

Potensi Ekstrak Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap Ekspresi Sel Busa dan *Nuclear Factor Kappa B*(NF- κ B) : Pendekatan Terapi Antiinflamasi Atherosklerosis

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh :
Benny Arie Pradana
NIM 0910710005**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

SK



SK



SK



SERTIFIKAT

v



SURAT KETERANGAN SERTIFIKAT



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

Potensi Ekstrak Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap Ekspresi Sel Busa dan *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) : Pendekatan Terapi Antiinflamasi Atherosklerosis

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum

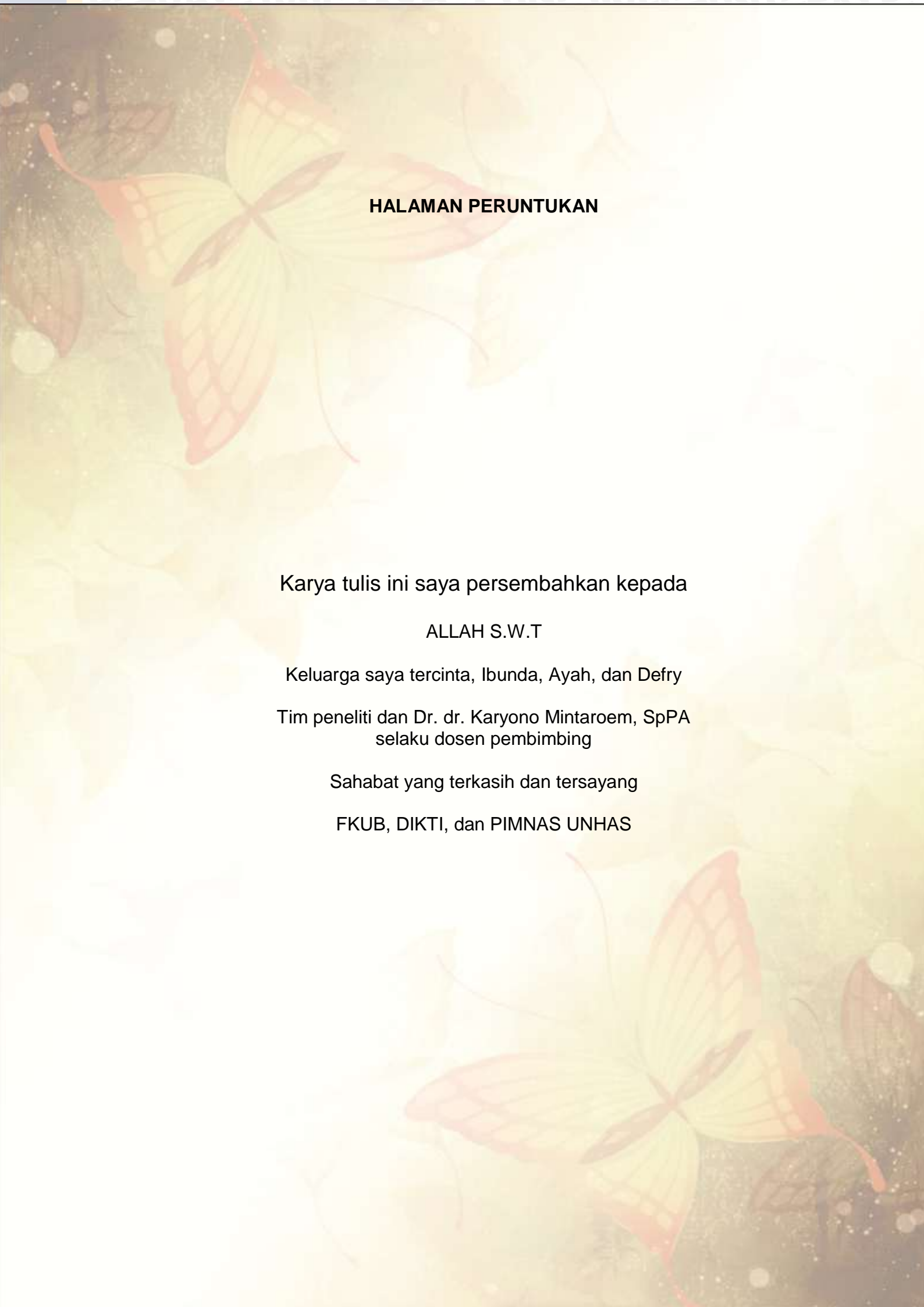
Oleh :

Benny Arie Pradana

NIM : 0910710005

Pembimbing

Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA
NIP.19501116 198002 1 001



HALAMAN PERUNTUKAN

Karya tulis ini saya persembahkan kepada

ALLAH S.W.T

Keluarga saya tercinta, Ibunda, Ayah, dan Defry

Tim peneliti dan Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA
selaku dosen pembimbing

Sahabat yang terkasih dan tersayang

FKUB, DIKTI, dan PIMNAS UNHAS

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb.

Segala puji bagi Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul "Potensi Ekstrak Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap Ekspresi Sel Busa dan *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) : Pendekatan Terapi Antiinflamasi Atherosklerosis". Penelitian ini merupakan tugas akhir yang dibuat sebagai persyaratan untuk memenuhi gelar sarjana kedokteran umum.

Pada penelitian ini penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak, Ibu, Adik, serta keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan doa dalam menghadapi kendala teknis dan psikologis dalam menyelesaikan penelitian ini
2. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku Dekan FKUB atas bimbingan dan arahan selama proses penelitian dan presentasi PIMNAS
3. dr. M. Hanafi, MPH selaku Pembantu Dekan III FKUB atas bimbingan dan arahan selama proses penelitian, persiapan, karantina, dan presentasi PIMNAS
4. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA. selaku dosen pembimbing atas bimbingan intensif selama penelitian, solusi permasalahan, pelatihan presentasi, pendampingan saat monev dan PIMNAS, serta dukungan yang telah diberikan
5. DIKTI selaku penyelenggara PIMNAS 2011 dan penyedia dana penelitian
6. Teman – teman tim peneliti Benny, Adit, Arrizal, dan Mas Eko atas kerja kerasnya selama penelitian
7. Pihak Laboratorium Biokimia – Biomolekuler, Mbak Fitri yang selalu membantu dalam urusan pemeliharaan hewan coba penelitian dan pembedahan

8. Pihak Laboratorium Biomedik, Mas Ali, Mas Yudha, Mbak Fitri, yang membimbing dalam proses pembuatan slide sel busa, dan penghitungan sel busa
9. Pihak Laboratorium Farmakologi, Mas Memed yang telah membantu menemani dan mengajari saat pembedahan dan pengecekan kolesterol serta Bu Ferrida yang telah membantu dalam pembuatan ekstrak
10. Pihak Laboratorium Fisiologi. Mbak Umi yang telah membantu dalam pengecekan variable menggunakan metode ELISA
11. Pihak Laboratorium Patologi Anatomi RSSA, dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA yang telah membantu dalam pembuatan slide histo patologi
12. Teman-teman tercinta, Mas Rivo, Mbak tita dan Mas Mirza yang memberi bantuan peralatan dan bahan dalam penyelesaian penelitian ini
13. Semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu, penulis memerlukan saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga penelitian ini dapat menambah wawasan dan memberi manfaat.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Malang, 2012

Penulis

ABSTRAK

Pradana, Benny A. 2012. **Potensi Ekstrak Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap Ekspresi Sel Busa dan *Nuclear Factor Kappa B*(NF- κ B) : Pendekatan Terapi Antiinflamasi Atherosklerosis.** Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
Pembimbing : Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA

Atherosklerosis merupakan penyakit progresif yang ditandai dengan respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri. Komplikasinya antara lain adalah stroke dan penyakit jantung koroner yang bertanggungjawab atas 864.500 kematian tahun 2005 di seluruh dunia. Monaco et al, (2004) menyatakan bahwa inflamasi menjadi mekanisme terbesar penyebab atherosklerosis melalui aktivasi NF- κ B. Tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) yang merupakan tumbuhan liar yang banyak ditemukan di daerah tropis mengandung lupeol yang dapat menghambat aktivasi NF- κ B dengan menghambat fosforilasi dan degradasi dari I κ B α . Tujuan penelitian ini membuktikan pengaruh ekstrak daun tapak liman terhadap ekspresi NF- κ B dan jumlah *foam cell* per lapangan pandang pada endotel. Penelitian ini merupakan penelitian murni dengan metode *Randomized Posttest Only Controlled Group Design*. Tikus wistar sebagai hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu : kontrol positif, kontrol negatif, P1 (ekstrak tapak liman 400 mg/kgBB), P2 (ekstrak tapak liman 800 mg/kgBB), P3 (ekstrak tapak liman 1600 mg/kgBB) kemudian kontrol positif dan P1, P2, P3 diberi diet atherogenik selama 60 hari dan diberi ekstrak mulai hari ke-31 selama 30 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata – rata asupan pakan tiap kelompok adalah sama ($p>0,05$). Pemberian ekstrak tapak liman mampu menurunkan jumlah sel foam secara signifikan $p=0,000$ ($p<0,05$). Terdapat korelasi yang kuat dan signifikan antara jumlah sel foam dan variabel perlakuan yang diberikan ($p<0,01$; $R=0,906$). Pemberian ekstrak tapak liman juga dapat menurunkan kadar NF- κ B secara signifikan $p=0,001$ ($p<0,05$). Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak tapak liman mampu menurunkan pembentukan sel foam dan kadar Nf- κ B pada jaringan aorta secara *in vivo*.

Kata kunci: Atherosklerosis, sel foam, Nf- κ B, aorta, inflamasi

ABSTRACT

Pradana, Benny A. 2012. **Potensi Ekstrak Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap Ekspresi Sel Busa dan *Nuclear Factor Kappa B*(NF- κ B) : Pendekatan Terapi Antiinflamasi Atherosklerosis.** Final Assignment, Medical Study Program. Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors : Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA.

Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease caused by lipid deposition in arterial wall. Atherosclerosis complications such as stroke and coronary heart disease caused 864500 death in 2005 worldwide. Inflammation was believed as the most important mechanism that lead to atherosclerosis by activation of NF- κ B. Tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) is a wild plant that mostly found in tropical area. In addition, it has a compound, lupeol, which is able to inhibit the activation of NF- κ B by blocking the phosphorylation and degradation of I κ B α . The objective of this research was to prove the effect of tapak liman leaves extract to the expression of NF- κ B and the amount of foam cell per field in endothel by microscope. This research was an experimental laboratory research with Randomized Posttest Only Controlled Group Desing Method. Twenty five male wistar rats as animal model were divided into five groups ; negative control group (normal diet), positive control group, and three treatment groups, P1 (tapak liman leaves extract 400 mg/kg), P2 (tapak liman leaves extract 800 mg/kg), P3 (tapak liman leaves extract 1600 mg/kg). The positive control group and the treatment groups were fed by atherogenic diet during 60 days and the extracts were begun to be administered in 31st day as long as 30 days. The result showed that there was no difference in the average of diet intake among five groups ($p>0.05$). The administration of tapak liman leaves extract were able to decrease the amount of foam cell significantly $p=0,000$ ($p<0,05$). There were strong and significant correlation between the amount of foam cell and the experiment variables that were given ($p<0,01$; $R=0,906$). The administration of tapak liman leaves extract could also decrease the expression of NF- κ B significantly $p=0,001$ ($p<0,05$). Thus, it can be concluded that the administration of tapak liman leaves extract can decrease the amount of foam cell formation and Nf- κ B expression in aorta tissue in vivo.

Key words : atherosclerosis, foam cell, Nf- κ B, aorta, inflammation

DAFTAR ISI

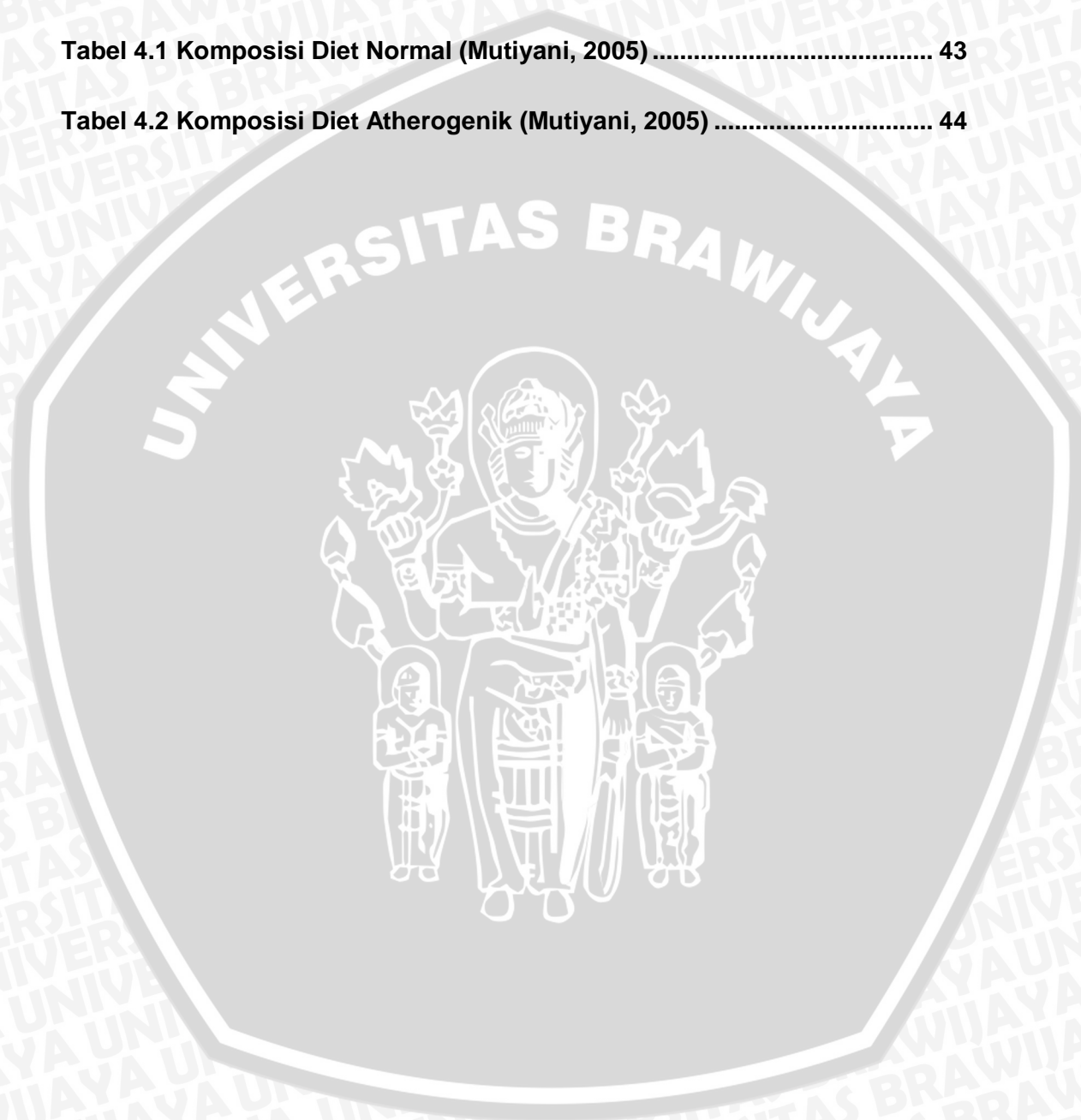
HALAMAN PENGESAHAN	vii
HALAMAN PERUNTUKAN.....	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	21
1.1 Latar Belakang Masalah.....	21
1.2 Rumusan Masalah	23
1.3 Tujuan Penelitian	23
1.4 Manfaat Penelitian	24
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	37
3.1 Kerangka Konsep	37
3.2 Hipotesis Penelitian.....	37
Tapak Liman.....	37
(<i>Elephantopus scaber</i>).....	37
BAB 4 METODE PENELITIAN	38
4.1 Rancangan Penelitian	38

4.2	Populasi dan Sampel.....	38
4.3	Variabel Penelitian.....	39
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	40
4.5	Bahan dan Alat.....	40
4.6	Definisi Operasional.....	42
4.7	Prosedur Penelitian.....	43
4.8	Pengumpulan dan Analisis Data.....	46
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....		48
BAB 6 PEMBAHASAN.....		53
BAB 7 PENUTUP.....		60
7.1	Kesimpulan.....	60
7.2	Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....		61
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....		64
LAMPIRAN.....		65



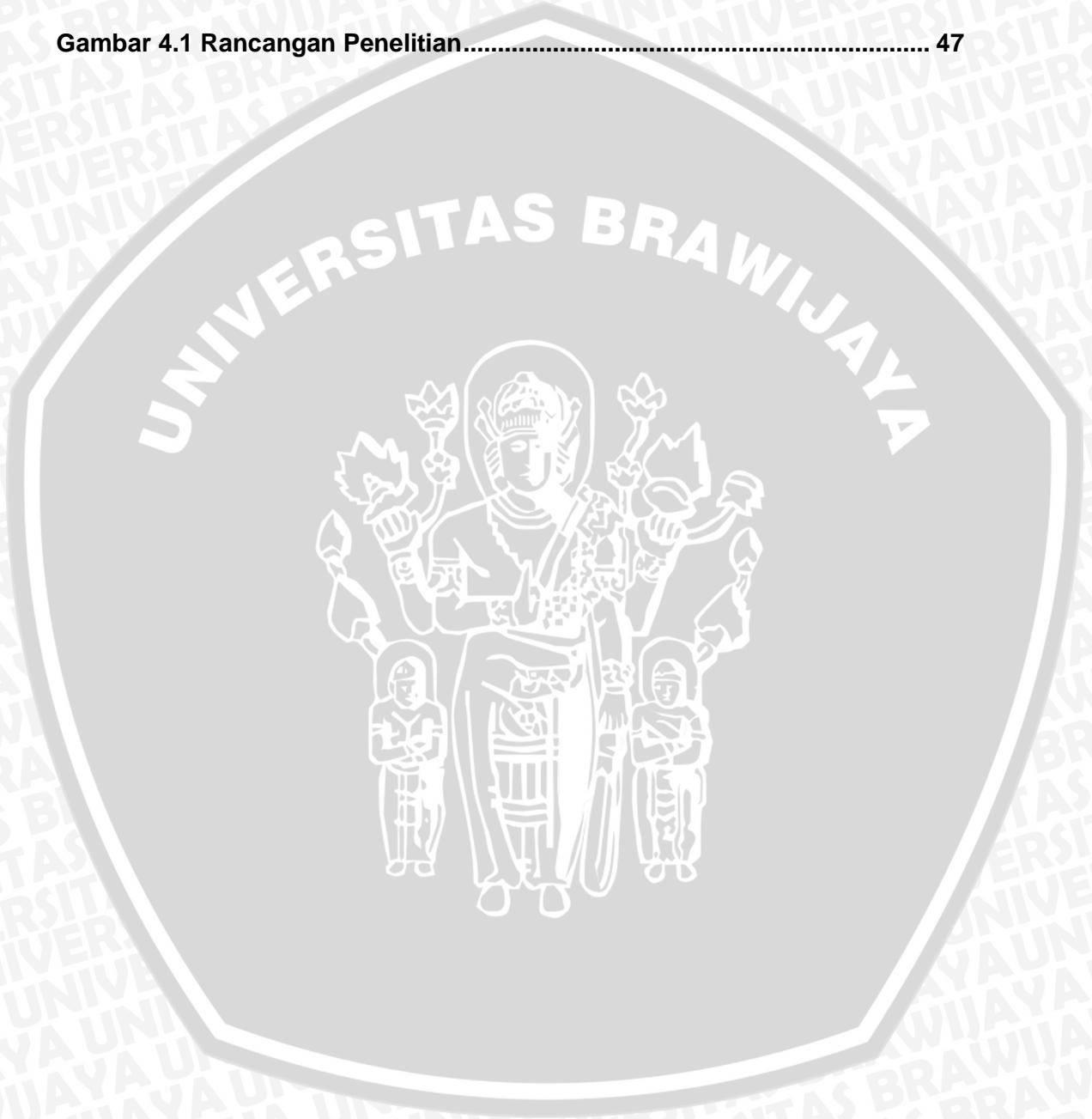
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal (Mutiyani, 2005)	43
Tabel 4.2 Komposisi Diet Atherogenik (Mutiyani, 2005)	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1 Rancangan Penelitian..... 47



DAFTAR SINGKATAN

LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
OxLDL	<i>Oxidized Low Density Lipoprotein</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
NF- κ B	<i>Nuclear Factor kappa-Beta</i>
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein – 1</i>
VCAM-1	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule – 1</i>
ICAM – 1	<i>Intracellular Adhesion Molecule – 1</i>
MCSF	<i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
IKK	<i>IκB Kinase</i>
PJK	<i>Penyakit Jantung Koroner</i>
NO	<i>Nitrit Oxide</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
LPL	<i>Lipoprotein Lipase</i>
ECM	<i>Extracellular Matrix</i>
NEMO	<i>NF-κB Essential Modifier</i>
NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
TG	<i>Triglyceride</i>
CD-36	<i>Cluster Differentiation – 36</i>
EKG	<i>Elektrokardiografi</i>
CT-Scan	<i>Computed Tomography – Scan</i>
ELISA	<i>Enzym Link Immunosorbant Assay</i>
HCl	<i>Hydrochloride</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor – α</i>

- MMP-9 *Matrix Metalloproteinase – 9*
- PAI-1 Plasminogen activating Inhibitor
- PBS Phosphate Buffered Saline



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Analisis Menggunakan SPSS 16..... 65





BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Atherosklerosis merupakan penyakit progresif yang merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri, sehingga arteri mengeras dan tidak elastis. Penyakit ini ditandai dengan adanya penebalan pada dinding arteri dan sering diiringi oleh disfungsi endotel, inflamasi vaskuler serta pembentukan lemak, kolesterol, kalsium, dan debris seluler pada tunika intima dari dinding pembuluh darah. Proses ini selanjutnya akan membentuk plak, perubahan struktur vaskuler, obstruksi luminal akut maupun kronik, abnormalitas aliran darah, dan keterbatasan suplai oksigen ke jaringan (Boudi *et.al*, 2010). Komplikasi dari atherosklerosis yang mengawatirkan dan mematikan adalah stroke dan penyakit jantung koroner (Falk *et.al*, 2006). Pada tahun 2005, penyakit kardiovaskuler bertanggungjawab atas 864.500 kematian atau 35.3% dari total kematian pada tahun tersebut di seluruh dunia. Angka tersebut termasuk 151.000 kematian akibat infark miyokard dan 143.600 kematian akibat stroke (Jones *et.al*, 2009). Bahkan saat ini Indonesia merupakan negara dengan jumlah penderita stroke terbesar di Asia (Yayasan Stroke Indonesia, 2007).

Atherosklerosis merupakan respon inflamasi kronik terhadap deposisi kolesterol pada dinding pembuluh darah arteri (Hansson, 2005). Pada penelitian yang dilakukan Claudia Monaco dan rekannya, menyatakan bahwa inflamasi merupakan proses yang menjadi mekanisme terbesar yang mengakibatkan

atherosclerosis melalui aktivasi NF- κ B (Monaco, 2004). Oksidasi LDL berperan penting dalam memicu terjadinya inflamasi dengan mengaktifkan NF- κ B. Jalur pengaktifan NF- κ B ini memicu upregulasi dari beberapa gen yang terlibat dalam permulaan dan perjalanan atherosclerosis termasuk enzim-enzim yang mengubah LDL menjadi inflammatory lipids, chemokin-chemokin (seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1)), serta molekul-molekul adhesi sel (seperti VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin) yang akan membuat monosit mampu menempel pada sel-sel endotel dan masuk ke ruang subendotel. Melalui pengaruh NF- κ B, keluarlah satu chemokin, *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF), yang membuat monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian memfagosit oxLDL dan berubah menjadi sel foam.

Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) yang merupakan tumbuhan liar yang banyak ditemukan pada lapangan rumput, pematang, dan banyak terdapat di dataran rendah sampai dengan 1.200 m di atas permukaan laut ternyata memiliki banyak manfaat di balik penampilannya yang kurang mendapat perhatian (Pujowati, 2006). Tumbuhan ini mengandung lupeol yang merupakan golongan triterpene (Lup-20(29)-en-3 β -ol) yang terbukti memiliki banyak efek farmakologi lain diantaranya antipprotozoa, antimikroba, anti inflamasi, dan antikanker (Gallo, 2009). Dan pada penelitian berikutnya zat ini juga secara in vitro mampu menghambat agregasi dari platelet sehingga dapat digunakan sebagai antitrombotik (Sankaranarayanan, 2009). Lupeol dapat menghambat aktivasi NF- κ B dengan menghambat fosforilasi dari IKK α . Penghambatan tersebut mengakibatkan IKK α tidak mengalami proses *ubiquitination* dan tidak dapat didegradasi oleh proteasome. Tanpa adanya degradasi IKK α , NF- κ B kompleks tidak dapat mengaktifkan gen spesifik yang memiliki *DNA-binding site*

untuk NF- κ B. Aktivasi gen ini oleh NF- κ B yang menyebabkan timbulnya respon inflamasi melalui transkripsi gen-gen proinflamatori (Salminen et al, 2008)

Berdasarkan penjelasan di atas maka perlu penyelidikan lebih lanjut bagaimanakah peran lupeol dalam daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) khususnya perannya sebagai zat antiinflamasi dalam upaya pencegahan atherosklerosis.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

- 1.2.1 Apakah ekstrak kasar daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) dapat menurunkan ekspresi NF- κ B?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh ekstrak kasar daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap jumlah *foam cell* per lapangan pandang pada endotel?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Umum

Membuktikan efektivitas ekstrak kasar daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) dalam mencegah perkembangan atherosklerosis.

1.3.2 Khusus

1.3.2.1 Membuktikan pengaruh ekstrak kasar daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap ekspresi NF- κ β .

1.3.2.2 Membuktikan pengaruh ekstrak kasar daun tapak liman (*Elephantopus scaber L.*) terhadap jumlah sel busa per lapangan pandang pada endotel.

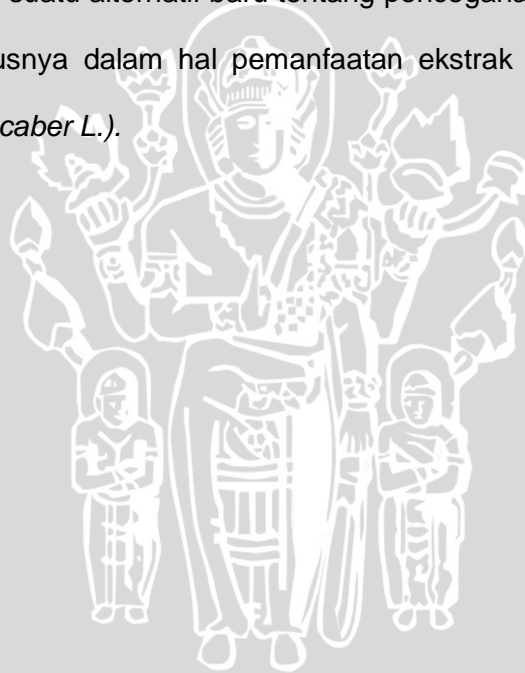
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan sekaligus sebagai dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya dalam bidang kesehatan, khususnya dalam hal pencegahan dan pengobatan atherosklerosis menggunakan ekstrak kasar bahan alam.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dunia farmakologi herbal dalam pengembangan suatu alternatif baru tentang pencegahan dan pengobatan atherosklerosis, khususnya dalam hal pemanfaatan ekstrak kasar daun tapak liman (*Elepanthopus scaber L.*).



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Atherosklerosis

2.1.1 Definisi Atherosklerosis

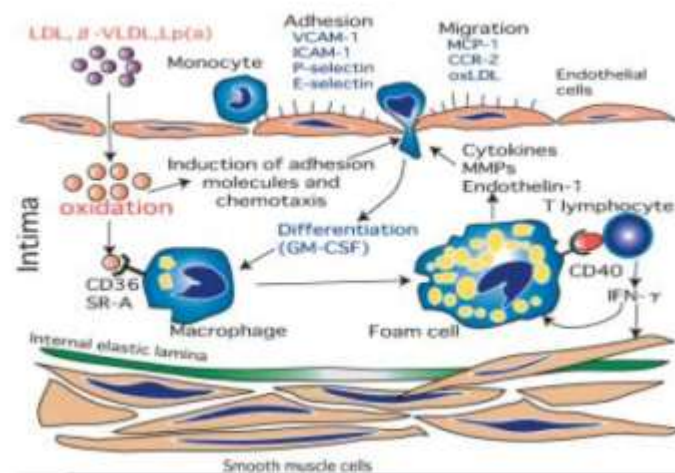
Atherosklerosis adalah penyakit progresif yang merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri, sehingga arteri mengeras dan tidak elastis. Konsep yang diterima sekarang adalah bahwa bentuk spesifik dari proses inflamasi kronik atherosklerosis merupakan hasil dari interaksi antara lipoprotein-lipoprotein plasma, komponen-komponen intraseluler (monosit/makrofag, limfosit T, sel-sel endotel dan sel-sel otot) dan matriks ekstraseluler dari dinding arteri (Watanabe, 2002). Hasil akhir dari inflamasi ini adalah terbentuknya plak atherosklerosis dalam tunika intima arteri (Hansson, 2005). Plak atherosklerosis terdiri dari dua bagian, lipid core yaitu bagian tengah yang halus, kuning, berisi lemak terutama kolesterol, debris sel dan bagian fibrous cap yang terdiri dari sel otot polos, makrofag, sel foam, serat kolagen, elastin, proteoglikan, dan juga neovaskularisasi. Akumulasi plak ini perlahan akan terus menebal dan pada akhirnya akan menyumbat arteri (Robbins, 2003). Atherosklerosis mulai terjadi pada awal masa kehidupan, semakin progresif dan asimtomatis hingga dewasa. Penyakit ini bersifat multifaktorial. Selanjutnya manifestasi klinis muncul dalam bentuk penyakit jantung iskemik, jantung coroner, infark miokardium, stroke, dilatasi aneurismal, gangren, dan penyakit arteri perifer lainnya. Faktor hemodinamika, struktur, dan juga sifat metabolik

pembuluh darah berperan penting pada kecenderungan perkembangan lesi (Juan, 2002).

2.1.2 Epidemiologi Atherosklerosis

Atherosklerosis masih menjadi penyebab penyakit jantung koroner (PJK) yang merupakan pembunuh nomor satu di dunia. Data di Indonesia, PJK tetap menjadi pembunuh nomor satu dan jumlah kejadiannya terus meningkat dari tahun ke tahun. Data statistik menunjukkan bahwa pada tahun 1992 persentase penderita PJK di Indonesia adalah 16,5% dan pada tahun 2000 melonjak menjadi 26,4%. Pada tahun 2015, menurut Colin Mathers, salah satu anggota proyek penelitian WHO dalam *Public Library of Science Medicine* (PLoS Medicine), penyakit yang menjadi pembunuh nomor satu di dunia adalah penyakit yang disebabkan rokok dan berperan atas 10% kematian di seluruh dunia, dan merokok merupakan salah satu resiko terjadinya aterosklerosis, sehingga meningkat pula prevalensi terjadinya PJK (Annisa, 2010).

2.1.3 Patogenesis Atherosklerosis



Gambar 2.1. Diagram Skematik Pathogenesis Atherosclerosis (Jianglin, 2002)

Seperti ditunjukkan pada gambar 1, patogenesis atherosklerosis secara umum dibagi menjadi empat komponen, yang meliputi disfungsi endotel, oksidasi LDL (OxLDL), respon imun, dan proliferasi sel otot polos (Jianglin, 2002).

2.1.3.1 Disfungsi Endotel

Dalam dua dekade terakhir, endotel vaskuler telah dibuktikan sebagai organ aktif parakrin, endokrin dan autokrin yang sangat dibutuhkan untuk regulasi tonus dan pertahanan homeostasis vaskuler. Selain itu, studi terhadap mekanisme dasar terjadinya atherogenesis menunjukkan perubahan fisiologis endotel (disfungsi endotel) merupakan langkah awal dalam perkembangan atherosklerosis serta terlibat dalam progresifitas plak dan terjadinya komplikasi atherosklerosis (Bonetti, 2003).

Disfungsi endotel ditandai dengan penurunan bioavailabilitas vasodilator, terutama *nitric oxide* (NO), sedangkan *endothelium-derived contracting factor* meningkat. Ketidakseimbangan ini menyebabkan gangguan vasodilatasi *endothelium-dependent*, yang merupakan karakteristik fungsional dari disfungsi endotel. Selain itu, disfungsi endotel juga terdiri dari fase aktivasi endotel. Aktivasi ini meliputi lingkungan proinflamasi, proliferasi, dan prokoagulasi yang mendukung semua fase atherosklerosis (Bonetti, 2003).

Penyebab disfungsi endotel antara lain, sitokin, produk bakteri, stres hemodinamik, produk lipid, dan injuri lainnya (Robbins, 2003). Salah satu penyebab yang terlibat dalam patogenesis disfungsi endotel, inisiasi, dan progresifitas atherosclerosis adalah stress oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan kemampuan biologis tubuh untuk mendetoksifikasi

molekul reaktif tersebut maupun memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh banyaknya jumlah ROS (Göran, 1999).

2.1.3.2 Oksidasi LDL

Proses lain yang terlibat dalam pathogenesis atherosklerosis adalah oksidasi LDL. Proses oksidasi LDL terjadi di dalam subendotelial arteri, dimana terdapat proteoglikan dan matriks ekstraselular lain yang berfungsi meretensi LDL dan melindungi LDL dari plasma antioksidan. Mekanisme oksidasi LDL diperantarai oleh enzim-enzim *NADPH oxidase*, *myeloperoxidase*, *cytochrome P450*, *mitochondrial electron transport chain*, *peroxynitrite*, *xanthine oxidase*, *caeruloplasmin*, *lipoxygenase*, ROS yang dihasilkan oleh makrofag, sel otot polos, dan sel endotel di dalam lesi atherosclerosis (Curtiss, 2009).

Proses oksidasi LDL adalah sebagai berikut. LDL dalam plasma berasal dari *very-Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang diproduksi dalam hati. VLDL diubah menjadi LDL melalui enzim lipoprotein lipase (LPL), suatu enzim yang menghidrolisasi trigliserida pada VLDL, melepaskan dari partikel VLDL dan melepaskan asam lemak bebas. Pelepasan trigliserida dari VLDL oleh LPL meninggalkan kolesterol yang tinggi, meningkatkan densitas partikel tersebut sehingga menjadi LDL. LDL dalam plasma ini akan menembus endotel dan terjebak dalam *extracellular matrix* (ECM) dari rongga subendotel. Dalam rongga tersebut, LDL mengalami modifikasi oksidatif melalui perantara yang telah disebutkan sehingga memproduksi ox-LDL. (Vogiatzi, 2009)

2.1.3.3 Respon Imun terhadap Atherosklerosis

LDL yang teroksidasi secara potensial akan mengaktifkan NF- κ B, yaitu suatu protein kompleks yang berperan dalam pengendalian transkripsi DNA, yang pada ujungnya akan memicu terjadinya inflamasi dan berakhir pada

pembentukan plak. Pengaktifan NF- κ B melibatkan kompleks I κ B kinase (IKK). Kompleks ini terdiri dari sebuah subunit regulator (IKK γ), juga dikenal sebagai NF- κ B essential modifier (NEMO) dan dua subunit-subunit yang sama (IKK α dan IKK β). Kompleks IKK diaktifkan oleh fosforilasi dari IKK β , yang selanjutnya menyebabkan I κ B α terfosforilasi. I κ B α yang terfosforilasi di degradasi oleh proteasome pathway, dan menghasilkan NF- κ B bebas (seperti p50/p65 dimer) yang selanjutnya bertranslokasi ke inti sel untuk meregulasi ekspresi hamper 400 gen-gen yang berbeda (Monaco, 2004).

Jalur pengaktifan NF- κ B ini memicu upregulasi dari beberapa gen yang terlibat dalam permulaan dan perjalanan atherosclerosis termasuk enzim-enzim yang mengubah LDL menjadi *inflammatory lipids*, chemokin-chemokin (seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1)), serta molekul-molekul adhesi sel (seperti VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin) yang akan membuat monosit mampu menempel pada sel-sel endotel dan masuk ke ruang subendotel (Juan, 2002). Melalui pengaruh NF- κ B, keluarlah satu chemokin, *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF), yang membuat monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian memfagosit oxLDL dan berubah menjadi sel foam (Shworak, 2010).

2.1.4 Patologi Aterosklerosis

2.1.4.1 *Adaptive Intimal Thickening* dan *Intimal Xanthomas*

Lesi awal terdiri dari 2 lesi intima nonaterosklerosis merujuk pada penebalan intima adaptif dan *intimal xanthoma*. *Intimal xanthoma* merupakan sebuah lesi yang kaya akan sel busa tanpa adanya *lipid pool* ekstraselular. Penebalan intima adaptif telah ada sejak bayi dan berkembang pada area

dengan *shear stress* yang rendah. Lesi ini terdiri dari sel-sel otot polos di dalam matriks proteoglikan (Kolodgie, 2010).

Monosit beradesi pada permukaan endotel dan berpindah ke dalam intima terjadi pada awal perkembangan plak aterosklerosis. Adesi awal meningkatkan ekspresi selektin yang memfasilitasi monosit dalam sirkulasi diikuti dengan pengikatan kuat oleh integrin endotel. Lipoprotein yang termodifikasi mengalami akumulasi dalam intima dengan adanya induksi oleh lipoksigenase, mieeloperoksidase dan NADPH oksidase (Kolodgie, 2010).

2.1.4.2 Penebalan Intima Patologis

Penebalan intima patologis (PIP) adalah suatu bentuk awal dari plak yang akan berkembang menjadi progresif. Lesi ini terdiri atas sel otot polos, matriks yang kaya akan proteoglikan dan kolagen tipe 3. PIP dan *intimal xanthoma* terjadi secara simultan dan merupakan lesi yang tak terpisahkan. Pada stadium ini sejumlah T-limfosit telah ada, tetapi inti nekrotik belum terbentuk. Akumulasi lipid pada area-area fokal (lipid *pools*) terjadi salah satunya karena sisa apoptosis sel otot polos (Kolodgie, 2010).

2.1.4.3 Fibroateroma

Fibroateroma adalah lesi pertama yang termasuk lesi stadium lanjut pada aterosklerosis. Stadium ini memiliki karakteristik adanya inti nekrotik kaya lipid dilapisi oleh jaringan fibrosa yang mengandung banyak kolagen. Fibroateroma dapat menyebabkan penyempitan lumen yang signifikan dan beresiko untuk terjadinya komplikasi berupa kerusakan pada permukaan plak, trombosis dan kalsifikasi. *Fibrous cap* terdiri dari kolagen, otot polos, proteoglikan dengan derajat inflamasi yang bervariasi (Kolodgie, 2010).

2.1.4.4 *Thin cap Fibroatheroma* dan Rupture Plak

Thin cap fibroatheroma merupakan lesi prekursor terhadap terjadinya ruptur plak. Lesi ini memiliki karakteristik banyaknya infiltrasi makrofag dan limfosit yang dilapisi oleh selaput tipis *fibrous cap*. Adanya penipisan atau pelemahan dari *fibrous cap* dapat membuat terjadinya kerusakan pada *fibrous cap*. *Fibrous cap* yang semakin menipis akan menyebabkan terjadinya fisura dan ruptur. Beberapa penyebab rupturnya plak diantaranya enzim matrik proteinase, area dengan tekanan yang tinggi, kalsifikasi makrofag, dan deposisi fe (Kolodgie, 2010).

2.1.4.5 Ekspansi Inti Nekrosis

Ekspansi inti nekrosis merupakan salah satu proses patologis yang berkontribusi terhadap lemahnya plak aterosklerosis. Proses ini terjadi akibat tidak efektifnya mekanisme pembersihan sisa-sisa makrofag yang telah mati. Peningkatan jumlah makrofag yang mengalami kematian berkaitan dengan jalur *endoplasmic reticulum stress* atau *unfolded* protein respon. Hal inilah yang menyebabkan inti nekrosis semakin meluas dan meningkatkan resiko ruptur (Kolodgie, 2010).

2.1.4.6 Pendarahan Intraplak

Pendarah intraplak merupakan faktor yang berkontribusi pada perluasan inti nekrosis. Hal ini disebabkan karena sel darah merah kaya akan sumber kolesterol bebas yang menjadi komponen penting pada rupturnya plak (Kolodgie, 2010).

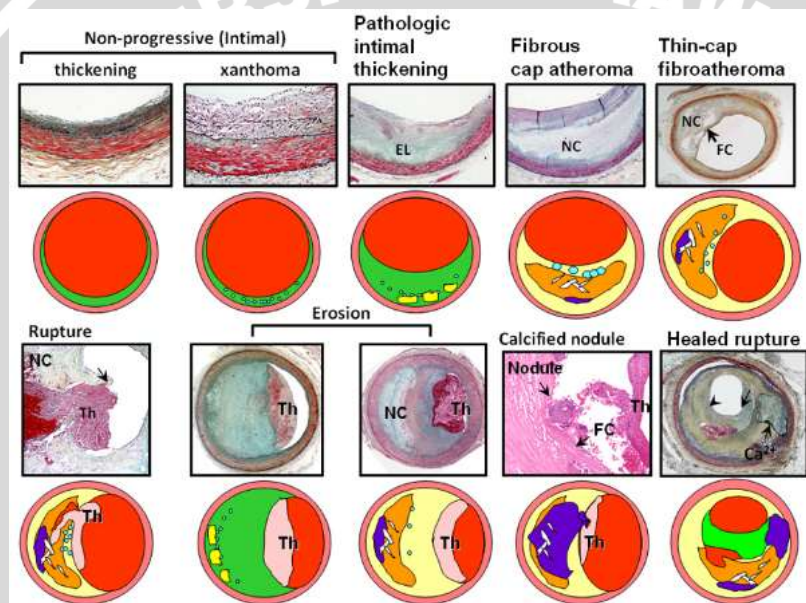
2.1.4.7 Healed Plaque Rupture

Progresi plak pada aterosklerosis terjadi karena ruptur yang berulang memiliki presentase 40-50%. Secara morfologis ditandai dengan *fibrous cap*

yang pecah dengan adanya reaksi perbaikan tersusun atas proteoglikan dan kolagen (Kolodgie, 2010).

2.1.4.8 Erosi

Trombus dapat terjadi sebagai hasil dari 3 proses yang berbeda, yaitu ruptur plak, erosi plak dan kalsifikasi nodul. Erosi plak memiliki karakteristik hilangnya endotel pada tempat erosi, sehingga menyebabkan intima terbuka (Kolodgie, 2010).



Gambar 2.2 Gambaran Patologi Aterosklerosis (Kolodgie, 2010)

2.1.5 Manifestasi Klinis

Atherosklerosis mempersempit arteri dan mengurangi aliran darah untuk jaringan dan organ tubuh, sehingga menyebabkan beberapa gejala. Gejala ini bervariasi intensitasnya pada tiap orang yang mengalaminya. Aterosklerosis ringan pada umumnya tidak menyebabkan gejala. Akan tetapi, gejala pada aterosklerosis sedang dan berat bergantung pada arteri yang mengalaminya.

Beberapa gejala yang biasa terjadi pada aterosklerosis berhubungan dengan gangguan arteri jantung, otak, dan ekstremitas. Gejala yang terkait pada



gangguan arteri pada jantung meliputi nyeri dada dan kesulitan bernafas atau nafas cepat. Gejala yang terkait arteri pada otak meliputi rasa berat pada otot-otot wajah, gangguan bicara, dan mati rasa mendadak pada lengan dan kaki. Terakhir, gejala yang terkait pada gangguan arteri ekstremitas meliputi nyeri pada kaki dan lengan (Klasco, 2011).

2.1.6 Metode Diagnosis

Metode diagnosis yang digunakan pada penderita aterosklerosis meliputi dua hal, yaitu pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang. Pada pemeriksaan fisik, suara bising jantung dapat ditemukan pada penderita aterosklerosis. Suara bising tersebut dapat ditemukan pada saat auskultasi daerah arteri yang mengalami atherosklerosis. Suara ini dapat mengindikasikan sedikitnya aliran darah oleh karena pembentukan plak. Absen atau kecilnya nadi juga dapat ditemukan pada pemeriksaan fisik. Hal ini bisa merupakan tanda arteri tersebut terhalangi alirannya. Tentu, pemeriksaan fisik ini perlu didukung dengan hasil anamnesis dan pemeriksaan penunjang (NHLBI, 2011).

Pemeriksaan penunjang pada penderita aterosklerosis meliputi pemeriksaan darah, elektrokardiogram (EKG), dan radiologi. Pemeriksaan darah dilakukan untuk melihat kandungan lemak, kolesterol, gula, dan protein yang abnormal pada aterosklerosis. Pemeriksaan EKG dapat menunjukkan detak dan irama jantung, serta melihat kekuatan dan periode sinyal elektrik yang terdapat pada jantung. Foto thorax, ekokardiografi, *Computed Tomography Scan* (CT-scan), atau angiografi merupakan pemeriksaan radiologis yang dapat dilakukan untuk melihat kondisi pembuluh darah pada tubuh (NHLBI, 2011).

2.1.7 Penatalaksanaan Aterosklerosis

Penatalaksanaan aterosklerosis dibagi menjadi dua macam, yaitu terapi medis dan terapi bedah. Terapi medis aterosklerosis meliputi obat-obat yang memiliki efek antiplatelet, seperti aspirin dan clopidogrel. Obat ini efektif menghadapi aterosklerosis karena mencegah pembentukan bekuan darah. Terapi bedah aterosklerosis dilakukan untuk mencegah terjadinya komplikasi aterosklerosis. Terapi bedah ini meliputi pembenahan aneurisma aorta abdominalis, angioplasti dan *stent placement*, pembedahan arteri karotis, pembedahan *coronary artery bypass*, dan pembedahan jantung invasif minimalis (Klasco, 2011).

Penatalaksanaan aterosklerosis dapat didukung dengan perubahan gaya hidup dari penderita. Perubahan tersebut di antaranya adalah menambah ikan sebagai diet minimal dua kali seminggu, konsumsi berbagai buah dan sayur setiap hari, diet makananimbang gizi yang rendah lemak dan kolesterol. Selain itu, ada pula perubahan gaya hidup lain melalui olahraga teratur, membatasi konsumsi alkohol, dan menjaga berat ideal tubuh dan tekanan darah di bawah 140/90 mmHg (Klasco, 2011).

2.2 Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.)

Tapak Liman merupakan tanaman gulma yang berasal dari benua Amerika yang beriklim tropis, yang kini banyak ditemukan di benua Asia. Bentuknya menyerupai rumput-rumputan dan tumbuh sepanjang tahun. Bunganya berwarna merah-ungu, terbagi menjadi lima bagian dan mulai muncul sekitar bulan April sampai Oktober. Bunganya mekar antara Jam 13-14 siang, dimana bunganya siap untuk dibuahi oleh serangga, dan sekitar jam 16 bunga

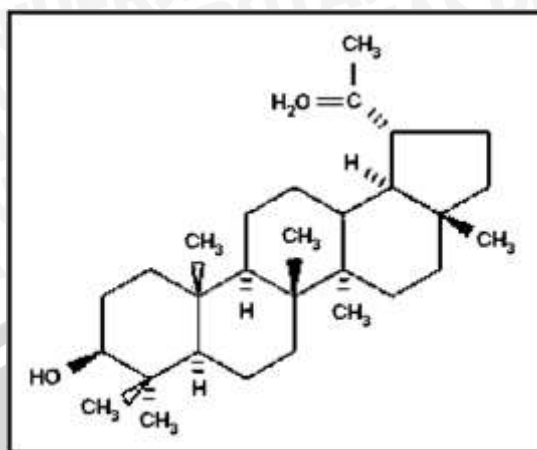
telah tertutup kembali. Bunganya berwarna ungu dan tumbuh dari jantung daun (Penny, 2006). Berikut adalah klasifikasi dari tapak liman.

Gambar 2.3 *Elephantopus scaber* L.

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Asteridae</i>
Order	: <i>Asterales</i>
Family	: <i>Asteraceae</i>
Genus	: <i>Elephantopus</i> L.
Spesies	: <i>Elephantopus scaber</i> L. (Plants, 2012)

Tanaman tapak liman (*Elephantopus scaber* L) mengandung flavonoid luteolin-7-glukosida. Disamping itu, tanaman tapak liman juga mengandung elephantopin, deoxyelephantopin, isodeoxyelepanthopin, 11, 13 dihydrodeoxyelepanthopin, elephantin, epifridelinol, stigmasterol, triacontan-1-ol, dotriacontan-1-ol, lupeol, lupeol acetat (Penny, 2006).

2.3 Lupeol



LUPEOL [Lup-20(29)-en-3β-ol]

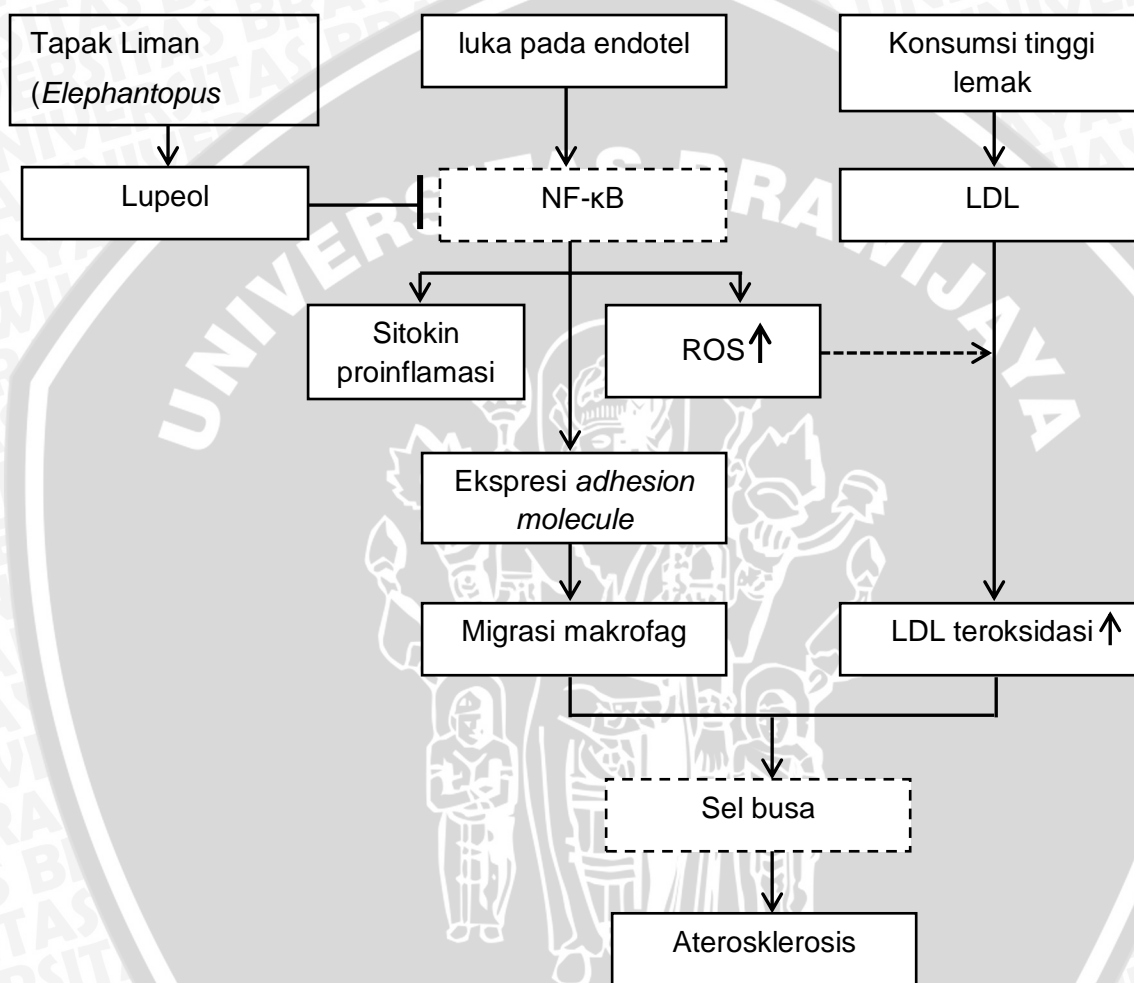
Gambar 2.4 Struktur Lupeol (Saleem, 2004)

Lupeol adalah *triterpenoid* yang ditemukan pada buah-buahan seperti *olive*, mangga, stroberi, anggur, sayur-sayuran, dan beberapa tumbuhan lain seperti tapak liman. Zat ini digunakan dalam pengobatan berberapa macam penyakit. Zat ini memiliki kemampuan anti-inflamasi yang kuat, anti-artritik, anti-mutagenik, dan anti malaria saat diuji baik dalam sistem *in vitro* maupun *in vivo* (Khan, 2010). Lupeol dapat menghambat aktivasi NF-κB dengan menghambat fosforilasi dari IκKα. Penghambatan tersebut mengakibatkan IκKα tidak mengalami proses *ubiquitination* dan tidak dapat didegradasi oleh proteasome. Tanpa adanya degradasi IκKα, NF-κB kompleks tidak dapat mengaktifkan gen spesifik yang memiliki *DNA-binding site* untuk NF-κB. Aktivasi gen ini oleh NF-κB yang menyebabkan timbulnya respon inflamasi melalui transkripsi gen-gen proinflamatori (Salminen et al, 2008).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



--- : variabel yang diukur

— : variabel yang tidak diukur

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- 3.2.1 Pemberian ekstrak daun tapak liman mampu menurunkan ekspresi sel busa pada model tikus wistar yang diberikan diet atherogenik
- 3.2.2 Pemberian ekstrak daun tapak liman mampu menurunkan ekspresi NF-κB pada model tikus wistar yang diberikan diet atherogenik.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* dengan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design* pada hewan model tikus wistar (*Rattus novergicus* strain wistar). Tikus wistar dipilih sebagai hewan model karena rentan mengalami atherosklerosis.

4.2 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian adalah model tikus *Rattus novergicus* strain wistar jantan usia 6 – 8 minggu dengan berat 120 – 160 gram. Tikus wistar dipilih sebagai hewan coba karena merupakan hewan coba yang rentan terhadap atherosklerosis. Jenis kelamin yang dipilih adalah jantan karena tidak ada pengaruh dari factor hormonal seperti pada tikus betina. Tikus yang dipilih masuk ke dalam kriteria inklusi sebagai berikut :

- a. Hewan coba yang digunakan tikus putih *Rattus novergicus* strain wistar jantan
- b. Usia 6 – 8 minggu
- c. Berat 120 – 160 gram
- d. Bulu putih dan bersih
- e. Dalam kondisi sehat dan aktif

Kriteria eksklusi adalah sebagai berikut :

- a. Tikus yang sakit dan asupan makanan kurang pada saat penelitian

b. Tikus yang mati pada saat penelitian berlangsung

Dalam penelitian ini, terdapat tiga kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol, yaitu : kelompok A (Kontrol negatif), kelompok B (Kontrol positif), kelompok C (Dosis I), kelompok D (Dosis II), dan kelompok E (Dosis III). Total kelompok yang dibutuhkan adalah lima kelompok. Perhitungan besarnya pengulangan sampel pada setiap kelompok adalah sebagai berikut (Indra, 1999)

:

$$n(p - 1) \geq 15$$

p : jumlah perlakuan (lima (5) : kelompok A,B,C,D,E)

n : jumlah ulangan

$$n(5 - 1) \geq 15$$

$$4n \geq 15$$

$$n \geq 3,75$$

Diperoleh hasil perhitungan 3,75 sehingga dibulatkan ke atas menjadi 4 pengulangan. Hewan coba yang dibutuhkan adalah 4 ekor untuk setiap kelompok atau secara keseluruhan dibutuhkan 20 ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas dalam penelitian ini adalah vaksin atherosklerosis dengan menggunakan bahan yang dibagi dalam kelompok :

- Kelompok A : merupakan kontrol negatif yang diberikan diet normal dan tanpa diinjeksi vaksin
- Kelompok B : merupakan kelompok kontrol positif yang diberikan diet atherogenik dan tanpa diinjeksi vaksin.
- Kelompok C : merupakan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tapak liman dengan dosis 200 mg/kgbb secara peroral

- Kelompok D : merupakan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tapak liman dengan dosis 400 mg/kgbb secara peroral
- Kelompok E : merupakan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tapak liman dengan dosis 800 mg/kgbb secara peroral

4.3.2 Variabel tergantung terdiri dari ekspresi NF- κ B, jumlah sel busa pada subendotel aorta, dan berat *Abdominal Visceral Fat*.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, yaitu : Laboratorium Biokimia Biomolekuler untuk tempat pemeliharaan hewan coba dan pembedahan, Laboratorium Biomedik untuk pengecatan sel busa, Laboratorium Fisiologi untuk pengukuran ekspresi NF- κ B pada serum darah tikus dan Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Dokter Saiful Anwar Malang untuk tempat pembuatan slide sel busa. Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan, Februari – Mei 2011.

4.5 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

a. Perawatan Hewan Coba

Alat yang digunakan adalah : kandang berupa baskom dengan ukuran 20x30 cm dengan penutup kandang berupa jaring – jaring kawat sebanyak 30 buah, botol minum tikus 30 buah, timbangan analitik, handscun, dan pembersih kandang. Bahan yang digunakan berupa sekam dan air minum untuk tikus.

b. Pembuatan Ransum Makanan Diet Normal

Alat yang digunakan adalah : timbangan, neraca analitik, baskom, pengaduk, penggiling pakan, dan nampan. Bahan untuk diet normal adalah : susu-PAP 64 %, terigu 35 %, dan air 1 % (Hrotkiewick K, 2007).

c. Pembuatan Ransum Makanan Diet Atherogenik

Alat yang digunakan adalah : timbangan, neraca analitik, baskom, pengaduk, gelas ukur, penggiling pakan, dan nampan. Bahan diet atherogenik adalah : susu-PAP dan terigu 75 %, minyak babi 8,05 %, minyak kambing 10 %, minyak kelapa 1 %, asam cholat 0,125 %, kuning telur bebek 5 %, dan air 0,825 % (Hrotkiewick K, 2007).

d. Pembuatan Ekstrak Tapak liman

Alat yang digunakan adalah :Oven,timbangan, gelas erlenmeyer, corong gelas, kertas saring,labu evaporator, pendingin spiral/rotary evaporator, labu penampung etanol, evaporator, setal water pump, water pump, water bath,vacum pump Bahan yang digunakan adalah: daun tapak liman, etanol 96%, aquades, botol hasil ekstrak.

e. Pembedahan Mencit

Alat yang digunakan adalah : gunting bedah 2, pinset 2, jarum pentul 2 set, steroform 2, penggaris, kertas label, termos es, kapas, wadah plastik + tutup 25 buah, spuit insulin 1 ml 30 buah, dan vacuotainer 25 buah. Bahan yang digunakan adalah : kloroform 20 ml, formalin 10 % 200 ml, alkohol, dan es untuk menyimpan sampel.

f. Pemeriksaan NF- κ B dengan ELISA

Alat yang digunakan adalah: multichannel pipet, blue tip, yellow tip, white tip, mikropipet, vortex, tube, sentrifuge, ELISA reader. Bahan yang digunakan

adalah serum darah tikus, PBS, BSA 1%, tween, Surblu TMB, antibodi NF- κ B, Antibodi sekunder, coating buffer, dan HCL 1 N

g. Pengecekan Sel Busa

Alat yang digunakan adalah: preparat, *object glass*, *cover glass*, mikropipet, kertas tissue, gelas beker, dan mikroskop dengan pembesaran 400x. Bahan yang digunakan adalah : 85 % propylene glycosolution, 100 % propylene glycosolution, 0,5 % oil red O solution, 10 % formalin, Meyer's hematoxylin solution, glycerin jelly, PBS, H₂O₂, dan aquades.

h. Penimbangan *Abdominal Visceral Fat*

Alat yang digunakan berupa timbangan analitik, pinset, dan alumunium foil.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional yang digunakan adalah :

- a. Tikus wistar : merupakan hewan coba dengan jenis *Rattus norvegicus* strain wistar berjenis kelamin jantan. Tikus wistar dibeli dari peternak tikus local di Kota Malang. Tikus berusia 6 – 8 minggu dengan berat 160 – 180 gram
- b. Diet atherogenik : pemberian diet atherogenik dimaksudkan untuk menginduksi pembentukan plak atherosklerosis pada subendotel aorta tikus
- c. Diet normal : merupakan diet/pakan biasa tanpa tambahan bahan atherogenik
- d. Sel Busa : merupakan sel yang terdapat di dalam plak atheroma. Pengecekan dilakukan dengan pengambilan sampel yang berasal dari pembuluh darah aorta tikus dan dilakukan pembuatan slide histoPA dan pengecatan menggunakan oil red O
- e. NF- κ B: merupakan faktor transkripsi yang diekspresikan oleh sel akibat induksi melalui mekanisme tertentu, salah satunya melalui luka endotel.

- f. *Abdominal visceral fat* : merupakan lemak perut tikus yang berada baik di intraperitoneum maupun retroperitoneum.

4.7 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang digunakan adalah :

a. Perawatan Hewan Coba

Tikus wistar sebanyak 30 ekor dirawat dalam kandang masing – masing satu tikus satu kandang. Makan dan minum diberikan satu kali sehari. Sekam diganti satu minggu sekali dan tikus ditimbang setiap minggunya.

b. Pembuatan Diet Normal

Diet normal merupakan diet yang diberikan untuk kelompok D (kontrol negatif). Diet normal merupakan asupan normal tikus dan tidak menimbulkan efek atherogenik. Diet normal dibuat dengan mencampur bahan – bahan dengan komposisi sebagai berikut :

Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal (Mutiyani, 2005)

PAR-S	Tepung terigu	Air
25,6 gram	14 gram	0,4 gram
Total diet normal = 40 gram/tikus/hari		

Semua bahan di atas dicampur di dalam baskom. Setelah itu, ditimbang dan dibulatkan dengan berat 40 gram untuk satu tikus. Makanan diberikan 40 gram/tikus tiap harinya. Diet diberikan selama 50 hari. Sisa makanan hari sebelumnya juga ditimbang tiap harinya untuk mengetahui rerata asupan makanan setiap tikus.

c. Pembuatan Diet Atherogenik

Diet atherogenik merupakan diet yang diberikan kepada kelompok perlakuan A, B, C dan kelompok E (kontrol positif). Diet diberikan dengan komposisi sebagai berikut :

Tabel 4.2 Komposisi Diet Atherogenik (Mutiyani, 2005)

PAR-S + Tepung Terigu	Asam Cholat	Minyak babi	Minyak Kambing	Minyak Kelapa	Kuning Telur	Air
30 gr	0,05 gr	3,22 ml	4 ml	0,4 ml	2 gr	0.33 gr
Total diet atherogenik = 40 gram/tikus/hari						

Bahan – bahan di atas dicampur di dalam baskom. Bahan ditimbang dengan timbangan digital dan dibulatkan dengan berat masing – masing 40 gram. Diet diberikan seberat 40 gram untuk setiap tikus. Diet diberikan selama 60 hari dan sisa pakan ditimbang setiap harinya (Hrotkiewick K, 2007). Penambahan bahan penambah rasa seperti makanan ringan juga diberikan jika asupan makanan berkurang.

d. Pemberian Ekstrak Tapak Liman

Ekstrak tapak liman diberikan pada mencit secara peroral menggunakan *orogastric tube*. Pemberian ekstrak tapak liman dimulai pada hari ke-31 setelah induksi aterosklerosis menggunakan diet atherogenik dan dilakukan setiap hari selama 30 hari.

e. Pembedahan Tikus

Setelah pemberian diet selama 60 hari dan pemberian ekstrak tapak liman setiap hari selama 30 hari seperti yang sudah dijelaskan di atas, dilakukan pembedahan tikus untuk pengambilan darah, pembuluh darah aorta, organ – organ, dan *abdominal visceral fat*. Sebelum dibedah, diperlukan pengecekan

kadar kolesterol total tikus kontrol positif dan negatif. Jika terdapat perbedaan yang signifikan antarkelompok tersebut, maka tikus siap dibedah (Wijaya, *et al.*, 2010). Pembedahan diawali dengan pemberian anestesi per inhalasi dengan kloroform dalam wadah tertutup. Setelah tikus tidak sadar, tikus difiksasi dengan jarum di atas papan. Pembedahan dilakukan dengan membuka dinding abdomen dan thorax. Pertama, darah diambil dengan spuit 3 cc melalui jantung. Aorta dipotong mulai dari arcus aorta, aorta thoracalis, dan aorta abdominalis. Selanjutnya aorta disimpan dalam gelas plastik pada suhu 4°C. Organ lain seperti ginjal dan hepar juga diambil dan disimpan dalam formalin 10%. *Abdominal visceral fat* diambil dari lemak intraperitoneal dan retroperitoneal.

f. Pembuatan Slide Sel Busa

Pengamatan dan penghitungan terhadap sel busa dilakukan dengan membuat preparat. Slide aorta dibuat dengan metode *frozen section/fries coupe*. Aorta dibekukan dalam mesin *fries coupe* pada suhu -20°C. Setelah jaringan membeku, dipotong setebal 3-5µm. Kemudian ditempelkan pada slide glass dan difiksasi dengan aseton selama 2-3 menit. Setelah fiksasi selesai, slide glass dimasukkan dalam kotak es pada suhu 4°C.

Pengecatan preparat diawali dengan menfiksasi *slide glass* dengan formalin 10% dan didiamkan selama 7 menit. Kemudian slide glass dicuci dengan aquades selama 3 menit dengan dua kali pengulangan. Ditambahkan propylene glycol 100% selama 5 menit dengan dua kali pengulangan, setiap selesai masing-masing pengulangan slide glass dibersihkan (seka) dengan menggunakan tissue. Setelah itu, ditambahkan oil red O dan didiamkan 7 menit dengan dua kali pengulangan. Kemudian cuci dengan propylene glycol 85% selama 3 menit. Selanjutnya cuci dengan aquades selama 3 menit dengan dua

kali pengulangan, setiap selesai masing-masing pengulangan dibersihkan dan diseka (tanpa mengenai preparat) dengan tissue. Dilakukan counterstaining dengan Meyer's Hematoxilen dan didiamkan selama 10 menit. Cuci dengan aquades selama tiga menit, kemudian dikeringkan dan diangin-anginkan \pm 5-10 menit. Mounting dengan gelatin dan hitung dengan mikroskop (Karlina, R., 2008).

g. Penghitungan Sel Busa

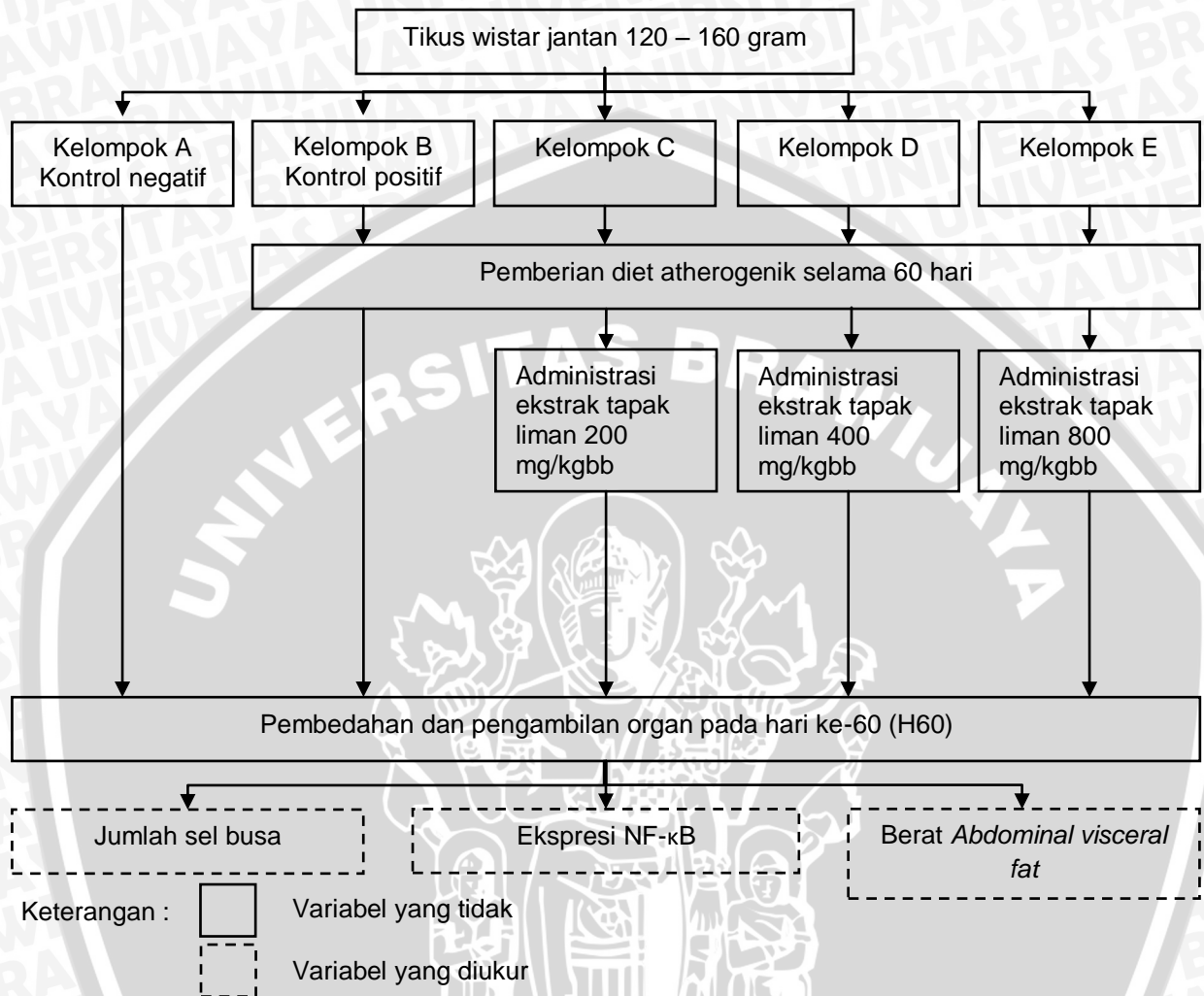
Pengamatan slide dilakukan dengan menggunakan mikroskop. Sel busa merupakan sel yang tercat berwarna merah yang terdapat pada tunika media pembuluh darah aorta. Sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya pendesakan ruang. Penghitungan dilakukan pada perbesaran 400x dengan pengulangan sebanyak lima kali lapangan pandang dan diambil reratanya.

h. Penimbangan *Abdominal Visceral Fat*

Abdominal visceral fat diambil dari lemak intraperitoneal dan retroperitoneal. Lemak ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik, alumunium foil dan pinset. Dilakukan pencatatan hasil.

4.8 Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diambil adalah asupan pakan setiap hari, berat badan setiap minggu, berat *abdominal visceral fat*, jumlah sel busa, dan ekspresi NF- κ B. Analisis yang dilakukan adalah uji normalitas dan uji varian. Jika sebaran data normal dan varian data sama maka digunakan uji hipotesis *One way Anova*. Sedangkan, jika varian tidak sama digunakan uji *Kruskal Wallis*. Selanjutnya, dilakukan uji *Post Hoc* sebagai lanjutan *One way Anova* dan *Mann Whitney* sebagai uji lanjutan *Kruskal Wallis*. Dilakukan juga uji korelasi dan uji regresi. Penelitian ini dinilai bermakna bila $p < 0,05$. Uji statistik dilakukan dengan SPSS 16 dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan : Tikus wistar dibagi menjadi kelompok kontrol (A dan B) dan tiga kelompok perlakuan (C, D dan E) dan Diet atherogenik diberikan pada kelompok B, C, D dan E selama 60 hari. Ekstrak tapak liman diberikan secara peroral setiap hari mulai hari ke-31 selama 30 hari. Pada hari ke-60 dilakukan pembedahan dan pengambilan organ. Selanjutnya, dilakukan pengecekan terhadap jumlah sel busa, ekspresi NF-κB, dan berat *abdominal visceral fat*.

BAB 5

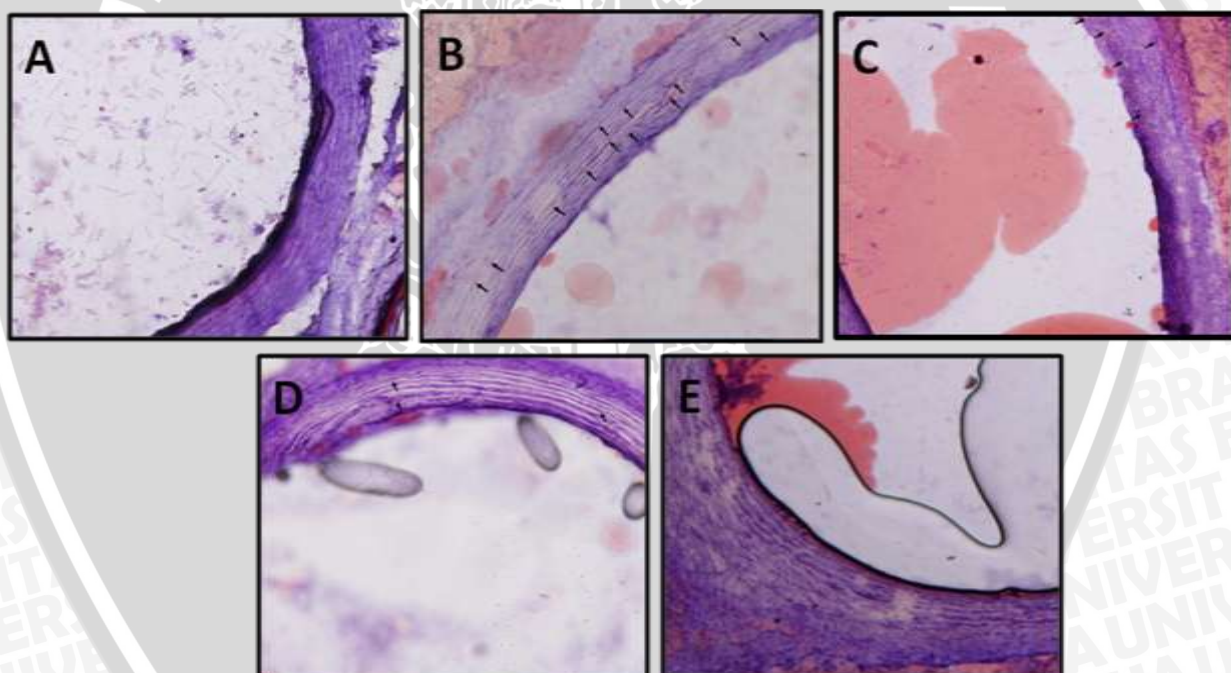
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Jumlah Sel Busa pada Pembuluh Aorta Tikus

Tabel 5.1 Jumlah Sel Busa pada Aorta Tikus

No	Kelompok (n=5)	Jumlah sel busa ($\bar{x} \pm SD$)
1	Kontrol negatif	0,80 \pm 0,84 ^a
2	Kontrol positif	15,60 \pm 2,41 ^b
3	P1 (400 mg/kgBB)	7,80 \pm 1,92 ^c
4	P2 (800 mg/kgBB)	4,00 \pm 1,22 ^d
5	P3 (1600 mg/kgBB)	1,60 \pm 1,14 ^a

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$)



Gambar 5.1 Histopatologi jaringan aorta dengan pewarnaan oil red O. (A) kontrol negatif (kategori *normal*); (B) kontrol positif; (C) P1, 400 mg/kgBB; (D) P2, 800 mg/kgBB; (E) P3, 1600 mg/kgBB (Perbesaran 400 x).

Pada pengecatan oil red O didapat sel busa yang berwarna merah (Gambar 1). Uji ANNOVA didapatkan nilai $p=0.00$ ($p < 0.05$). Uji post hoc tukey didapatkan perbedaan yang bermakna diantara semua kelompok perlakuan ($p < 0.05$), kecuali

antara kelompok kontrol negatif dan P3 (1600 mg/kgBB) dengan $p=0.932$ ($p<0.05$).

Kemudian dilakukan uji korelasi dengan variable NF- κ B, *abdominal visceral fat*, dan perlakuan yang diberikan. Pada korelasi pearson, pada hubungan dengan variable NF- κ B didapatkan nilai $R=0.668(p<0.01)$, pada variable *abdominal visceral fat* didapatkan nilai $R=0.703(p<0.01)$, dan memiliki nilai $R=-0,906(p<0.01)$ pada variabel perlakuan sehingga hubungan antara jumlah sel busa dengan ketiga variable diatas tergolong kuat pada NF- κ B dan *abdominal visceral fat* serta sangat kuat dengan variabel perlakuan. Pada regresi linier dengan variable perlakuan didapatkan nilai adjusted R square=-0.821 dan $p=0.000$ ($p<0.01$), artinya 82,1% penurunan jumlah sel busa disebabkan oleh kenaikan dosis pada perlakuan sedangkan 17,9% disebabkan faktor eksternal. Pada regresi linier dengan variable NF- κ B didapatkan nilai adjusted R square=0.446 dan $p=0.000$ ($p<0.01$), artinya 44,6% penurunan jumlah sel busa disebabkan oleh penurunan kadar NF- κ B pada aorta sedangkan 55,4% disebabkan factor eksternal.

5.2 Kadar NF κ B pada pembuluh aorta tikus

Tabel 5.2 Kadar NF- κ B pada aorta tikus

No	Kelompok (n=5)	Kadar NF- κ B pg/ml ($\bar{x} \pm SD$)
1	Kontrol negatif	65,28 pg/ml \pm 2,723 ^a
2	Kontrol positif	112,59 pg/ml \pm 26,01 ^b
3	P1 (400 mg/kgBB)	103,74 pg/ml \pm 15,47 ^{bc}
4	P2 (800 mg/kgBB)	80,41 pg/ml \pm 15,89 ^{ca}
5	P3 (1600 mg/kgBB)	77.14 pg/ml \pm 5,47 ^a

Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p<0,05$)

Uji ANNOVA didapatkan nilai $p=0.001$ ($p<0.05$). Uji post hoc tukey didapatkan perbedaan yang tidak bermakna diantara kontrol(-) dengan P2($p=0,55$) dan P3($p=0,747$) dengan $p<0.05$ dinyatakan sebagai batas signifikansi. Selain itu, terdapat perbedaan yang bermakna antara K(+) dengan P2 dan P3, K(-) dengan P1, K(+) dengan K(-), dan antara P1 dengan P3 .

Kemudian dilakukan uji korelasi dengan variable perlakuan yang diberikan. Pada korelasi pearson, pada hubungan dengan variable perlakuan didapatkan nilai $R=-0.765$ ($p<0.01$) yang berarti korelasi diantara variable kuat. Pada regresi linier dengan variable perlakuan didapatkan nilai $R =-0.813$ dan adjusted $R^2=-0.586$ ($p<0.01$), artinya 58,6% penurunan kadar NFkB disebabkan oleh kenaikan dosis pada perlakuan sedangkan 41,4% disebabkan factor eksternal.

5.3 Abdominal Visceral Fat dan Berat Badan

Tabel 5.3 *Abdominal visceral fat*

No	Kelompok (n=5)	Abdominal visceral fat ($\bar{x} \pm SD$)
1	Kontrol negatif	2,18 g \pm 0,32 ^a
2	Kontrol positif	14,35 g \pm 7,96 ^b
3	P1 (400 mg/kgBB)	7,33 g \pm 2,29 ^{bc}
4	P2 (800 mg/kgBB)	5,28 g \pm 1,84 ^{ac}
5	P3 (1600 mg/kgBB)	5,51 g \pm 2,38 ^{ac}

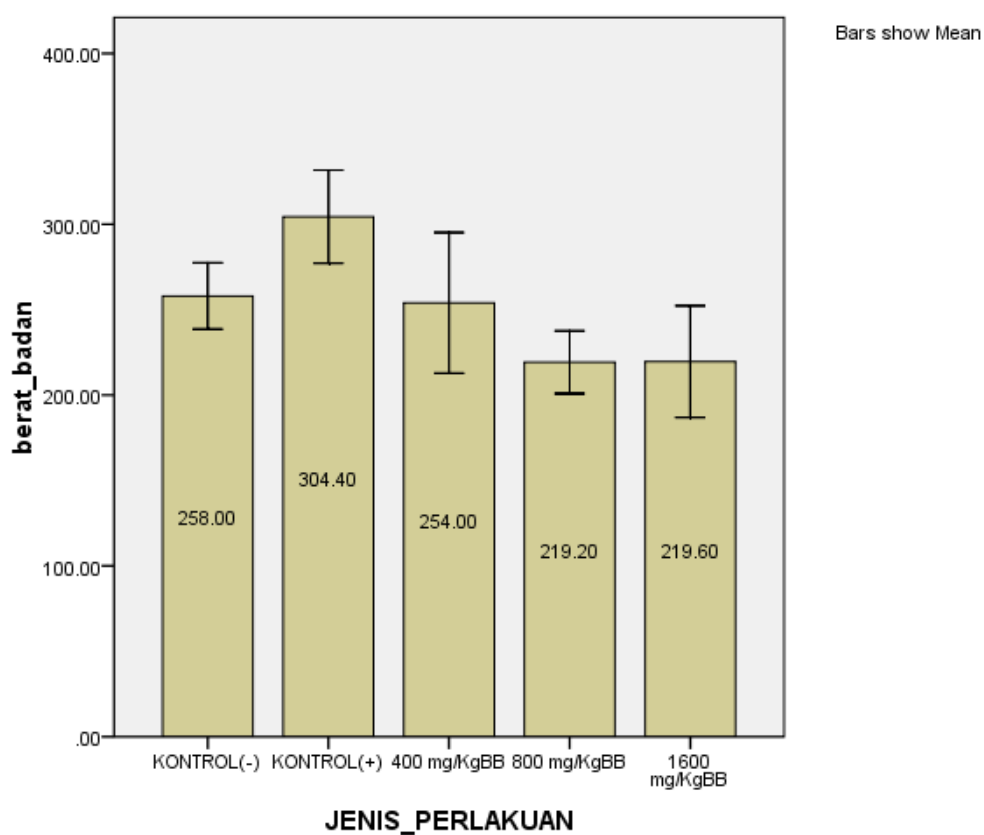
Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna

($p<0,05$)

Uji ANNOVA pada *abdominal visceral fat* didapatkan nilai $p=0.000$ ($p<0.05$). Uji post hoc tukey hanya didapatkan perbedaan yang bermakna pada hubungan antara K(-) dengan kelompok lainnya, dan K(+) dengan P2 serta P3. Namun tidak ada perbedaan bermakna dan pada P2 dan P3 $p=1$ ($p<0,05$) yang berarti pemberian dosis lebih tidak memberikan penurunan yang lebih baik pada berat dari *abdominal visceral fat* . Uji Kruskal Wallis pada variable peningkatan

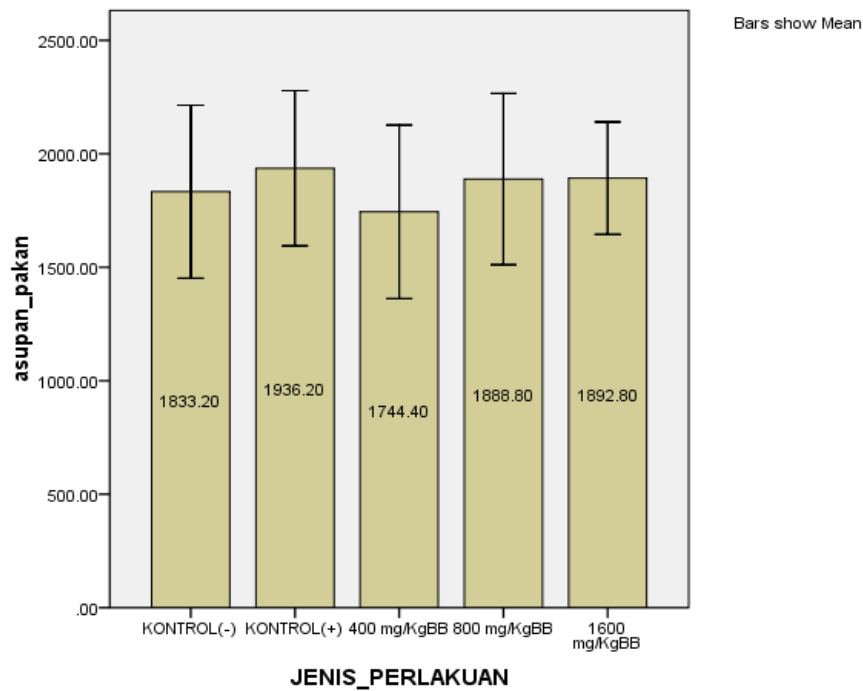
berat badan didapatkan $p=0,056$ ($p<0.05$), artinya tidak ada perbedaan yang bermakna diantara kelompok percobaan.

Pada analisa korelasi non parametric spearman antara peningkatan berat badan dan *abdominal visceral fat* didapatkan nilai $R= 0,396$ yang berarti korelasi diantara dua variable tergolong cukup.



Grafik 1. Grafik Berat Badan

5.4 Asupan Pakan Total



Grafik 2. Grafik Asupan pakan total (gram)

Uji ANNOVA pada asupan pakan total didapatkan nilai $p=0.923$ ($p<0.05$), yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang bermakna pada tiap tikus dalam memperoleh pakan tiap harinya (grafik 2). Dengan kata lain, semua tikus memperoleh asupan pakan yang sama tiap harinya.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Mekanisme Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) dalam Mengurangi Jumlah Sel Busa per Lapangan Pandang pada Pembuluh Aorta Tikus

Atherosklerosis adalah penyakit progresif yang merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri terutama LDL. Patogenesis atherosklerosis yang sangat berperan adalah oksidasi LDL. Proses oksidasi LDL terjadi di dalam subendotelial arteri (Curtiss, 2009). LDL yang teroksidasi secara potensial akan mengaktifkan NF- κ B (Garapati, 2008). Jalur pengaktifan NF- κ B ini memicu upregulasi dari beberapa gen yang terlibat dalam permulaan dan perjalanan atherosclerosis termasuk enzim-enzim yang mengubah LDL menjadi *inflammatory lipids*, chemokin-chemokin (seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1)), serta molekul-molekul adhesi sel (seperti VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin) yang akan membuat monosit mampu menempel pada sel-sel endotel dan masuk ke ruang subendotel (Juan, 2002). Melalui pengaruh NF- κ B, keluarlah satu chemokin, *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF), yang membuat monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian memfagosit oxLDL dan berubah menjadi sel foam (Shworak, 2010).

Berdasarkan dari hasil uji post hoc tukey yang didapatkan perbedaan bermakna diantara semua kelompok perlakuan ($p < 0.05$), kecuali antara kelompok control negative dan P3 (1600 mg/kgBB) dengan $p = 0.932$ ($p < 0.05$), dapat disimpulkan pemberian dosis 3 pada percobaan ini memberikan efek

protektif terhadap pembentukan foam cell mendekati kondisi normal pada tikus yang tidak diberikan diet aterogenik.

Kemudian dilakukan uji korelasi dengan variable NF- κ B, *abdominal visceral fat*, dan perlakuan yang diberikan. Pada korelasi pearson, pada hubungan dengan variable NF- κ B didapatkan nilai $R=0.668(p<0.01)$, pada variable *abdominal visceral fat* didapatkan nilai $R=0.759(p<0.01)$, dan memiliki nilai $R=-0,906(p<0.01)$ pada variabel perlakuan sehingga hubungan antara jumlah sel foam dengan ketiga variable diatas tergolong kuat dengan $R>0,5$ dan $R\leq 0,75$. Pada regresi linier dengan variable perlakuan didapatkan nilai R square= 0.821 dan $p=0.000$ ($p<0.01$), artinya 82,1% penurunan jumlah sel foam disebabkan oleh kenaikan dosis pada perlakuan sedangkan 17,9% disebabkan factor eksternal.

Berdasarkan analisis dan pengamatan dapat dilihat pada K(-) tidak didapatkan hitungan foam cell yang signifikan, sedangkan perhitungan didapatkan nilai terbesar adalah pada K(+) dan terjadi penurunan signifikan pada P2, dan P3 secara bertahap, dan nilai terkecil ada pada P3.

Aktivitas ekstrak daun Tapak Liman dengan zat aktif utama lupeol sebagai antioksidan dan anti inflamasi selain kandungan lainnya yang dapat bekerjasama dalam menurunkan kadar LDL dalam sirkulasi dapat mengurangi kadar LDL, menghambat terjadinya oksidasi LDL dan aktivasi protein – protein pro inflamasi akibat induksi NF- κ B. Proses ini akan menghambat oksidasi LDL menjadi LDL teroksidasi, mencegah diferensiasi dan migrasi makrofag sehingga meminimalkan terbentuknya foam cell akibat fagositosis (Athur, 2007). Data ini dapat dibuktikan bahwa daun tapak liman ini mempunyai potensi yang baik

dalam menghambat dan mengurangi pembentukan *foam cell* pada tunika intima aorta.

6.2 Mekanisme Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber L.*) dalam Mengurangi Kadar NF κ B pada Pembuluh Aorta Tikus

LDL yang teroksidasi secara potensial akan mengaktifkan NF- κ B, yaitu suatu protein kompleks yang berperan dalam pengendalian transkripsi DNA, yang pada ujungnya akan memicu terjadinya inflamasi dan berakhir pada pembentukan plak. Pengaktifan NF- κ B melibatkan kompleks I κ B kinase (IKK). Kompleks ini terdiri dari sebuah subunit regulator (IKK γ), juga dikenal sebagai NF- κ B essential modifier (NEMO) dan dua subunit-subunit yang sama (IKK α dan IKK β). Kompleks IKK diaktifkan oleh fosforilasi dari IKK β , yang selanjutnya menyebabkan I κ B α terfosforilasi. I κ B α yang terfosforilasi di degradasi oleh proteasome pathway, dan menghasilkan NF- κ B bebas (seperti p50/p65 dimer) yang selanjutnya bertranslokasi ke inti sel untuk meregulasi ekspresi hampir 400 gen-gen yang berbeda (Monaco, 2004).

Jalur pengaktifan NF-KB ini memicu upregulasi dari beberapa gen yang terlibat dalam permulaan dan perjalanan atherosclerosis termasuk enzim-enzim yang mengubah LDL menjadi *inflammatory lipids*, chemokin-chemokin (seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1)), serta molekul-molekul adhesi sel (seperti VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin) yang akan membuat monosit mampu menempel pada sel-sel endotel dan masuk ke ruang subendotel (Juan, 2002). Melalui pengaruh NF-KB, keluarlah satu chemokin, *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF), yang membuat monosit berdiferensiasi menjadi

makrofag yang kemudian memfagosit oxLDL dan berubah menjadi sel foam (Shworak, 2010).

Uji ANNOVA didapatkan nilai $p=0.001$ ($p<0.05$). Uji post hoc tukey didapatkan perbedaan yang tidak bermakna diantara kontrol(-) dengan P2($p=0,55$) dan P3($p=0,747$) dengan $p<0.05$ dinyatakan sebagai batas signifikansi. Selain itu, terdapat perbedaan yang bermakna antara K(+) dengan P2 dan P3, K(-) dengan P1, K(+) dengan K(-), dan antara P1 dengan P3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis dari P2 ke P3 menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda dengan K(-) dan antara P2 dan P3 juga menunjukkan hal yang sama sehingga pada kenaikan setelah dosis 2 terdapat peningkatan kejenuhan dalam kemampuan menurunkan kadar NFkB yang pada suatu titik akan menghasilkan hasil yang hampir sama.

Kemudian dilakukan uji korelasi dengan variable perlakuan yang diberikan. Pada korelasi pearson, pada hubungan dengan variable perlakuan didapatkan nilai $R=-0.765$ ($p<0.01$) yang berarti korelasi diantara variable kuat. Pada regresi linier dengan variable perlakuan didapatkan nilai $R\text{ square}=-0.813$ dan $p=0.586$ ($p<0.01$), artinya 58,6% penurunan jumlah kadar NFkB disebabkan oleh kenaikan dosis pada perlakuan sedangkan 41,4% disebabkan factor eksternal.

Selain itu dilakukan uji linier untuk membuktikan hubungan kausalitas antara NFkB sebagai variable bebas dengan foam cell sebagai variable terikatnya dengan $R=0,668$ dan $R^2= 0,446$ yang berarti 44,6% penurunan jumlah foam cell disebabkan penurunan kadar NFkB, sedangkan sisanya disebabkan oleh factor luar. Uji regresi linier tersebut menunjukkan walaupun NFkB memiliki korelasi yang kuat dengan pembentukan foam cell, NFkB memiliki hubungan kausalitas yang sedang. Hal ini bias disebabkan juga karena proses atherosclerosis

memiliki hubungankausalitas dengan banyak factor yang mungkin pada penelitian ini belum tergambaran secara keseluruhan. Namun setidaknya hubungan ini menggambarkan peranan NFkB dalam pathogenesis atherosclerosis yang miltifaktorial.

6.3 Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) Terhadap Abdominal Visceral Fat dan Berat Badan

Obesitas merupakan suatu kondisi dimana ditandai dengan terjadinya peningkatan berat badan dan penumpukan lemak yang berlebihan di dalam tubuh (abdominal visceral fat). Adanya peningkatan kadar OxLDL pada kondisi atherosklerosis mampu mengakibatkan peningkatan risiko terjadinya obesitas. Hal tersebut dikarenakan berbagai macam mekanisme antara lain, OxLDL akan mengakibatkan peningkatan proliferasi dan maturasi sel adiposit, meningkatkan produksi trigliserida (TG) dengan cara menginduksi lipoprotein lipase, dan menginduksi penumpukan asam lemak pada adiposa. OxLDL dapat menginduksi terjadinya obesitas dengan cara berikatan dengan reseptor CD36 pada sel adiposit.

Uji post hoc tukey hanya didapatkan perbedaan yang bermakna pada hubungan antara K(-) dengan kelompok lainnya, dan K(+) dengan P2 serta P3. Namun tidak ada perbedaan *bermakna* dan pada P2 dan P3 $p=1(p<0,05)$ yang berarti pemberian dosis lebih tidak memberikan penurunan yang lebih baik pada berat dari *abdominal visceral fat*.

Uji Kruskal Wallis pada variable peningkatan berat badan didapatkan $p=0,056$ ($p<0.05$), artinya tidak ada perbedaan yang bermakna diantara kelompok percobaan. Pada analisa korelasi non parametric spearman antara

peningkatan berat badan dan *abdominal visceral fat* didapatkan nilai $R= 0,396$ yang berarti korelasi diantara dua variable tergolong cukup. Korelasi ini menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan yang kuat *antara* kedua variable tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan berat badan tidak mencerminkan kondisi obesitas yang berasal dari penumpukan lemak di dalam tubuh. Peningkatan berat badan dapat juga disebabkan karena peningkatan massa otot, tulang, dan jaringan tubuh lainnya.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA





BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak daun tapak liman dapat menurunkan kadar ekspresi NFkB pada aorta tikus dengan diet atherogenik
2. Ekstrak daun tapak liman dapat menurunkan jumlah sel foam pada tunika intima aorta tikus dengan diet atherogenik

7.2 Saran

Saran yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Diperlukan Penelitian lebih lanjut untuk mencari dosis optimal ekstrak daun tapak liman baik pada penurunan jumlah sel foam maupun NFkB
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak daun tapak liman terhadap profil lemak, VCAM-1, ICAM-1, IL-1 β , TNF α , MMP9, dan PAI-1 pada patomekanisme atherosklerosis

DAFTAR PUSTAKA

- Annisa, R. Fitri. 2010. Hubungan Cytomegalovirus dengan Terjadinya Aterosklerosis Ditinjau dari Kedokteran dan Islam. Jakarta: Universitas Yarsi.
- Bonetti, Piero O., Lerman, Lilach P., Lerman, Amir. 2003. Endothelial Dysfunction: A Marker of Atherosclerotic Risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:168-175
- Boudi, Brian.2010. *Atherosclerosis and Risk Factor.* Dalam <http://emedicine.medscape.com/article/150916-diagnosis>. Diakses tanggal 16 Oktober 2010. Jam 20.00 WIB
- Curtiss, Ph.D., Linda K.2009.*Reversing Atherosclerosis.*The New England Journal of Medicine vol 360 (11):1144-1146.
- Falk, Erling. 2006. *Pathogenesis of Atherosclerosis.* Journal of the American College of Cardiology Vol.47 No.8
- Gallo, B.C, Margareth., Sarachine, Miranda J. 2009. Biological activities of Lupeol.*International Journal of Biomedical and pharmaceutical Sciences.* Vol 3: 49-66.
- Göran K. 2009. *Inflammation and immune response in atherosclerosis.* Current Atherosclerosis Reports vol 1 (2):150-155.
- Hansson, G. K. 2005. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease.*New England Journal of Medicine*, No. 352:1685-95.
- Jones, Lloyd. 2009 . *Circulation.* update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee 119(3):e21-181

Karlina, R. 2008. *Perbandingan Pemberian Cornmeal dan Cornmeal Soy terhadap Jumlah Foam Cell Pada Tunika Intima Tikus Wistar yang Diberi Diet Atherogenik*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Klasco, Rich. 2011. Atherosclerosis. <http://www.localhealth.com/article/atherosclerosis-1>. Diakses pada tanggal .

Kolodgie FD, Nakazawa G, Sangiorgi G, Ladich E, Burke AP, Virmani R. Pathology of atherosclerosis and stenting. *Neuroimaging Clin N Am*. Aug 2007;17(3):285-301, vii.

Monaco, Claudia. 2004. Canonical pathway of nuclear factor B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis PNAS Vol. 101, No. 15.

NHLBI, National Heart Lung and Blood Institute. 2011. How is Atherosclerosis Diagnosed. <http://www.nhlbi.nih.gov/health/healthtopics/topics/atherosclerosis/diagnosis.html>. Diakses pada tanggal.

Robbins *et al*. 2003. *Basic Pathology 7th Edition*. USA : Saunder.

Salminen, A., Lehtonen, M., Suuronen, T., *et al*. 2008. *Terpenoids: Natural Inhibitors of NF- κ B Signaling with Anti-inflammatory and Anticancer Potential*. Cellular and Molecular Life Science; 65 2979-2999.

Sankaranarayan, S. 2009. *In Vitro Platelet Aggregation Inhibitory Effect of Triterpenoid Compound From the Leaf of Elephantopus scaber linn*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol 2, Issue 2.

Shworak, Nicholas W. 2010. Canonical nuclear factor- κ B signaling in atherosclerosis. <http://www.abcam.com>. Diakses pada tanggal 8 Oktober 2010 jam 15.23

Vogiatzi, G., Tousoulis, D., Stefanadis C. 2009. The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Hellenic J Cardiol* 2009; 50: 402-409

Wijaya, Agil. 2010. *Tugas Akhir (Skripsi): Pengaruh Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana l.) Terhadap Perbaikan Profil Lemak dan Jumlah Foam Cell pada Tikus (Rattus norvegicus) Aterogenik*. Fakultas kedokteran universitas Brawijaya

Yayasan Stroke Indonesia. 2007. *Pengetahuan Sekilas tentang Stroke*. Dalam <http://www.yastroki.or.id/read.thp?id=340>. Diakses tanggal 16 Oktober 2010. Jam 20.30 WIB



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Benny Arie Pradana

NIM : 0910710005

Program Studi : Program Studi Kedokteran Umum

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya bersama dengan teman-teman satu tim dalam program PKMP PIMNAS DIKTI 2011, dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang kami akui sebagai tulisan atau pikiran kami sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 2012

Yang membuat pernyataan,

(Benny Arie Pradana)

NIM. 0910710005

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Analisis Menggunakan SPSS 16

1.1 Sel Busa

1.2 Visceral Fat

Tests of Normality

JENIS_PER LAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
VISCERAL_FAT KONTROL(-)	.303	5	.150	.863	5	.239
KONTROL(+)	.267	5	.200	.910	5	.465
DOSIS 1	.208	5	.200	.973	5	.896
DOSIS 2	.154	5	.200	.986	5	.964
DOSIS 3	.258	5	.200	.865	5	.247

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Test of Homogeneity of Variances

VISCERAL_FAT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.940	4	20	.000

ANOVA

VISCERAL_FAT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	412.719	4	103.180	6.629	.001
Within Groups	311.277	20	15.564		
Total	723.996	24			

Test of Homogeneity of Variances

tran_vf

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.612	4	20	.066

ANOVA

tran_vf	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.755	4	.189	12.599	.000
Within Groups	.299	20	.015		
Total	1.054	24			



Multiple Comparisons

Dependent Variable: tran_vf

	(I) JENIS_PER LAKUAN	(J) JENIS_PERLA KUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
Tukey HSD	KONTROL(-)	KONTROL(+)	.49423 [*]	.07739	.000	.2626	.7258	
		DOSIS 1	.43530 [*]	.07739	.000	.2037	.6669	
		DOSIS 2	.37346 [*]	.07739	.001	.1419	.6051	
		DOSIS 3	.37770 [*]	.07739	.001	.1461	.6093	
	KONTROL(+)	KONTROL(-)	-.49423 [*]	.07739	.000	-.7258	-.2626	
		DOSIS 1	-.05894	.07739	.939	-.2905	.1727	
		DOSIS 2	-.12077	.07739	.538	-.3524	.1108	
		DOSIS 3	-.11653	.07739	.571	-.3481	.1151	
	DOSIS 1	KONTROL(-)	-.43530 [*]	.07739	.000	-.6669	-.2037	
		KONTROL(+)	.05894	.07739	.939	-.1727	.2905	
		DOSIS 2	-.06183	.07739	.928	-.2934	.1698	
		DOSIS 3	-.05760	.07739	.943	-.2892	.1740	
	DOSIS 2	KONTROL(-)	-.37346 [*]	.07739	.001	-.6051	-.1419	
		KONTROL(+)	.12077	.07739	.538	-.1108	.3524	
		DOSIS 1	.06183	.07739	.928	-.1698	.2934	
		DOSIS 3	.00423	.07739	1.000	-.2274	.2358	
	DOSIS 3	KONTROL(-)	-.37770 [*]	.07739	.001	-.6093	-.1461	
		KONTROL(+)	.11653	.07739	.571	-.1151	.3481	
		DOSIS 1	.05760	.07739	.943	-.1740	.2892	
		DOSIS 2	-.00423	.07739	1.000	-.2358	.2274	
	LSD	KONTROL(-)	KONTROL(+)	.49423 [*]	.07739	.000	.3328	.6557
			DOSIS 1	.43530 [*]	.07739	.000	.2739	.5967
			DOSIS 2	.37346 [*]	.07739	.000	.2120	.5349
			DOSIS 3	.37770 [*]	.07739	.000	.2163	.5391
KONTROL(+)		KONTROL(-)	-.49423 [*]	.07739	.000	-.6557	-.3328	
		DOSIS 1	-.05894	.07739	.455	-.2204	.1025	
		DOSIS 2	-.12077	.07739	.134	-.2822	.0407	
		DOSIS 3	-.11653	.07739	.148	-.2780	.0449	
DOSIS 1		KONTROL(-)	-.43530 [*]	.07739	.000	-.5967	-.2739	
		KONTROL(+)	.05894	.07739	.455	-.1025	.2204	
		DOSIS 2	-.06183	.07739	.434	-.2233	.0996	
		DOSIS 3	-.05760	.07739	.465	-.2190	.1038	
DOSIS 2		KONTROL(-)	-.37346 [*]	.07739	.000	-.5349	-.2120	
		KONTROL(+)	.12077	.07739	.134	-.0407	.2822	
		DOSIS 1	.06183	.07739	.434	-.0996	.2233	
		DOSIS 3	.00423	.07739	.957	-.1572	.1657	
DOSIS 3		KONTROL(-)	-.37770 [*]	.07739	.000	-.5391	-.2163	



KONTROL(+)	.11653	.07739	.148	-.0449	.2780
DOSIS 1	.05760	.07739	.465	-.1038	.2190
DOSIS 2	-.00423	.07739	.957	-.1657	.1572

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1.3 NFkB

Tests of Normality

JENIS_PERLA KUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nfkB KONTROL(-)	.300	5	.161	.892	5	.368
KONTROL(+)	.300	5	.161	.820	5	.117
DOSIS 1	.300	5	.161	.900	5	.408
DOSIS 2	.300	5	.161	.788	5	.065
DOSIS 3	.277	5	.200	.896	5	.389

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Test of Homogeneity of Variances

NfkB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.871	4	20	.155

ANOVA

NfkB	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7720.052	4	1930.013	8.002	.001
Within Groups	4823.863	20	241.193		
Total	12543.915	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: nfkB

	(I) JENIS_PERLA KUAN	(J) JENIS_PERLAKU AN	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	KONTROL(-)	KONTROL(+)	-47.30800 [*]	9.82228	.001	-76.7000	-17.9160
		DOSIS 1	-38.46160 [*]	9.82228	.007	-67.8536	-9.0696
		DOSIS 2	-15.12860	9.82228	.550	-44.5206	14.2634
		DOSIS 3	-11.85920	9.82228	.747	-41.2512	17.5328
	KONTROL(+)	KONTROL(-)	47.30800 [*]	9.82228	.001	17.9160	76.7000
		DOSIS 1	8.84640	9.82228	.893	-20.5456	38.2384
		DOSIS 2	32.17940 [*]	9.82228	.028	2.7874	61.5714
		DOSIS 3	35.44880 [*]	9.82228	.013	6.0568	64.8408
	DOSIS 1	KONTROL(-)	38.46160 [*]	9.82228	.007	9.0696	67.8536
		KONTROL(+)	-8.84640	9.82228	.893	-38.2384	20.5456
		DOSIS 2	23.33300	9.82228	.163	-6.0590	52.7250
		DOSIS 3	26.60240	9.82228	.088	-2.7896	55.9944



LSD	DOSIS 2	KONTROL(-)	15.12860	9.82228	.550	-14.2634	44.5206
		KONTROL(+)	-32.17940	9.82228	.028	-61.5714	-2.7874
	DOSIS 1		-23.33300	9.82228	.163	-52.7250	6.0590
	DOSIS 3		3.26940	9.82228	.997	-26.1226	32.6614
	DOSIS 3	KONTROL(-)	11.85920	9.82228	.747	-17.5328	41.2512
		KONTROL(+)	-35.44880	9.82228	.013	-64.8408	-6.0568
	DOSIS 1		-26.60240	9.82228	.088	-55.9944	2.7896
	DOSIS 2		-3.26940	9.82228	.997	-32.6614	26.1226
	KONTROL(+)	KONTROL(-)	47.30800	9.82228	.000	26.8191	67.7969
	DOSIS 1		8.84640	9.82228	.378	-11.6425	29.3353
	DOSIS 2		32.17940	9.82228	.004	11.6905	52.6683
	DOSIS 3		35.44880	9.82228	.002	14.9599	55.9377
DOSIS 1	KONTROL(-)	38.46160	9.82228	.001	17.9727	58.9505	
	KONTROL(+)	-8.84640	9.82228	.378	-29.3353	11.6425	
DOSIS 2		23.33300	9.82228	.028	2.8441	43.8219	
DOSIS 3		26.60240	9.82228	.014	6.1135	47.0913	
DOSIS 2	KONTROL(-)	15.12860	9.82228	.139	-5.3603	35.6175	
	KONTROL(+)	-32.17940	9.82228	.004	-52.6683	-11.6905	
DOSIS 1		-23.33300	9.82228	.028	-43.8219	-2.8441	
DOSIS 3		3.26940	9.82228	.743	-17.2195	23.7583	
DOSIS 3	KONTROL(-)	11.85920	9.82228	.241	-8.6297	32.3481	
	KONTROL(+)	-35.44880	9.82228	.002	-55.9377	-14.9599	
DOSIS 1		-26.60240	9.82228	.014	-47.0913	-6.1135	
DOSIS 2		-3.26940	9.82228	.743	-23.7583	17.2195	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1.4 Asupan Pakan

Tests of Normality

JENIS_PERLAKUAN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
asupan_pakan KONTROL(-)	.263	5	.200	.909	5	.464
KONTROL(+)	.271	5	.200	.853	5	.203
DOSIS 1	.208	5	.200	.918	5	.519
DOSIS 2	.235	5	.200	.865	5	.246
DOSIS 3	.241	5	.200	.838	5	.160

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Test of Homogeneity of Variances

asupan_pakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.415	4	20	.796

ANOVA

asupan_pakan	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	108945.440	4	27236.360	.222	.923
Within Groups	2448370.400	20	122418.520		
Total	2557315.840	24			

Multiple Comparisons

Dependent Variable:asupan_pakan

	(I) JENIS_PERLAKUAN	(J) JENIS_PERLAKUAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	KONTROL(-)	KONTROL(+)	-103.00000	2.21286E2	.990	-765.1700	559.1700
		DOSIS 1	88.80000	2.21286E2	.994	-573.3700	750.9700
		DOSIS 2	-55.60000	2.21286E2	.999	-717.7700	606.5700
		DOSIS 3	-59.60000	2.21286E2	.999	-721.7700	602.5700
	KONTROL(+)	KONTROL(-)	103.00000	2.21286E2	.990	-559.1700	765.1700
		DOSIS 1	191.80000	2.21286E2	.906	-470.3700	853.9700
		DOSIS 2	47.40000	2.21286E2	.999	-614.7700	709.5700
		DOSIS 3	43.40000	2.21286E2	1.000	-618.7700	705.5700
	DOSIS 1	KONTROL(-)	-88.80000	2.21286E2	.994	-750.9700	573.3700
		KONTROL(+)	-191.80000	2.21286E2	.906	-853.9700	470.3700
		DOSIS 2	-144.40000	2.21286E2	.964	-806.5700	517.7700
		DOSIS 3	-148.40000	2.21286E2	.961	-810.5700	513.7700
	DOSIS 2	KONTROL(-)	55.60000	2.21286E2	.999	-606.5700	717.7700
		KONTROL(+)	-47.40000	2.21286E2	.999	-709.5700	614.7700
		DOSIS 1	144.40000	2.21286E2	.964	-517.7700	806.5700
		DOSIS 3	-4.00000	2.21286E2	1.000	-666.1700	658.1700
DOSIS 3	KONTROL(-)	59.60000	2.21286E2	.999	-602.5700	721.7700	
	KONTROL(+)	-43.40000	2.21286E2	1.000	-705.5700	618.7700	
	DOSIS 1	148.40000	2.21286E2	.961	-513.7700	810.5700	
	DOSIS 2	4.00000	2.21286E2	1.000	-658.1700	666.1700	
LSD	KONTROL(-)	KONTROL(+)	-103.00000	2.21286E2	.647	-564.5941	358.5941
		DOSIS 1	88.80000	2.21286E2	.692	-372.7941	550.3941
		DOSIS 2	-55.60000	2.21286E2	.804	-517.1941	405.9941
		DOSIS 3	-59.60000	2.21286E2	.790	-521.1941	401.9941
	KONTROL(+)	KONTROL(-)	103.00000	2.21286E2	.647	-358.5941	564.5941
		DOSIS 1	191.80000	2.21286E2	.396	-269.7941	653.3941
		DOSIS 2	47.40000	2.21286E2	.833	-414.1941	508.9941
		DOSIS 3	43.40000	2.21286E2	.846	-418.1941	504.9941
	DOSIS 1	KONTROL(-)	-88.80000	2.21286E2	.692	-550.3941	372.7941
		KONTROL(+)	-191.80000	2.21286E2	.396	-653.3941	269.7941
		DOSIS 2	-144.40000	2.21286E2	.521	-605.9941	317.1941
		DOSIS 3	-148.40000	2.21286E2	.510	-609.9941	313.1941
	DOSIS 2	KONTROL(-)	55.60000	2.21286E2	.804	-405.9941	517.1941



	KONTROL(+)	-47.40000	2.21286E2	.833	-508.9941	414.1941
	DOSIS 1	144.40000	2.21286E2	.521	-317.1941	605.9941
	DOSIS 3	-4.00000	2.21286E2	.986	-465.5941	457.5941
DOSIS 3	KONTROL(-)	59.60000	2.21286E2	.790	-401.9941	521.1941
	KONTROL(+)	-43.40000	2.21286E2	.846	-504.9941	418.1941
	DOSIS 1	148.40000	2.21286E2	.510	-313.1941	609.9941
	DOSIS 2	4.00000	2.21286E2	.986	-457.5941	465.5941

1.5 Berat Badan

Tests of Normality

JENIS_PERLAKU AN	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
berat_badan KONTROL(-)	.265	5	.200 [*]	.890	5	.355
KONTROL(+)	.396	5	.010	.659	5	.003
DOSIS 1	.340	5	.059	.804	5	.087
DOSIS 2	.180	5	.200 [*]	.944	5	.697
DOSIS 3	.209	5	.200 [*]	.916	5	.507

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Kruskal-Wallis Test

Ranks

JENIS_PERLAKU AN	N	Mean Rank
berat_badan KONTROL(-)	5	18.20
KONTROL(+)	5	16.70
DOSIS 1	5	14.00
DOSIS 2	5	6.30
DOSIS 3	5	9.80
Total	25	

Test Statistics^{a,b}

	berat_badan
Chi-Square	8.982
Df	4
Asymp. Sig.	.062

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
JENIS_PERLAKUAN

1.6 UJI KORELASI

Correlations

		VISCERAL_FAT	foam_cell
VISCERAL_FAT	Pearson Correlation	1	.759**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	25	25
foam_cell	Pearson Correlation	.759**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	25	25

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		foam_cell	nfkB
foam_cell	Pearson Correlation	1	.668**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	25	25
nfkB	Pearson Correlation	.668**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	25	25

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

			foam_cell	berat_badan
Spearman's rho	foam_cell	Correlation Coefficient	1.000	.094
		Sig. (2-tailed)	.	.655
		N	25	25
	berat_badan	Correlation Coefficient	.094	1.000
		Sig. (2-tailed)	.655	.
		N	25	25

Correlations

		foam_cell	asupan_pakan
foam_cell	Pearson Correlation	1	-.002
	Sig. (2-tailed)		.991
	N	25	25
asupan_pakan	Pearson Correlation	-.002	1
	Sig. (2-tailed)	.991	
	N	25	25

Correlations

		VISCERAL_FAT	nfkB
VISCERAL_FAT	Pearson Correlation	1	.652**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	25	25
nfkB	Pearson Correlation	.652**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	25	25

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Correlations

			VISCERAL_FAT	berat_badan
Spearman's rho	VISCERAL_FAT	Correlation Coefficient	1.000	.188
		Sig. (2-tailed)	.	.368
		N	25	25
	berat_badan	Correlation Coefficient	.188	1.000
		Sig. (2-tailed)	.368	.
		N	25	25

Correlations

		VISCERAL_FAT	asupan_pakan
VISCERAL_FAT	Pearson Correlation	1	.185
	Sig. (2-tailed)		.376
	N	25	25
asupan_pakan	Pearson Correlation	.185	1
	Sig. (2-tailed)	.376	
	N	25	25

Correlations

			asupan_pakan	berat_badan
Spearman's rho	asupan_pakan	Correlation Coefficient	1.000	-.210
		Sig. (2-tailed)	.	.315
		N	25	25
	berat_badan	Correlation Coefficient	-.210	1.000
		Sig. (2-tailed)	.315	.
		N	25	25

