

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1. Asam Lemak Trans**

Asam lemak trans, sebenarnya merupakan golongan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tidak jenuh dapat mengandung satu ikatan rangkap atau lebih. Asam lemak tak jenuh dikelompokkan dalam tiga jenis; yaitu asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acids*) dengan satu ikatan rangkap, asam lemak tak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acids*) mempunyai lebih dari satu ikatan rangkap, dan asam lemak trans (*trans fatty acids*).<sup>19</sup> Sebagai contoh adalah asam oleat mengandung satu ikatan rangkap, asam linoleat mempunyai dua ikatan rangkap, sedangkan asam linolenat mempunyai tiga ikatan rangkap, asam elaidat adalah asam lemak trans, yang merupakan isomer non alami dari asam oleat.

Adanya ikatan rangkap tersebut memungkinkan terjadinya isomer geometrik yang bergantung pada orientasi atom atau gugus disekeliling sumbu ikatan rangkap, jika rantai asil berada pada sisi yang sama, senyawa tersebut adalah tipe cis. Bentuk atau konfigurasi cis memiliki dua bagian rantai karbon yang cenderung berhadapan satu sama lain, sedangkan bentuk trans memiliki dua bagian dari rantai karbon yang hampir linier. Asam- lemak tak jenuh rantai panjang yang terdapat di alam hampir semuanya memiliki konfigurasi cis, di mana molekulnya tertekuk 120 derajat pada ikatan rangkapnya. Pada temperatur rendah, rantai karbon pada asam lemak tak jenuh membentuk suatu pola zig-zag bila diekstensikan. Pada temperatur yang lebih tinggi, sebagian ikatan mengadakan

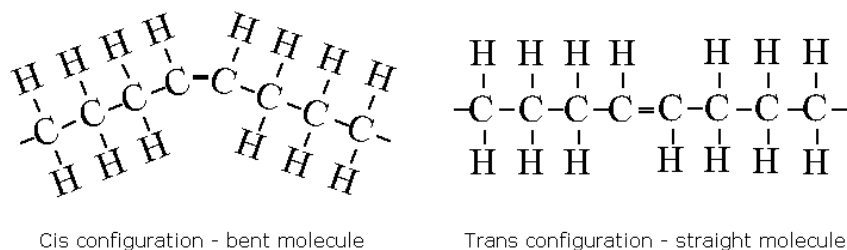
rotasi sehingga terjadi pemendekan rantai. Sifat- sifat yang demikian inilah yang menyebabkan asam lemak trans memiliki konfigurasi dan sifat yang hampir menyerupai asam- asam lemak jenuh. Jadi asam oleat mempunyai konfigurasi cis, yang berbentuk seperti huruf L, sedangkan asam elaidat adalah tipe trans, berbentuk lurus pada ikatan rangkap transnya, dan merupakan isomer non alami dari asam oleat. Asam lemak di dalam minyak terdapat dalam bentuk isomer cis dan trans.<sup>20,21</sup>

Peningkatan jumlah ikatan rangkap cis dalam asam lemak menghasilkan sejumlah konfigurasi molekul khusus, misalnya asam arakhidonat, dengan 4 ikatan rangkap cis, bisa mempunyai bentuk terpilin atau bentuk U. Bentuk ini mempunyai makna penting pada bungkus (*packing*) molekul dalam membran atau pada posisi yang ditempati oleh asam lemak di dalam molekul yang lebih kompleks seperti fosfolipid. Adanya ikatan rangkap trans akan mengubah hubungan spasial ini dan menyebabkan asam lemak tak jenuh tersebut mempunyai sifat khas. Salah satu sifat yang penting adalah bahwa ikatan rangkap tersebut relatif rentan terhadap perubahan- perubahan kimia, antara lain oksidasi, polimerisasi dan reaksi- reaksi lainnya, oleh sebab itu, asam lemak tak jenuh akan lebih mudah mengalami perubahan fisik dan kimia selama proses pengolahan dibanding asam lemak jenuh. Ikatan ganda pada asam lemak tak jenuh mudah bereaksi dengan oksigen ( mudah teroksidasi ), sehingga mudah menjadi tengik (*rancid*). Proses ini dikenal sebagai kerusakan bahan yang mengandung lemak yang penyebabnya adalah reaksi oksidasi terhadap asam lemak tak jenuh. Atas dasar tersebut, maka asam lemak tidak jenuh sering direaksikan dengan hidrogen untuk menghilangkan

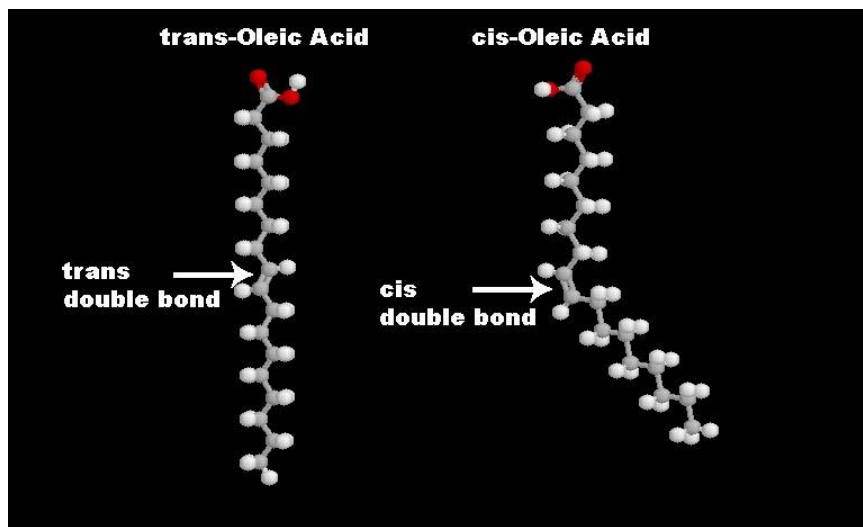
ketidakjenuhannya, dan reaksi inilah yang sering disebut sebagai reaksi penjenuhan atau reaksi hidrogenasi.

Proses hidrogenasi akan merubah minyak sayur menjadi lemak yang semisolid seperti margarin. Di bidang industri, sebenarnya proses hidrogenasi parsial selain untuk membuat minyak menjadi semisolid, juga bertujuan untuk mencegah agar minyak sayur tidak cepat menjadi rusak, lebih stabil, lebih tahan terhadap pengaruh oksidasi dibanding asam lemak bentuk cis dan menambah cita rasa. Asam lemak trans di dalam makanan berlemak dapat meningkat jumlahnya terutama dalam margarin karena proses pengolahan seperti proses hidrogenasi, atau karena pemanasan dengan temperatur tinggi.<sup>20,21,22</sup>

Asam- asam lemak trans bukan merupakan produk alami, namun asam lemak trans dijumpai dalam jaringan- jaringan individu yang mengkonsumsi makanan normal. Sedikit kontribusi tambahan berasal dari konsumsi lemak ruminansia yang mengandung asam lemak trans; asam lemak ini timbul sebagai hasil kerja mikroorganisme yang ada didalam usus hewan pemamah biak<sup>22</sup> Berbagai macam asam lemak trans terdapat di dalam makanan, dan yang paling banyak dijumpai adalah isomer 18:1.<sup>23</sup>



**Gambar 1. Struktur kimia asam lemak konfigurasi cis dan trans**



**Gambar 2. Konfigurasi molekuler asam lemak trans dan cis**

### **II.1.1. Perkembangan Asam Lemak Trans**

Pada tahun 1903, dengan alasan – alasan tersebut, maka mentega digantikan dengan margarin yang dibuat dari minyak nabati yang berbentuk cair menjadi bentuk setengah padat dengan tehnik hidrogenasi. Pertama kali ditemukan, keberadaan asam lemak trans dalam margarin dianggap menguntungkan karena mempunyai titik lebur yang lebih tinggi yang sama dengan titik lebur asam lemak jenuh, dan bentuknya setengah padat sehingga sesuai dengan kebutuhan.<sup>24</sup> Bila dibandingkan dengan asam lemak tak jenuh bentuk cis, bentuk trans lebih stabil dan lebih tahan terhadap proses oksidasi.<sup>22,24,25</sup> Namun ternyata hasil penelitian pada tahun 1998 menunjukkan bahwa asam lemak trans dapat meningkatkan risiko PJK.<sup>26</sup> Tidak hanya melalui proses hidrogenasi, asam lemak trans dapat juga terbentuk pada waktu pengolahan minyak (*refinery*) dan juga pada proses menggoreng (*deep frying*), asam lemak trans

juga terdapat pada produk ruminansia dalam jumlah kecil. Perubahan konfigurasi asam lemak cis menjadi trans mulai terbentuk pada temperatur 180<sup>0</sup>C dan semakin meningkat sebanding dengan naiknya temperatur.

Produk biskuit, donat dan produk lain yang menggunakan lemak pelembut (*shortening*) juga merupakan sumber asam lemak trans di dalam makanan sehari-hari.<sup>27</sup> Makanan cepat saji yang digoreng, produk roti, *snack* kemasan, margarin dan *crackers* (*hidrogenated* margarin mengandung 15- 40% asam lemak trans ) merupakan sumber utama asam lemak trans.<sup>28</sup> Di dalam mentega mengandung 2- 5% asam lemak trans, penelitian lain menyebutkan bahwa di dalam margarin mengandung > 60% asam lemak trans. Asam lemak trans tidak terdapat dalam minyak babi, minyak canola, minyak kedelai, minyak zaitun, maupun minyak jagung.<sup>23</sup>

*US Dietary Guidelines Advisory Committee*, 2005 merekomendasikan bahwa konsumsi asam lemak trans bagi setiap individu adalah di bawah 1% dari total energi. Apabila seseorang mengonsumsi kue donat, maka estimasi kandungan asam lemak transnya 3,2 gram, bila ditambah satu kemasan kentang goreng (*french fries*) yang mengandung 6,8 gram asam lemak trans, berarti dalam satu hari orang tersebut mengonsumsi 5% dari total energi.<sup>29</sup>

## **II.2. Asam Lemak Trans dan Metabolisme**

Bentuk atau konfigurasi trans memiliki dua bagian dari rantai karbon yang cenderung berhadapan satu sama lain yang hampir linier. Sifat- sifat inilah yang menyebabkan asam lemak trans memiliki konfigurasi dan sifat yang hampir menyerupai

asam lemak jenuh. Dalam jumlah besar, asam lemak trans dapat berpengaruh terhadap metabolisme asam lemak tak jenuh lainnya ( misalnya asam linoleat dan asam linolenat ) dengan cara kompetisi dalam memperebutkan enzim 6-denaturase yang ada dalam retikulum endoplasma dan berpengaruh terhadap proses- proses seperti trombogenesis, menghambat sebagian konversi asam linoleat menjadi arakidonat, sehingga menghambat produksi eikosanoit oleh jaringan.. Asam lemak trans dapat menyebabkan kurangnya kemampuan penghambatan terhadap terjadinya agregasi *platelet* dibanding asam lemak cis. Dalam keadaan normal substrat yang lebih disukai oleh enzim 6-denaturase tersebut adalah jenis asam linoleat dibandingkan dengan asam lemak trans. Hal ini menjamin tercukupinya suplai asam lemak dalam membentuk membran sel dan eikosanoit. Enzim tersebut menambah ikatan rangkap pada posisi 6 dari asam lemak golongan n-3, n-6 dan n-9 yang berarti asam lemak tersebut akan berkompetisi untuk mendapatkan sisi aktif enzim. Tetapi bila asam lemak trans terdapat dalam kadar yang tinggi dan pada saat bersamaan konsumsi asam linoleat rendah, maka asam lemak trans akan menjadi substrat alternatif dalam menghasilkan asam lemak tak jenuh jamak berantai panjang ( 20:4 , dengan satu ikatan rangkap trans) yang tidak mampu menjadi prekursor eikosanoid dan dapat mengantagonisasi metabolisme asam lemak esensial.

Enzim lipase pankreas sama cepatnya dalam menghidrolisis asam lemak trans maupun asam lemak cis. Beberapa asam lemak dengan ikatan rangkap ganda yang letaknya dekat dengan karboksil ( posisi 3 dan 6 ) dihidrolisis lebih lambat, jika dilihat dari bentuk molekul asam lemak trans yang lurus, seperti halnya asam lemak jenuh, enzim yang akan mengarahkan asam lemak ke posisi 1 dan 3 memperlakukan asam

lemak trans seolah-olah adalah asam lemak jenuh. Pada saat proses absorpsi, asam lemak trans cenderung diubah menjadi triasilgliserol yang kemudian di bawa ke jaringan dan berada pada jaringan adiposa, selain tersebut asam lemak trans biasanya ditemukan dalam fosfolipid pada jaringan lain seperti jantung, hati dan otak. Hal ini tergantung pada jenis konfigurasi dan letak ikatan rangkapnya, serta ada/ tidaknya asam linoleat dalam diet.

Pada umumnya absorpsi asam lemak trans ke dalam jaringan sebanding dengan jumlah asam lemak trans diet, tetapi di sisi lain terdapat bukti bahwa asam lemak trans yang dapat diserap maksimal sebesar 6-9%, berapapun konsentrasi asam lemak trans tergantung pada keberadaan unsur pokok lainnya dalam diet. Keberadaan asam lemak esensial dalam diet, walaupun dalam kadar minimal, cenderung menurunkan akumulasi asam lemak trans dalam jaringan. Selain itu, metabolisme asam lemak tubuh merupakan proses yang dinamis, tingkat inkorporasi asam lemak trans ke dalam kolesterol ester cukup rendah ( sekitar 15- 20% ) dan hal ini yang masih meragukan pengaruh negatif dari asam lemak trans.<sup>30</sup>

### **II.2.1. Asam Lemak Trans dan Metabolisme Lipid**

Hasil penelitian pada dekade terakhir menunjukkan bahwa keberadaan asam lemak trans di dalam makanan menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan yaitu memicu terjadinya penyakit jantung koroner yang tidak dapat diabaikan. Penelitian menunjukkan pengaruh asam lemak trans lebih buruk daripada efek negatif asam lemak jenuh dan kolesterol.<sup>31</sup> Studi menunjukkan bahwa konsumsi asam lemak trans

menyebabkan peningkatan kadar kolesterol LDL, menurunkan kadar kolesterol HDL, yang merupakan penyebab utama terjadinya defek pada pembuluh darah<sup>32,33</sup>, sedangkan asam lemak jenuh tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar HDL<sup>34,35</sup>, asam lemak trans juga meningkatkan rasio kolesterol LDL terhadap kolesterol HDL, yang merupakan prediktor kuat terhadap risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler.<sup>36</sup>

Menurut *Institut of Shortening and Edible Oils* ( ISEO ) menyebutkan bahwa konsumsi asam lemak trans dalam jumlah tak berlebihan tidak menimbulkan efek negatif terhadap kesehatan, peneliti lain menyatakan konsumsi asam lemak trans sebesar 1-3% sudah dapat memunculkan serangan jantung bagi usia dewasa.<sup>37</sup> Oleh karenanya kandungan asam lemak dalam produk pangan perlu dipertimbangkan sebagai bagian yang perlu disampaikan pada masyarakat melalui pencantuman label kemasan. Kandungan asam lemak trans dikatakan rendah bila kandungannya kurang atau sama dengan 5%, dan *zero* trans bila kandungannya 1-2%. Asupan asam lemak trans selama kehamilan diduga juga mengganggu metabolisme asam lemak esensial sehingga berpengaruh terhadap perkembangan janin.<sup>29</sup>

Pengaruh asam lemak trans sangat tergantung pada kadar asupan; kadar yang tinggi lebih dari 6% energi total jelas berbahaya, namun kadar yang rendah di bawah 2% sampai kadar 4,5% energi total tidak berbahaya bila dikonsumsi bersamaan dengan asam lemak tak jenuh ganda, tetapi pengaruh positif dari asam lemak tak jenuh akan ditiadakan oleh adanya asam lemak trans di dalam makanan, hal ini karena asam lemak trans menghambat biosintesis asam arakhidonat yang sangat dibutuhkan dalam



pembentukan membran sel dan pertumbuhan jaringan. Oleh karenanya asupan tinggi asam lemak trans bagi anak-anak terutama dari margarin tidak dianjurkan.<sup>26</sup>

### **II.2.2. Asam Lemak Trans dan Proses Inflamasi**

Asam lemak trans berpengaruh terhadap terjadinya inflamasi sistemik pada membran sel endotel, melalui jalur spesifik.<sup>38</sup> Asam lemak trans juga memodulasi proses inflamasi melalui jalur spesifik membran sel endotel dan jalur *signaling* fosfolipid membran makrofag. Efek proinflamatori dari *intake* asam lemak trans dapat meningkatkan resistensi insulin, kegagalan fungsi sel endotel, peningkatan oksidasi lipid, dan menurunkan aktivitas jaringan plasminogen *post prandial*.<sup>39</sup>

Penelitian pada hewan coba, menyebutkan bahwa pemberian diet dengan kandungan asam lemak trans 10% berdampak terhadap penatalaksanaan metabolisme nutrien di hati, jaringan adiposa, otot skelet dan menginduksi resistensi insulin.<sup>40</sup> Metabolisme asam lemak trans di dalam tubuh dapat menimbulkan stres oksidatif.<sup>7</sup> Sel yang sehat, sebenarnya selalu dalam keadaan stabil, namun rentan terhadap stimulus buruk yang berpengaruh terhadap sel, sehingga dapat berakibat terjadinya kerusakan sel yang fatal.

Stres oksidatif menyebabkan stimulus untuk terjadinya respons inflamasi pada endotel pembuluh darah, gangguan metabolisme, seperti *uptake* glukosa pada otot maupun jaringan adiposa, penurunan sekresi insulin. Patofisiologi stres oksidatif yang paling berperan adalah dapat merusak sel sehingga menyebabkan disfungsi endotel, sampai pada akhirnya menimbulkan penyakit vaskuler diantaranya aterosklerosis,

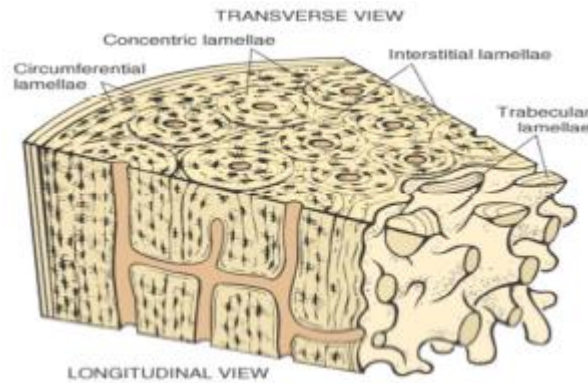
diabetes, hipertensi dll. Stres oksidatif secara signifikan memberi kontribusi pada berbagai penyakit yang berhubungan dengan gangguan aliran darah sementara dan pembentukan energi.<sup>10,8,41</sup> Reactive Oxygen Species ( ROS ) berperan penting pada keadaan fisiologis maupun patologis vaskuler, ROS secara intraseluler diproduksi dalam jumlah sedikit, maka ROS bekerja sebagai *second messengers*, modulator jalur biokimia untuk memediasi berbagai repons seperti pertumbuhan sel- sel otot polos pembuluh darah. Namun bila ROS diproduksi dalam jumlah besar, maka ROS dapat merusak DNA, bersifat toksik, dan dapat menyebabkan apoptosis.<sup>42</sup> Penanda inflamasi dapat memberikan informasi mengenai perkembangan penyakit kardiovaskuler serta menyediakan target baru untuk terapi.<sup>10</sup>

## **II.3. Tulang**

### **II.3.1. Struktur Tulang**

Secara garis besar tulang dikenal ada dua tipe yaitu tulang korteks (kompak) dan tulang trabekular (berongga=*spongy=concelous*). Bagian luar kedua tulang tersebut merupakan tulang padat yang disebut kortkes tulang dan bagian dalamnya adalah tulang trabekular yang tersusun seperti bunga karang.<sup>43,44</sup>

Secara makroskopis tulang dibedakan menjadi tulang *woven* dan tulang berlapis *lamellar*. Tulang *woven* adalah bentuk tulang yang paling awal pada embrio dan selama pertumbuhannya terdiri dari jaringan kolagen berbentuk ireguler. Setelah dewasa tulang *woven* diganti oleh tulang berlapis yang terdiri dari tulang korteks dan trabekulas.<sup>45,46</sup>



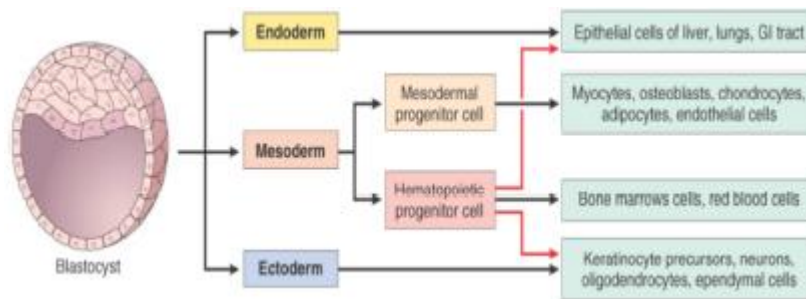
**Gambar 3. Struktur Tulang Normal dengan *Sistem Havers***<sup>47</sup>  
**Sumber: Compston**<sup>47</sup>

Selama perkembangannya tulang membutuhkan kalsium yang tinggi dan setelah mencapai masa pubertas kematangan hormon estrogen pada wanita dan kematangan hormon testosteron pada laki-laki, karena pengaruh anabolik dan prekursor estrogen terjadilah proses remodeling tulang. Keterlambatan dan kegagalan pematangan gonad (sindroma Turner, sindroma klinefekter), faktor nutrisi, dan aktifitas fisik berat terutama saat puber sebelum menarche (atlit berprestasi merupakan faktor yang menyebabkan tidak tercapai puncak massa tulang dan ancaman terjadinya osteoporosis dini).<sup>46</sup>

### II.3.2. Komposisi Tulang

Asal mula sel-sel tulang berasal dari stem sel tulang yang berkembang menjadi mesoderm progenitor kemudian membentuk jalur mesenkim (preosteoblas, osteoblas, osteosit, dan *bone lining cells*) dan jalur hemopoetik (preosteoklas, osteoklas). Stem sel ini definisinya masih sulit dipahami, beberapa pendapat mendefinisikan stem sel merupakan *unspecified* dan *undifferentiated cells* yang berfungsi memperbaharui sel-sel

tubuh termasuk didalamnya sel-sel darah, kulit, intestinal, dan seterusnya. Pada awal pembentukannya diawali oosit teraktifasi, menjadi zigot membelah berbentuk blastokis yang berisi DNA donor.<sup>47,48,49,50</sup>



**Gambar 4. Fungsi diferensiasi sel-sel embrionik dan generasi sel-sel jaringan<sup>47</sup>**  
**Sumber: Compston<sup>47</sup>**

### II.3.3. Sel Tulang

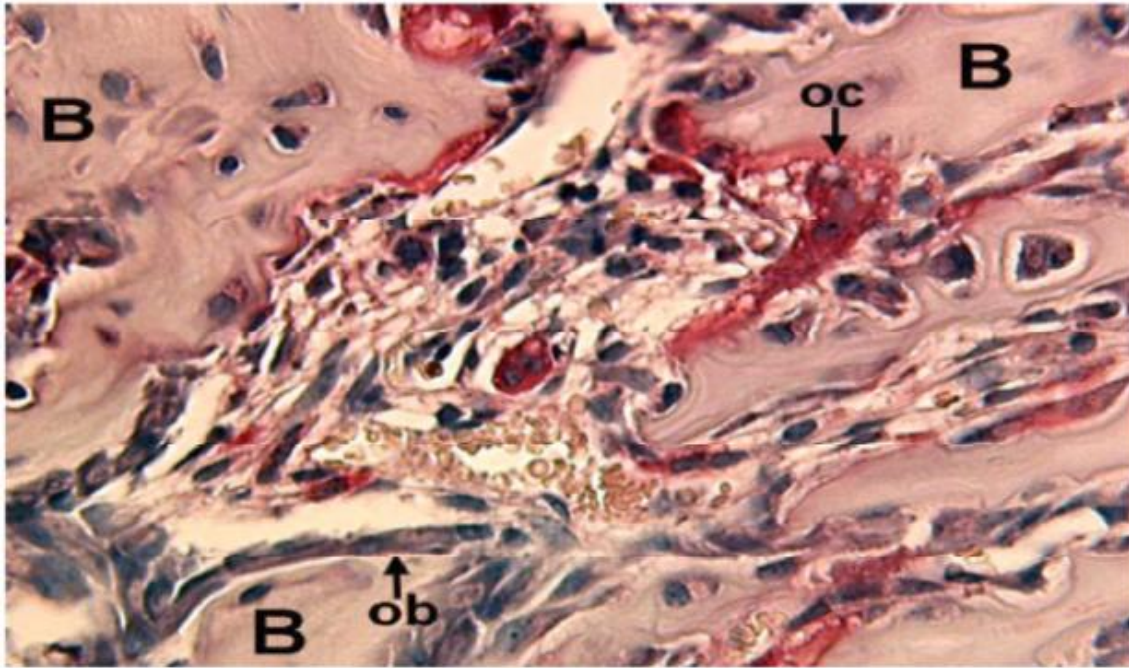
#### II.3.3.1. Osteoblas

Osteoblas berasal dari jalur sel mesenkim stroma sumsum tulang. Osteoblas memproduksi osteoid atau matriks tulang, berbentuk bulat, oval, atau polihedral, terpisah dari matriks yang telah mengalami mineralisasi. Osteoblas berfungsi mensintesis dan mensekresi matriks organik tulang, mengatur perubahan elektrolit cairan ekstraselular pada proses mineralisasi. Osteoblas mengandung retikulum endoplasmik, membran golgi dan mitokondria. Pematangan osteoblas memerlukan *fibroblast growth factor* (FGF), *bone morphogenic proteins* (BMPs), *core binding factor-1* (CBFA-1) dan *osteoblast specific cis acting element* (OSE-2). Osteoblast memiliki reseptor estrogen, sitokin, paratiroid hormon (PTH), *insulin derivated growth*

*factor* (IGF), dan vitamin D3. Osteoblas saling berhubungan melalui *gap junction*. Osteoblas yang menetap pada permukaan tulang bentuknya pipih yang dinamakan *bone lining cells / resting osteoblast*.<sup>47,48,49</sup>

### **II.3.3.2. Osteoklas**

Osteoklas berasal dari jalur hemopoetik yang juga membuat makrofag dan monosit. Sel ini berpindah dari sumsum tulang lewat sirkulasi atau migrasi direk. Sel prekursor osteoklas terdapat pada sumsum tulang dan sirkulasi darah. Sel ini ditemukan pada permukaan tulang yang mengalami resorpsi dan kemudian membentuk cekungan yang dikenal sebagai lakuna *Howship*.<sup>51</sup> Osteoklas merusak matriks tulang, melekat pada permukaan tulang, memisahkan sel dengan matriks, menurunkan pH 7 menjadi pH 4. Keasaman ini akan melarutkan mineral dan merusak matriks sel sehingga protease keluar. Osteoklas memiliki reseptor yaitu *RANK-ligand* (RANK-L) untuk maturasi sel dan mengalami apoptosis.<sup>47,48,52</sup>



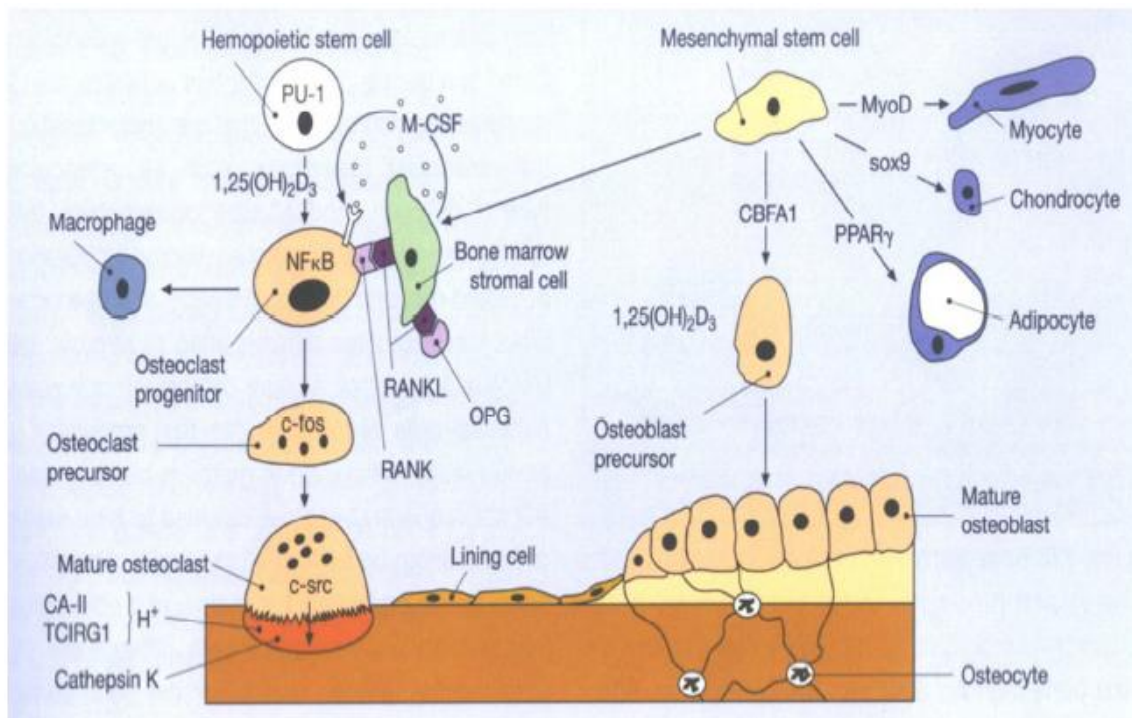
**Gambar 5. Sel Tulang (ob:Osteoblas; oc:Osteoklas)<sup>49</sup>**  
**Sumber:Rosenberg<sup>49</sup>**

### **II.3.3.3. Osteosit**

Osteosit berasal dari osteoblas dimana pada akhir proses mineralisasi akan tersimpan pada matriks tulang. Osteosit mempunyai satu inti, jumlah organela bervariasi dan sel ini menjangkau permukaan luar dan dalam tulang, membuat tulang menjadi sensitif terhadap tekanan, mengontrol pergerakan ion serta mineralisasi tulang.<sup>47,53</sup>

Osteosit merupakan 90% dari sel tulang terletak diantara matriks tulang yang mengalami mineralisasi. Osteosit mempunyai satu inti, jumlah organela bervariasi. Jaringan sel ini menjangkau permukaan luar dan dalam tulang, membuat tulang menjadi sensitif terhadap pengaruh tekanan, mengontrol pergerakan ion serta mineralisasi tulang.

Osteosit berasal dari osteoblas yang pada akhir proses mineralisasi terhimpit oleh ekstraselular matriks. Osteosit merupakan sel yang sensitif terhadap tekanan mekanik osteosit merupakan sel yang sensitif terhadap tekanan mekanik, berperan dalam pemeliharaan massa dan struktur tulang, terlihat gambar 6.<sup>47,48,54</sup>



**Gambar 6. Regulasi Fungsi dan Diferensiasi Sel Tulang<sup>11</sup>**  
**Sumber:RobJ,et all.<sup>11</sup>**

### II.3.3.4. Remodeling

Setelah tulang woven berubah menjadi tulang berlapis (*lamellar*), tulang terus mengalami proses resorpsi, pembentukan dan mineralisasi yang dikenal sebagai remodeling tulang (pembentukan kembali). Tujuan pembentukan kembali tulang atau remodeling tulang adalah untuk memperbaiki kerusakan tulang akibat kelelahan atau *fatigue damage*, mencegah proses ketuaan atau *aging* dan akumulasi tulang tua. Proses

remodeling diatur oleh sel osteoblas dan osteoklas yang tersusun dalam struktur yang disebut „*bone remodeling unit*“ (BRU). BRU merupakan suatu struktur temporer yang unik aktif saat modeling dan remodeling. Struktur dari BRU terdiri dari osteoklas didepan oleh osteoblas, dibelakang dan ditengah-tengah terdapat kapiler, jaringan syaraf dan jaringan ikat. Panjang BRU 1-2 mm dengan lebar 0,24 mm bekerja memahat tulang, meresorpsi tulang dan membentuk tulang baru. Pada orang dewasa sehat diperkirakan 1 juta BRU aktif bekerja sedangkan 2-3 juta BRU dalam keadaan non aktif. BRU bekerja pada tulang kortikal maupun trabekular.<sup>46,47,53</sup>

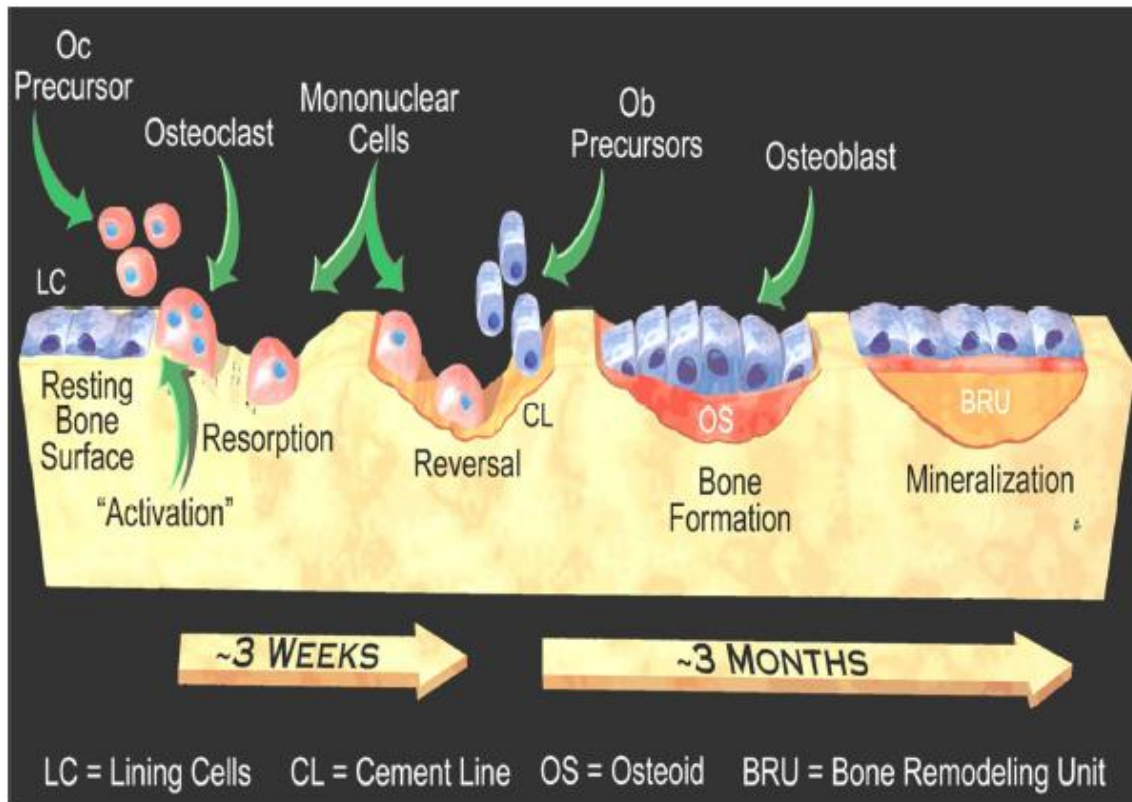
Pada tulang trabekula, BRU bergerak melewati permukaan memahat dan menggali oleh osteoklas dan menutup bekas galian tadi mengganti sel-sel yang rusak dan membentuk tulang baru oleh osteoblas.<sup>54</sup> Proses penyerapan tulang terjadi dalam tiga minggu sedangkan proses pembentukan tulang membutuhkan waktu sekitar tiga bulan. Masa hidup BRU enam sampai sembilan bulan, lebih lama dari masa hidup osteoblas yaitu tiga bulan dan masa hidup osteoklas dua minggu sehingga diperlukan persediaan banyak sel osteoblas yang dibentuk oleh sel mesenkim dan osteoklas.<sup>46,47,55</sup>

Tahapan siklus remodeling tulang sebagai berikut<sup>47</sup> :

1. *Quiescence*, yaitu fase tenang, permukaan tulang sebelum terjadi resorpsi.
2. *Activation*, dimulai saat osteoklas teraktivasi dan taksis (pergerakan dan arah perpindahan dipengaruhi oleh arah datangnya rangsangan) ke permukaan tulang.
3. *Resorption*, dimana osteoklas berada pada permukaan tulang. Osteoklas akan mengikis permukaan tulang melarutkan mineral, matriks tulang, membuat lubang (*resorption pit*) dan selanjutnya tertarik dalam *resorption pit*.



4. *Bone formation*, dimana osteoblas akan membentuk tulang baru dengan memproduksi matrika tulang osteoid.
5. *Mineralization*, dimana permukaan tulang telah ditutupi dengan sel-sel pelapis oleh proses modeling dan remodeling.



**Gambar 7. Proses Remodeling Tulang<sup>47</sup>**  
**Sumber: Compston<sup>47</sup>**

#### **II.3.4. Manfaat Pemeriksaan Remodeling Tulang**

Perkembangan ilmu dan teknologi serta peningkatan pemahaman yang lebih mendalam tentang metabolisme tulang membuka cakrawala baru dalam menera remodeling tulang. Seperti telah dijelaskan terdahulu, bahwa proses remodeling tulang

secara garis besarnya ditentukan oleh dua aktivitas yang berlawanan antara osteoblas dan osteoklas.<sup>47</sup>

Teknologi terkini telah mampu untuk menera keberadaan alkalifosfatase yang hanya diproduksi osteoblas dan dikenal sebagai *Bone specific alkaline phosphatase* (BAP), serta osteokalsin.<sup>56</sup>

#### **II.4. Nitric Oxide ( NO )**

*Nitric Oxide* ( NO ) adalah *endothelial- derived relaxing factor* ( EDRF ) yang disintesis dan dilepaskan oleh sel endotel, berfungsi sebagai vasodilator kuat, dan pelepasannya dirangsang oleh bradikinin. NO dalam jumlah kecil dikeluarkan secara alami oleh pembuluh darah untuk kontraksi.<sup>54,48</sup>

##### **II.4.1. Nitric oxide synthase**

*Nitric oxide synthase* ( NOS ) merupakan isoenzim di dalam tubuh, dan terdapat dalam 3 jenis , yaitu *endothelial NO synthase* ( eNOS ), *neuronal NO synthase* ( nNOS ), dan *inducible NO synthase* ( iNOS ).

1. Enzim eNOS, merupakan enzim yang mempunyai sifat dependen terhadap  $Ca^{2+}$ , enzim ini dijumpai pada berbagai jenis sel dan bertanggung jawab dalam produksi sebagian besar NO pada pembuluh darah yang sehat dan dilepas secara kontinyu oleh sel endotel arteri maupun vena dan trombosit. eNOS gen pengkodanya terdapat dalam kromosom 7q35-36, pertama kali diidentifikasi di sel.

2. nNOS merupakan bentuk khusus dari eNOS yang berfungsi pada sistem saraf. nNOS dijumpai pada kromosom 12q24.2, di mana aktifitasnya tergantung pada peningkatan kadar  $Ca^{2+}$ , ditemukan pertama kali pada neuron.
3. 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 endotoksin. iNOS dijumpai pada gen 17 cen-q12, aktifitasnya tidak tergantung kadar  $Ca^{2+}$

*Nitric oxide* disintesis oleh sel endotel dari L- arginin 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 citruline dan NO serta memerlukan bantuan calmodulin dan pteridin tetrahydrobpterin ( BH4) sebagai kofaktor.

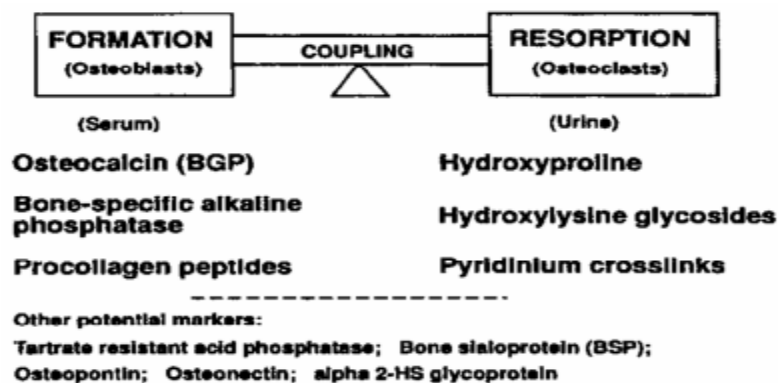
#### **II.4.2. Peran metabolik**

*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 pentoksinitrit. 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 vasodilasi sistem kardiovaskuler. Sel endotel memproduksi NO sebagai vasodilator pembuluh darah, inhibitor trombosit dan menghambat migrasi serta proliferasi sel otot polos. 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 reagen Griess.

## II.5. Osteokalsin

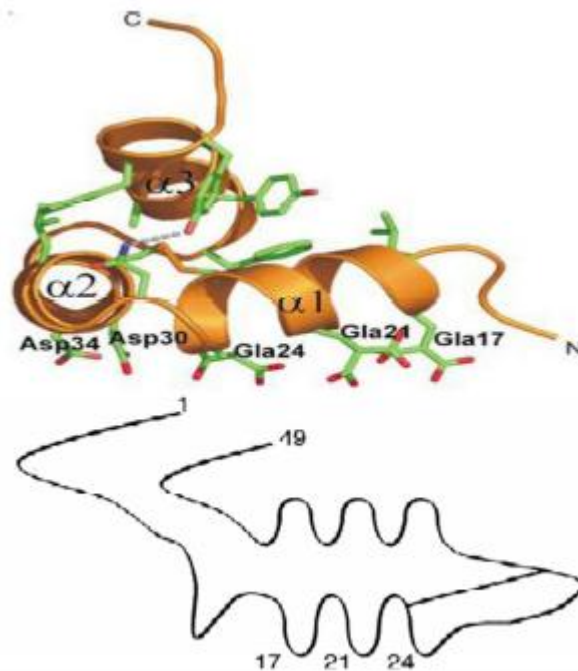
Pemeriksaan enzim atau matriks protein yang diproduksi oleh osteoblas / *bone formation* atau osteoklas / *bone resorption* dapat digunakan untuk mengetahui *turnover* (remodeling tulang). Osteokalsin adalah suatu protein Gla *g-carboxyglutamic acid*, adalah petanda (marker) dari formasi tulang yang merupakan suatu vitamin K dan vitamin D-*dependent*-protein yang diproduksi osteoblas.<sup>14,56</sup>



**Gambar 8. Marker Biokimia pada Metabolisme Tulang<sup>11</sup>**  
**Sumber: Allison<sup>11</sup>**

### II.5.1. Struktur Osteokalsin

Osteokalsin adalah sebuah polipeptida-49residue (5-8 kDa) dimana banyak terdapat pada berbagai spesies. Pada manusia gen osteokalsin terdapat pada kromosom 1 (Iq25-q31) dan diregulasi pada level transkripsi oleh 1,25-dihydroxy vitamin D3.<sup>14,56</sup>



**Gambar 9. Struktur Osteokalsin<sup>57</sup>**  
**Sumber: Ivaska<sup>57</sup>**

Osteokalsin disensitisasi sebagai 11 kDa *preproosteocalcin* dari 98 residu. Molekul ini terdiri dari 3 bagian, yaitu:

1. *23-residue-signale peptide* : dipecah selama proses translasi
2. *26-residu-propeptide* : merupakan target protein untuk  $\gamma$  carboxylation

3. *49-residue-mature protein* : terdiri dari 2 anti-parallel  $\alpha$ -*helical domains* residu 16-25 dan 30-41) dihubungkan oleh rantai  $\beta$ -*turn* (residu 26-29), dimana juga terdapat 2 rantai  $\beta$ -*turns* dan struktur  $\beta$ -*sheet* pada *C-terminal-end*, struktur ini distabilkan oleh Cys23-Cys29 *disulphide bond*.<sup>14,56</sup>

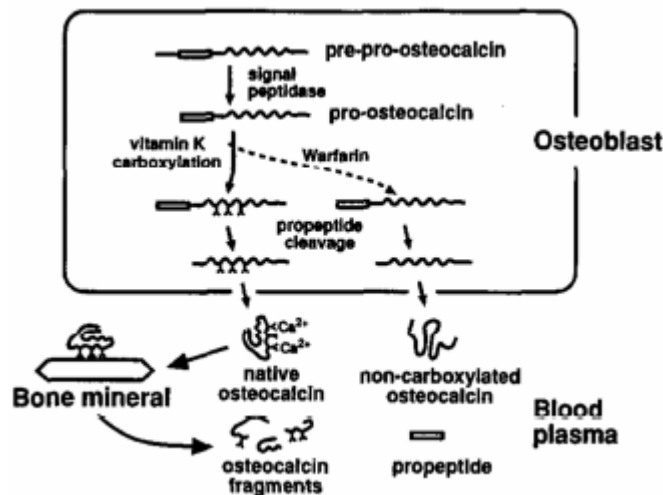
### II.5.2. Proses $\gamma$ carboxylation pada osteokalsin

Osteokalsin adalah tiga dari salah satu dari vitamin K-protein dependen yang diproduksi oleh osteoblas, disamping protein lainnya yaitu matriks protein Gla dan protein S. Vitamin K atau *phylloquinone* (suatu vitamin larut lemak yang lebih diketahui berhubungan dengan kaskade koagulasi) adalah sebuah *co-factor* esensial untuk *post-translational  $\gamma$  carboxylation* dari osteokalsin. Selama *carboxylation* terjadi, proses grup kedua *carboxyl* bertambah dan menjadi spesifik glutamil residu (glu) pada posisi 17,18, dan 24 pada bentukan residu  $\gamma$  *carboxylation*. Modifikasi ini berguna nantinya untuk perubahan formasi, kestabilan rantai  $\alpha$ -*helical-protein* dan memberikan efek afinitas yang besar untuk kalsium dan hidroksiapatit.<sup>14,56</sup>

### II.5.3. Sintesis dan Katabolisme Osteokalsin

Osteokalsin diketahui dan diterima sebagai produk spesifik dari osteoblas. Setelah diproduksi, sebagian akan bergabung pada matriks tulang dan sebagian akan beredar pada sistim sirkulasi. Saat ini disamping hal tersebut terdapat beberapa laporan, dimana terjadi ekspresi osteokalsin mRNA pada megakariosit dan adiposit, akan tetapi perlu dicatat bahwa ekspresi ini dilaporkan secara *in vitro*, bukan *in vivo*.<sup>14,57</sup>

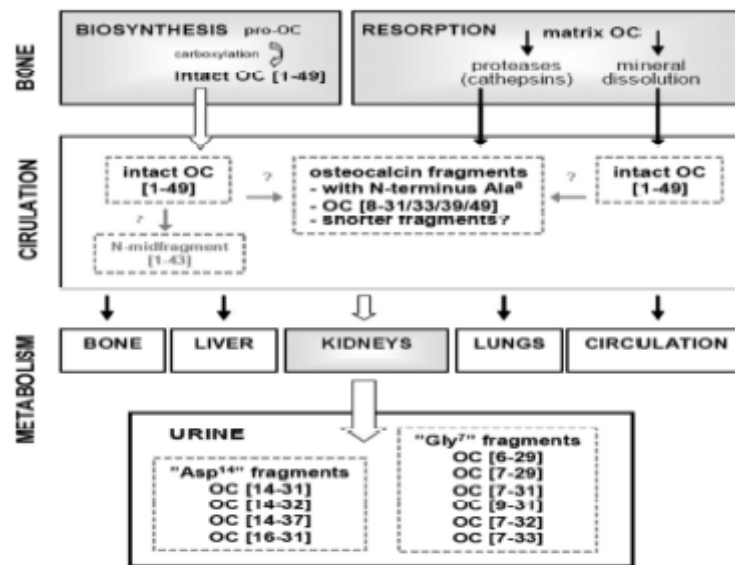
Skema gambar, menggambarkan biosintesis dan metabolisme osteokalsin serum yang dapat diambil dari komponen plasma atau *marker* serum dari formasi tulang. Sintesa osteokalsin secara spesifik diproduksi sebagian besar oleh osteoblas dan sedikit oleh odontoblas. Secara umum seperti protein lainnya, osteokalsin mempunyai sinyal yang mengarahkan dirinya kedalam retikulum endoplasma untuk memberikan pro-osteokalsin (terdiri dari 26 *aminoacid propeptide* N-terminal) kepada rantai 49-residue osteokalsin.<sup>14</sup>



**Gambar 10. Metabolisme Osteokalsin<sup>11</sup>**  
**Sumber:Allison<sup>11</sup>**

Sebelum sekresi dari osteoblas, residu *glutamic –acid* diproses karboksilasi oleh *vit-K-dependen enzyme* menjadi bentukan *g-carboxyglutamic acid* (Gla) dimana osteokalsin manusia terdiri dari maksimal tiga Gla residu per molekul, kemudian terjadi pemecahan propeptida dan sekresi jumlah besar *native-osteocalcin* yang berguna untuk meningkatkan mineral matriks, proses ini dibantu oleh *calcium-binding properties of Gla residue*. Maka terjadilah *under-carboxylated* molekul, yang sepertinya

mengakibatkan tidak terbentuknya matriks dengan proporsi yang baik. Sebagian besar *immunoassay* untuk osteokalsin mengenal *native* dan *non-carboxylated molecule* dan hal ini dapat mengganggu interpretasi pada gambar. Beberapa usaha dilakukan untuk mendeteksi serum *osteocalcon-carboxylation* dengan penggunaan hidroksi apatit *binding in vitro*.<sup>14,57</sup>



**Gambar 11. Sirkulasi Osteokalsin<sup>57</sup>**  
**Sumber: Ivaska<sup>57</sup>**

Fungsi sebenarnya dari osteokalsin belum diketahui secara pasti, tetapi pada penelitian Ducy dan kawan-kawan didapatkan „*osteocalcin knockout*“ pada tikus, dimana digambarkan bahwa terdapat abnormalitas fenotipe pada umur 6 bulan, seiring dengan peningkatan *marker* formasi tulang. Hal ini diduga bahwa osteokalsin mungkin berhubungan dalam regulasi fungsi osteoblas. Sebagian besar osteokalsin disekresi oleh osteoblas yang dideposit pada matriks tulang ekstraseluler, serum osteokalsin mewakili fraksi dari total osteokalsin yang tidak diabsorpsi oleh hidroksi apatit.<sup>14</sup>



Serum osteokalsin mempunyai waktu paruh pendek dan terhidrolisis dalam ginjal dan hepar. Dalam sirkulasinya osteokalsin mempunyai 2 fragmen yaitu: *C-terminal – fragment* (dapat dipecah dengan mudah) dan *N-terminal mid-fragment* yang lebih stabil dan kuat. Hal ini dikarenakan residu 19-20 dan 43-44 sulit dihidrolisis. Dan diduga bahwa *arginyl-arginyl* residu yang terdapat pada posisi 19-20 terproteksi dari proteolisis karena hubungan mereka dengan *Gla-helix* atau proteksi ini berasal daripada *highly negatively charged γcarboxyglutamyl residues* pada posisi 17,21, dan 24, sedangkan pada posisi 43 dan 44 lebih labil berhubungan dengan *C-terminal β-sheet*. Garnero dan kawan-kawan menggunakan antibodi monoklonal untuk mengidentifikasi sirkulasi fragmen pada individu sehat dan pasien dengan penyakit metabolik tulang. Dengan hasil terdapat sangat banyak bentukan imunoreaktif dari molekul yang *intact* dan *N-terminal mid-fragment* baik pada individu yang normal ataupun osteoporotik. Dalam sirkulasi dalam bentuk intak-osteokalsin dan N-term mid-osteokalsin serta fragmen-fragmennya, sedangkan untuk metabolisme terdapat terutama pada tulang, kemudian hati, ginjal, paru dan sirkulasi tubuh seperti tampak pada gambar. Sebagai tambahan mereka juga menemukan peningkatan N-terminal midfragmen pada pasien penyakit Pagets dan pasien gagal ginjal kronik.<sup>14,57</sup>

Perbedaan penyakit yang berhubungan dengan metabolisme tulang sangat berhubungan dengan penentuan karakteristik dari bentukan imunoreaktif daripada osteokalsin. Deteksi intak atau fragmen osteokalsin cukup penting untuk kepentingan laboratorium dimana diperiksa dengan *Commercial Assay* (Incstar, CIS ELSA-osteo-nat (1-49), CIS ELSA-osteo (1-43), Nichols (1-49, 1-43), yang dikenal saat ini. Assay ini

hanya mendeteksi intak osteokalsin yang sensitif terhadap pemeriksaan degradasi pemeriksaan degradasi *in vitro*.<sup>14</sup>

#### **II.5.4. Agen Terapetik yang Berefek pada Kadar Osteokalsin**

Beberapa agen yang berefek pada kadar osteokalsin:

1. 1,25-dihydroxyvitamin D3 dapat menstimulasi produksi osteokalsin
2. Calcitriol *stimulation test 2 Ug/d-7 days* (Duda,dkk) dapat mengakibatkan *responsiveness osteoblas*
3. Glukokortikoid dapat menurunkan serum osteokalsin (mulai hari pertama pemberian terapi)
4. Adrenal insufisiensi menunjukkan yang osteokalsin rendah
5. Terapi antikonvulsan dapat meningkatkan konsentrasi osteokalsin karena peningkatan *turn over* tulang, dapat terjadi osteopenia
6. Penggunaan heparin mengakibatkan penurunan sirkulasi osteokalsin
7. Penggunaa warfarin (*coumarins*) tidak semua dapat mengalami penurunan sirkulasi osteokalsin. Dikarenakan proses *undercarboxylation* osteokalsin dimana terjadi rendahnya serum vit K1 (*phylloquinone*) dan vit K2 (*the menaquinonei*) berhubungan dengan fragilitas tulang dan peningkatan risiko fraktur. Osteokalsin merupakan sebuah protein vit-k-dependent dapat dipengaruhi keadaan tertentu yaitu modifikasi atau perubahan vit k-*dependent-carboxylate*.<sup>14</sup>

## **II.6. Hubungan Asam Lemak Trans, Kadar Nitrit Oksida dan Kadar Osteokalsin.**

Asam lemak trans dosis tinggi menyebabkan kenaikan dari NO dan mempengaruhi proses inflamasi. Proses inflamasi akan mengaktifkan TNF- $\alpha$  dan IL-6 untuk merangsang osteoklastogenesis. NO dapat meningkat jika terjadi peningkatan peroksidasi lipid. Kadar NO dapat mempengaruhi kadar IL-1 yang meningkatkan aktivitas RANKL yang menyebabkan peningkatan osteoklastogenesis.<sup>46,47</sup>

Osteoklastogenesis yang meningkat akan meningkatkan dan mempercepat proses resorpsi tulang oleh osteoklas. Osteokalsin yang dihasilkan oleh osteoblas akan meningkat dalam darah akibat proses *coupling*, merupakan proses berlawanan dari osteoklas. Osteokalsin yang dihasilkan osteoblas dan gagalnya osteokalsin dalam mengendalikan osteoklas diperkirakan menjadi penyebab kerapuhan tulang.<sup>14,52</sup>