critical*  $80\% - 99\%$ .

3.7. Cara kerja

1. Data penderita dikumpulkan dari catatan medik, pemeriksaan laboratorik dan wawancara menggunakan kuesioner yang telah disiapkan.
2. Pengumpulan data dimulai dari pengumpulan data penderita PJK dengan DM dan tanpa DM yang memiliki indikasi dan sudah diprogram untuk menjalani kateterisasi oleh dokter spesialis jantung.
3. Kemudian dilakukan wawancara, pengisian kuesioner, pemeriksaan fisik dan pengambilan sampel darah sebelum dilakukan kateterisasi.
4. Darah diambil dari vena mediana cubiti sebanyak 5 cc dan dimasukkan ke dalam tabung tanpa antikoagulan, dibiarkan menjendal selama 30 menit kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1000g selama 15 menit, serum yang diperoleh dipisahkan kemudian disimpan dalam suhu beku ( - 20°C ).
5. Sampel darah yang didapat akan diperiksa kadar *nitric oxide* dengan tehnik kolorimetrik, kadarnya dinyatakan dalam satuan umol/ liter
6. Derajat stenosis didapatkan dari hasil kateterisasi dinyatakan dalam persen
7. Dilakukan analisis statistik pada kedua kelompok tersebut untuk mencari perbedaan kadar *nitric oxide* dan derajat stenosis pada penderita PJK dengan DM dibandingkan dengan penderita PJK tanpa DM.

### 3.8. Prosedur pemeriksaan *nitric oxide*

1. Spesimen yang digunakan adalah serum
2. Siapkan semua reagen standart kerja dan sampel-sampel.
3. Tambahkan 200µL *buffer* reaksi (1x) ke *wells* blangko

4. Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  *buffer* reaksi ke lubang-lubang *wells* untuk *standard* nol
5. Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  Nitrit standart atau sampel ke *wells* lainnya.
6. Tambahkan 50  $\mu\text{L}$  *buffer* reaksi (1x) ke semua *wells* sampel dan *standard*.
7. **Tambahkan 50 $\mu\text{L}$  reagen Griess I ke tiap *well* kecuali *wells* blangko**
8. **Tambahkan 50 $\mu\text{L}$  reagen Griess II ke tiap *well* kecuali *wells* blangko.**  
**Campurkan dengan menggoyang *plate* dengan perlahan.**
9. **Inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.**
10. **Tentukan *optical density* (OD) dari tiap *well* menggunakan *microplate reader set* pada 540 nm.**

#### 3.9.1 Analisis data

**Data dikumpulkan meliputi wawancara, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium. Data yang terkumpul dilakukan editing, koding, dan dimasukkan ke dalam program komputer menggunakan perangkat lunak SPSS 10.05. Dilakukan uji normalitas data dengan Shapiro- Wilk, didapatkan distribusi data tidak normal untuk rerata kadar NO sehingga penghitungannya menggunakan uji Mann Withney, sedangkan untuk derajat stenosis digunakan uji *Chi-square***

#### 3.9.2. Etika penelitian



Sebelum penelitian dilakukan, seluruh subyek penelitian diminta persetujuannya dengan *informed consent* tertulis. *Informed consent* diperoleh dari penderita dengan diketahui oleh keluarga yang bersangkutan. Identitas pasien dirahasiakan dan seluruh biaya yang berhubungan dengan penelitian menjadi tanggung jawab peneliti.

## DAFTAR PUSTAKA

1. MacGill HC Jr: Association of coronary heart disease risk factors with the intermediate lesions of atherosclerosis in Youth: The Pathobiological determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group, *Atheroscler Thromb Vasc Biol* : 2000; 20: 8
2. Creager MA, Luscher TF, Concentino F. Diabetes and vascular disease: Pathophysiology, clinical consequences and medical therapy: Part I. *Circulation* 2003;108: 1527-32.
3. Beckman JA. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathofisiology, and management. *JAMA* 2002;287:2570-81.
4. Kannel WB, Mc Gee DL: Diabetes and cardiovascular disease : the Framingham Study, *JAMA* :1201; 241:2035-8.
5. Achar SA, Kundu S, NorcrossWA. Diagnosis of acute coronary syndrome. *Am Fam Physician* 2005; 72: 119-26
6. Abrams HL: Complications of coronary arteriography. In Adams HL, editor: *Angiography: Vascular and interventional radiology*. Ed 3, 2003.
7. Dix J, Skrocki J. Evaluation of carotid stenosis by angiography: Potential bias toward overestimated measurements introduced by prior interpretation of doppler sonograms. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000;21:639-42..
8. Feskens EJ, Kromhouts D. Glucosa tolerance and risk of cardiovascular disease: the Zutphen study. *J Clin Epidemiol*. 2002;45:1327-34.
9. Jennings PE. The mechanism of diabetic macroangiopathy. *Diabetographia*. International Medical Publication 2003; 11: 4-6.
10. Janka HU, Standl E. Hyperinsulinemia as a possible risk factor of macrovascular disease in diabetes mellitus 2001; 50: 1654-5
11. Ziemann SJ I: Upregulation of the nitric oxide-cGMP pathway in aged myocardium: physiological response to L-arginine, *Circ Res*; 2001; 88: 97

12. Kumar V, Abbas A, Fausto N; *Robbins and Cotrans pathologic basic of disease*, ed 7, Philadelphia, 2005, Saunders; Buetler TM, Krauskopf A, Ruegg UT: *News Physiol Sci* 2004.19: 120-3.
13. Paulus W, Frantz S, Kelly R. Nitric Oxide and Cardiac Contractility in Human Heart Failure. *Circulation*. 2001;104:2260-2.
14. Hunziker PR. Bedside quantification of atherosclerosis severity for cardiovascular risk stratification: a prospective cohort study, *J Am Coll Cardiol*. 2002; 39:702-9.
15. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* 1998; 352: 854-65
16. Buja, L.M. and Willerson, J.T: Clinicopathologic correlated of acute ischemic heart disease syndromes. *Am. J. Cardiol*. 2001; 47:343.
17. Bush, L. R.; Effects of the selective thromboxane synthetase inhibitor, daxosiben, on variations in cyclic blood flow in stenosis canine coronary arteries. *Circulation*. (69) 2000 ;14 :116.
18. Hartung, G.H.; Relation of diet to high density lipoprotein cholesterol in middle-aged marathons runners, joggers and inactive men. *N. Engl. J. Med*. 2000; 302-57.
19. Willerson, J.T, Hillis, L.D, Buja, L.M : *Ischemic Heart Disease: Clinical and Pathophysiology aspect*. New York, Raven Press, 2000; vol 5 part 1:689
20. American Diabetes Association ( ADA ): *Clinical practice recommendations* 2004. Screening for type 2 diabetes. *Diabetes care* (suppl) 2004; 27:s11-14
21. Darmono Resistensi insulin. Naskah lengkap workshop Sindroma metabolik Sub Bagian Endrokin-metabolik, Bagian Penyakit Dalam Fakultas kedokteran Undip, RS Dr Kariadi, Semarang: 2002; ed 1 : 181-90.
22. Bays H. Atherogenic dyslipidemia in type 2 diabetes and metabolic syndrome: current and future treatment option *Br J Diabetes Vasc Dis* 2003;3:356-60.

23. Tuomilehto J, Lindstrom. Recent lifestyle trials in the prevention of type 2 diabetes. *International Congress Series* 2004; 1262: 328-31.
24. Stone NJ. Focus on lifestyle change and the metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2004; 33: 493-08.
25. Hadisaputro S, Setyawan H. Epidemiologi dan faktor-faktor risiko terjadinya diabetes mellitus tipe 2. Dalam: Darmono, dkk editor. Naskah Lengkap Diabetes Melitus Ditinjau dari Aspek Penyakit Dalam, Dalam Rangka Purna Tugas Prof DR Dr RJ Djokomoeljanto. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. 2007.
26. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (Perkeni). Konsensus pengelolaan diabetes mellitus tipe 2 di Indonesia 2006.3:3-4
27. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmmmaa K, Amougel P. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA project. *Circulation* 2004; 90:583-12.
28. Purwanto AP. Parameter Laboratorik untuk Diagnosis Penyakit Jantung. Dalam *Media Laboratoria*. Edisi 6. ILKI; September 2006
29. Collison PO, Gaze DC, Bainbridge K, Morris B, Morris F, Prince A, et al. Utility of admission cardiac troponin and Ischemia Modified Albumin measurements for rapid evaluation and role out of suspected acute myocardial infarction in emergency departement. *Emerg Med J* 2006;23:256-61.
30. Kitsis Rn, Jialal I. Limiting myocardial damage during acute myocardial infarction by inhibiting C-reactive protein. *N. Engl J Med* 2006; 355: 513-5.
31. Apple FS, Murakami MAM. Diagnostic utility of cardiac biomarkers in detecting myocardial infarction. *Clinical Cornerstone* 2005; 7(Suppl 1): S25-30.
32. Hills L.D. and Braundwald; E : Coronary-artery spasm. *N. Engl. J. Med.* 2001; 299:695.
33. Davies, M. J. Intramyocardial platelets aggregation in patient with unstable angina suffering sudden ischemic cardiac death. *Circulation*. 2001; 73:418

34. Fahey VA and Riegel BJ: Advances in diagnostic testing for vascular disease, *Cardiovasc Nurs* 25(3).1999: 13-8.
35. Angiografi koroner. Dokumentasi Catlab RSDK. Sitasi tanggal 12 Juni 2010.
36. Baim DS, Grossman W. Diagnostic Cardiac Catheterization and Angiography. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL.eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Vol2, 16<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 2005: p.1320-7.
37. Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI) Investigator Comparison of coronary bypass with angioplasty in patient with multivessel disease. *N Eng J Med* 1996; 335: 217-25
38. Abrams HL: Complication of coronary arteriography. In Abrams HL, editor: *Angiography: vascular and interventional radiology*, ed 3, Boston, 2003, Little, Brown.
39. Cantor WJ. Early cardiac catheterization is associated with lower mortality only among high risk patient TS and non ST elevation acute coronary syndromes: observations from the OPUS-TIMI 16 trial, *Am Heart J* 149(2); 2005:275-83.
40. Eckel Rh, Wassef M, Chait A, Sobel B, Barrett E, King G, et al. Prevention Conference VI: Diabetes and cardiovascular disease. Pathogenesis of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Circulation* 2002; ed 138 : 105
41. Dudzinski DM, Michel T. The vascular biology of nitric oxide and nitric oxide synthase. In: Colman RW, Marder V, Clowes AW, George JN, Goldhaber SZ(eds). *Hemostasis and Thrombosis*. 5<sup>th</sup> Ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins; 2006: 653-5
42. Chan N, Wallace P. Nitric oxide. In: Hunt B, Poston L, Schachter M, Halliday A(eds). *An Introduction to vascular biology*. Cambridge University Press ; 2002: 2<sup>nd</sup> ed.: 216-58.

43. Iwashima M, Sichiri M, Marumo F. Transfection of inducible nitric oxide synthase gene causes apoptosis in vascular smooth muscle cells. *Circulation* 1998; 98: 1212-18
44. De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduced endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995; 96: 60-8.
45. Chataigneau T, Feletau M, Huang PL. Acetylcholine- induced relaxation in blood vessels from endothelial nitric oxide synthase knockout mice. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 219-26.
46. Oksidative stress and atherogenesis Available from URL [http://www.geocities.com/agnihotrmed/paper04\\_jan-jun2008/fig1.jpg](http://www.geocities.com/agnihotrmed/paper04_jan-jun2008/fig1.jpg). Sitasi 3 April 2009
47. Browlee M: The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Banting Lecture 2004. Diabetes.* 2005;54:1615-24.
48. Feskens EJ, Kromhouts D. Glucose tolerance and risk of cardiovascular disease: the Zutphen study. *J Clin Epidemiol.* 1992;45:1327-34.
49. Vlassara H. Recent progress in advanced glycation end product and diabetic complications. *Diabetes.* 1999; 46: S19-25
50. Sargowo D, Rohman S. Oxidative Stress And Cardiovascular Injury. Dalam : *Kumpulan Makalah PIT Nasional IV PDS PATKLIN.* Malang, 25-27 November 2005
51. Levy, R. I, and Feinlieb, M : Risk factors for coronary artery disease and the management. In Braundwald, E.(ed): *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine.* 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia, W. B. Saunders, Co 2004: 1205
52. Çengel A, Sahinarsalan A. Nitric oxide and Cardiovascular System. *Anadolu Kardiyol Derg* 2006; 6: 364-8.
53. De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 963-74

54. Awal P, Udadi S. Aspek seluler dan molekuler aterosklerosis. Available from URL: [www.m3undip.org](http://www.m3undip.org). Sitasi 2 Februari 2009
55. The role of Nitric Oxide on endothel. Available from URL: [http://www.courtneynowell.com/images/cardio/plaqueBuildup\\_large.jpg](http://www.courtneynowell.com/images/cardio/plaqueBuildup_large.jpg). Sitasi 4 April 2009
56. Barua RS, Ambrose JA, Eales- Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG. Heavy and light cigarette smokers have similar dysfunction on endothelial vasoregulatory activity: an in vivo and in vitro correlation. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1758-63.
57. M. Basoglu, A. Balik. A Kiziltunc, F. Akcay, S.S. Atamanalp. Serum D(-)-Lactate and Nitric Oxide (NO) Levels in Acute Intestinal Ischemia. *Tr.J.of Medical Sciences* 1999;29;37-40
58. Assay Design Nitric Oxide Assay Kit. Nitric Oxide (NO<sup>2</sup>/NO<sup>3</sup>) Assay Kit Catalog No. 917-010. Available from URL: <http://www.assaydesigns.com/objects/catalog/product/extras/917-010.pdf>. Sitasi 8 Februari 2009
59. Dahlan MS. Menghitung besar sampel. Dalam: Seri Evidence Based Medicine Besar Sampel Dalam Penelitian Kedokteran dan Kesehatan. Edisi I. PT ARKANS. Jakarta 2006: (Seri 2) ;19-70
60. Griendling KK, FitzGerald GA. Oxidative Stress and Cardiovascular Injury. Part I: Basic Mechanism and In vivo Monitoring of ROS. *Circulation* 2003; 108: 1912-6.
61. Kuzkaya N, Weismann N, Harrison DG, Dikalov S. Interactions of peroxynitrite, tetrahydrobiopterin, ascorbic acid, and thiols: implications for uncoupling endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 2003; 278: 22546-54.
62. Drab M, Verkade P, Elger M, Kasper M, Lohn M, Lautetbach B, et al. Loss of caveolae, vascular dysfunctions and pulmonary defect in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science* 2001; 293:2449-52

**63. Yekti H, Purwanto AP, Nyoman Suci W. Korelasi antara panjang stenosis dengan kadar nitric oxide pada penderita PJK.2008.Mei.**









