

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi

Aterosklerosis didefinisikan sebagai suatu proses patologi yang melibatkan *fatty lesion* dan terjadi pada tunika intima arteri berukuran sedang (arteri muskuler) dan besar (arteri elastis), mengakibatkan penyempitan diameter lumen dan turbulensi aliran darah. Sifatnya kronik progresif, fokal ataupun difus, dan dapat bermanifestasi akut maupun kronik. Aterosklerosis adalah salah satu bentuk arteriosklerosis (Anwar, 2004; Stocker and Keaney, 2004; Rahman, 2012).

2.1.2 Faktor Resiko

Faktor resiko aterosklerosis sering dikaitkan dengan faktor resiko tradisional penyakit kardiovaskuler, yaitu antara lain lipid standar (misal: total kolesterol, LDL kolesterol, HDL kolesterol) dan non-lipid (misal: hipertensi). Namun penelitian lebih lanjut memberikan hasil berupa faktor resiko yang lebih spesifik, antara lain kelainan glukosa darah puasa, TG dan remnant lipoprotein kaya TG, lipoprotein(a), homosistein, dan CRP sensitivitas tinggi (Fruchart *et al*, 2004).

1. Faktor resiko metabolik, antara lain meliputi:

- a. Diabetes mellitus, kelainan toleransi glukosa, dan kelainan glukosa darah puasa. Pernyataan ini didasarkan pada penelitian epidemiologi Framing-

ham Heart Study yang menyebutkan bahwa resiko penyakit kardiovaskuler pada pria diabetes lebih tinggi dua kali lipat daripada pria non-diabetes, sementara pada wanita diabetes lebih tinggi tiga kali lipat daripada wanita non-diabetes.

b. Sindrom metabolik. Diagnosa ini ditegakkan berdasarkan 3 atau lebih kriteria NCEP berikut:

- i. Peningkatan TG (≥ 150 mg/dL [≥ 1.7 mmol/L])
- ii. HDL kolesterol rendah (pria < 40 mg/dL [< 1.03 mmol/L]; wanita < 50 mg/dL [< 1.29 mmol/L])
- iii. Kelainan gula darah puasa (≥ 110 mg/dL)
- iv. Tekanan darah tinggi ($\geq 130/85$ mm Hg), and
- v. Peningkatan lingkaran pinggang (pria > 102 cm; wanita > 88 cm)

2. Faktor resiko lipid, antara lain meliputi

- a. Hiper-trigliserida (HiperTG), berada di atas batas normal < 150 mg/dL (< 1.7 mmol/L) menurut NCEP ATP III.
- b. Lipoprotein remnant kaya TG, mengandung banyak partikel lipoprotein termodifikasi. Seperti yang telah dijelaskan, partikel yang dapat menginfiltrasi lesi adalah protein berukuran kecil (< 70 nm). Partikel kilomikron dan VLDL besar tidak mampu melewati lapisan endotel, sementara partikel VLDL kecil, IDL, dan LDL mampu. Namun lipoprotein remnant dari kilomikron dan/atau VLDL punya kemampuan menembus lesi. VLDL, Apo C-III, dan LDL merupakan faktor resiko yang paling besar.
- c. Lipoprotein(a) atau Lp(a), terbentuk dari penggabungan antara lipoprotein yang secara struktural komposisi protein dan lipidnya mirip LDL, dengan apo(a) (protein hidrofilik kaya karbohidrat). Hasil berbagai penelitian mem-

buktikan bahwa peningkatan kadar Lp(a) (kadar normal <33 mg/dL) berbanding lurus dengan peningkatan resiko penyakit kardiovaskuler.

3. Homosistein, terbentuk selama proses demetilasi metionin. Gangguan metabolisme homosistein mengakibatkan hiperhomosisteinemia, disebabkan karena faktor genetik, defisiensi vitamin (asam folat, B12, B6), penggunaan obat-obatan, dan gangguan fungsi ginjal. Hal ini juga disebabkan karena kebiasaan merokok, diabetes, obesitas, dan hipertensi.
4. Faktor trombogenik atau hemostatik, seperti gangguan pada konsentrasi fibrinogen plasma dan aktivitas faktor VII.
5. CRP sensitivitas tinggi (hs-CRP) pada aterosklerosis koronal, dan marker inflamasi lainnya.

2.1.3 Patogenesis

Aterosklerosis terjadi karena adanya jejas pada endotel arteri, sehingga menimbulkan disfungsi endotel (Hatta, 2011) yang berwujud pada lesi aterosklerosis. Berdasarkan morfologinya, lesi aterosklerosis dibedakan menjadi tiga yaitu: *fatty lesion*, plak fibrosa, dan *complicated lesion* (Anwar, 2004). Perkembangan lesi aterosklerosis dapat dibagi dalam tiga proses, yaitu inisiasi (pembentukan *fatty streak* kecil), ekspansi (pertumbuhan vertical, lateral, dan penggabungan), dan progresi menuju plak (rekrutmen sel otot polos intima, deposisi kolagen, dan pembentukan fibrous cap) (Collins dan Cybulsky, 2001). *Fatty streak* adalah akumulasi sel-sel (terutama makrofag dan limfosit T) yang terbungkus lemak di intima, di mana terjadi pada usia muda dan jarang menimbulkan gejala. *Fatty streak* akan berkembang menjadi *fibrous plaque* atau atheroma. Regio inti atheroma yang terdiri atas sel busa dan lipid ekstraseluler dibungkus oleh kapsul sel

otot polos dan matriks kaya kolagen. Sementara itu, pada regio tepinya banyak terdapat sel T, makrofag, dan sel mast yang menginfiltrasi lesi. Sel-sel imun inilah yang memicu aktivasi dan produksi sitokin proinflamasi. Adanya sitokin proinflamasi, protease (*MMP protease* dan *cysteine protease*), faktor koagulan, radikal bebas, dan molekul vasoaktif dapat memicu destabilisasi lesi dengan menginhibisi pembentukan *fibrous cap* yang stabil, menyerang kolagen pada *cap*, dan menginisiasi pembentukan trombus. Trombus inilah yang menyebabkan berbagai komplikasi (Hansson, 2005).

Stocker dan Keaney (2004) menyatakan bahwa terdapat tiga hipotesis dalam perkembangan lesi aterosklerosis, yaitu (1) respon terhadap jejas, (2) respon terhadap retensi, dan (3) modifikasi oksidatif.

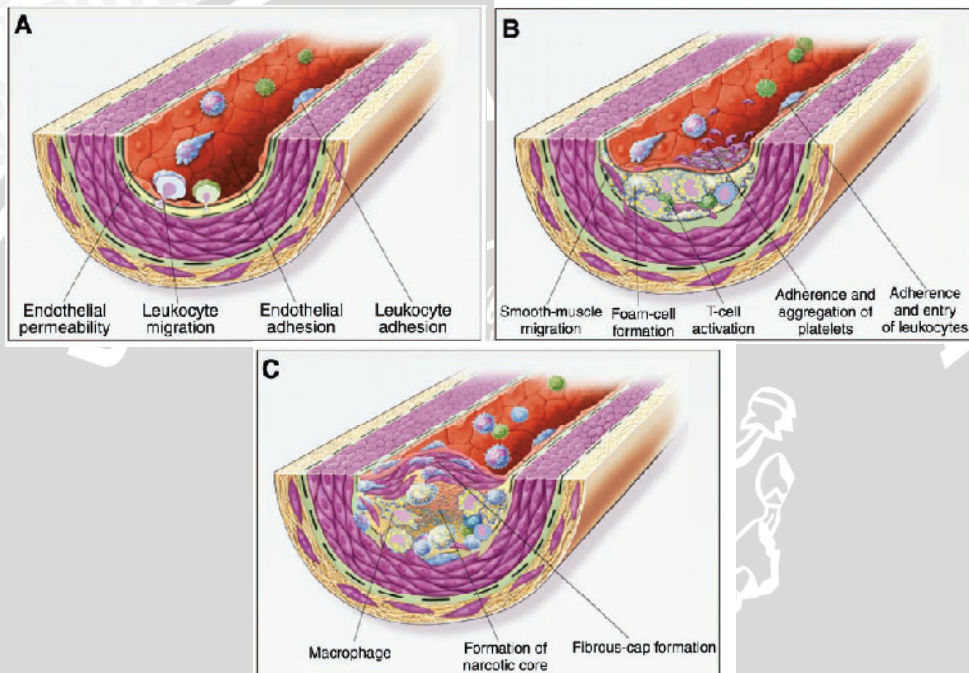
Hipotesis Respon terhadap Jejas (response-to-injury). Hipotesis ini merupakan gabungan dari hipotesis Rokitansky yang menyatakan bahwa penebalan intima diakibatkan oleh deposisi fibrin arterial, dan hipotesis Virchow yang menyatakan bahwa penyebab aterosklerosis adalah kompleks lipid dengan mukopolisakarida (hipotesis transudasi lipid). Simpulan dari dua hipotesis ini adalah proses perkembangan aterosklerosis bergantung pada deposisi komponen seluler secara pasif, bukan aktif (Stocker dan Keaney, 2004). Deposisi ini disebabkan oleh perubahan dinamik gaya gesek pulsatil dan proses stress oksidatif lain. Akibat perubahan ini, endotel memberikan respon imunologik berkesinambungan, yang muncul dalam bentuk mikrolesi berulang atau makrolesi (Megawati, 2008).

Rangsangan proinflamasi yang terus menerus memicu endotel untuk mengekspresikan molekul adhesi seperti VCAM-1, ICAM-1, dan P-selectin yang melakukan rekrutmen platelet, monosit, dan limfosit. Platelet adalah sel darah yang pertama kali tiba di fokus inflamasi. Glikoprotein Ib dan IIb/IIIa dari platelet

memicu aktivasi endotel. Endotel yang teraktivasi akan mengekspresikan VCAM-1 yang memicu rekrutmen limfosit dan monosit. Monosit yang datang akan menempel dan bermigrasi menembus tunika intima dengan bantuan MCP-1. Tunika intima akan memberikan respon inflamasi berupa diekspresikannya MCSF, sehingga monosit berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag memicu deposisi LDL untuk membentuk sel busa yang kaya lipid. Akumulasi lipid akan memberi *feedback* untuk respon inflamasi yang berkelanjutan, sehingga inflamasi akan berlangsung terus menerus. Hal ini berpotensi menimbulkan nekrosis seluler dan terlepasnya berbagai sitokin, *growth factor*, dan enzim proteolitik yang memungkinkan perluasan lesi yang mengisi ruang sub intima. Sementara itu, limfosit T (didominasi CD4+) juga akan bermigrasi ke dalam lesi dengan bantuan IP-10 dan monokin yang diinduksi IFN- γ dan I-TAC. Antigen-antigen dalam lesi (ox-LDL, HSPs, dan lain-lain) akan memicu diferensiasi CD4+ menjadi CD8+ (Th-1 / T efektor), sehingga semakin meningkatkan inflamasi. Baik makrofag maupun Th-1 juga mengekspresikan berbagai sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-6, IL-1 β , IFN- γ , CD40 ligand) yang berperan penting dalam progresivitas lesi (Megawati, 2008; Stocker dan Keaney, 2004; Hansson, 2005).

Proses inflamasi berkelanjutan ini dapat menyebabkan terlepasnya mediator fibrogenik dan *growth factor* yang memicu replikasi, migrasi, dan proliferasi sel otot polos arteri. Hal inilah yang menjadi dasar terbentuknya kapsul fibrosa yang menyelubungi inti lipid dan jaringan nekrosis. Jika proses ini terus berlanjut, maka makrofag akan menyekresikan enzim proteolitik (MMP, sistein protease, serin protease) yang merusak matriks ekstraseluler kapsul fibrosa. Akibatnya kapsul menjadi lemah dan mudah ruptur (Megawati, 2008). Rupturnya kapsul fibrosa ini tidak mudah diperbaiki, karena limfosit T menyekresikan IFN- γ yang

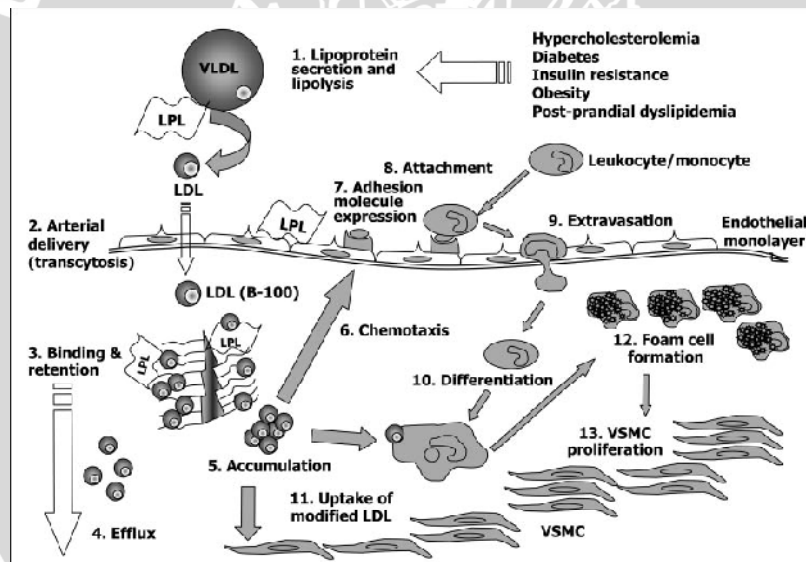
menghambat sel otot polos untuk menyintesis kolagen (komponen kapsul fibrosa). Selain itu, makrofag juga mengeksresikan faktor prokoagulan yang memicu trombosis. Karena itu, jika terjadi ruptur, maka besar kemungkinan terbentuk trombosklerosis (Libby *et al*, 2002).



Gambar 2.1 Hipotesis respon terhadap jejas. **(A)** Cedera atau disfungsi endotel, mengakibatkan peningkatan permeabilitas endotel dan deposisi LDL di ruang subendotel, diikuti adhesi dan migrasi limfosit. **(B)** Formasi sel busa dan respon inflamasi (aktivasi sel T, adhesi dan agregasi platelet, migrasi sel otot polos). **(C)** Aterosklerosis tingkat lanjut, dicirikan oleh akumulasi makrofag berkelanjutan, formasi kapsul fibrosa, dan nekrosis di inti lesi (Stocker dan Keaney, 2004)

Hipotesis Respon terhadap Retensi (Response-to-retention). Dalam hipotesis ini, yang dimaksud dengan retensi adalah retensi lipoprotein (LDL dan mikroagregatnya) di subendotel pada perkembangan lesi aterosklerosis. Retensi didukung oleh komponen matriks ekstraseluler seperti proteoglikan, enzim lipolitik (lipoprotein lipase), dan lisosom. Proteoglikan berikatan dengan Apo B-100 (*receptor-binding* LDL) dan Apo B-48 (*receptor-binding* kilomikron), sehingga li-

poprotein yang bersangkutan akan tertahan di subendotel. Sementara itu, lipoprotein lipase bertugas mendegradasi lipoprotein kaya TG (VLDL) yang berukuran besar. Hal ini sangat penting dalam perkembangan lesi aterosklerosis, karena kurang lebih 85% lipoprotein terinfiltrasi ke dalam lesi dengan cara transitosi, di mana hanya bisa dilakukan oleh partikel berukuran kurang dari 70 nm. Selanjutnya, asam lisosom lipase bersama cathepsin D dapat memicu apoptosis dan mitogenesis. Aksi yang sama juga diperankan oleh ceramide yang merupakan produk enzim sphingomyelinase (muncul dalam proses pembentukan mikroagregat dari LDL). Hal ini mendukung terbentuknya inti lipid pada atheroma (Stocker dan Keaney, 2004; Libby *et al*, 2002).

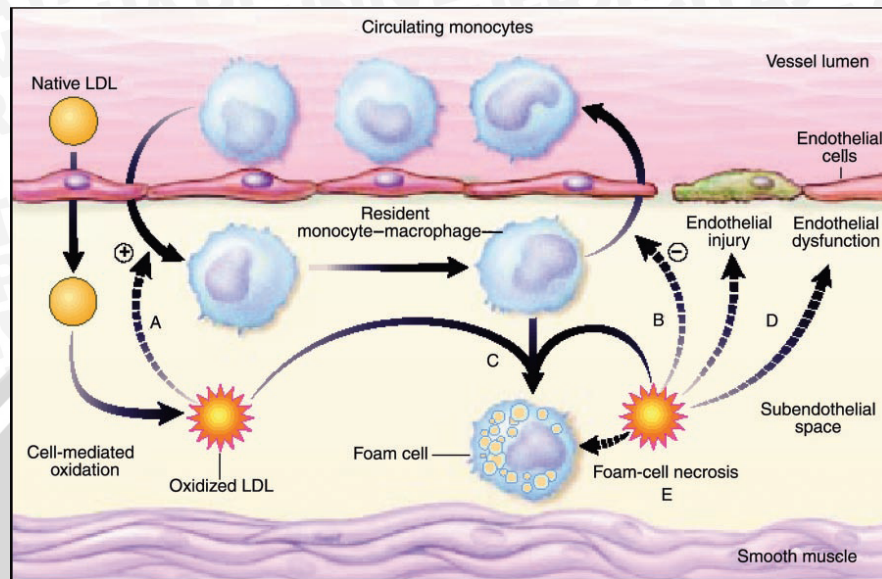


Gambar 2.2 Hipotesis respon terhadap retensi. (1-5) Stadium inisial migrasi, retensi, dan efluks lipoprotein arterial. (5) Akumulasi sebagai hasil dari modifikasi Apo B-100. (6-13) Rantai inflamasi sebagai hasil dari akumulasi (Stocker dan Keaney, 2004)

Hipotesis Modifikasi Oksidatif. Dasar dari hipotesis ini adalah fakta bahwa oksidasi lipid LDL dan modifikasi yang dihasilkan Apo B-100 menghasilkan substrat yang berperan sebagai ligan dalam *scavenger receptor pathway*. Proses ini

diawali dari reaksi enzimatik oksidatif terhadap partikel LDL oleh sel-sel arteri, seperti sel otot polos, sel endotel, dan makrofag. Reaksi ini mengubah LDL menjadi *modified* LDL (mo-LDL atau mm-LDL, *minimal modified* LDL) dan *oxidized* LDL (ox-LDL) (Shaskin *et al*, 2005). Perbedaan dari keduanya adalah pada mo-LDL, modifikasi lipid tidak disertai perubahan apapun pada Apo B-100, sementara hal sebaliknya terjadi pada ox-LDL. Mo-LDL melepaskan fosfolipid yang menginduksi sel otot polos dan endotel untuk menyintesis MCP-1 dan molekul adhesi seperti VCAM-1. Sementara itu, ox-LDL yang bersifat lebih sitotoksik daripada mo-LDL, memproduksi lisofosfatidilkolin yang bersifat kemotaktik terhadap monosit dan limfosit T. Seperti yang telah dijelaskan, begitu terinfiltrasi ke dalam lesi, monosit akan berubah menjadi makrofag. Makrofag akan memfagosit ox-LDL dan membentuk sel busa yang menginisiasi aterosklerosis. Selain itu, ox-LDL juga dapat menstimulasi proliferasi sel otot polos, meningkatkan pembentukan autoantibodi (efek dari modifikasi apoprotein) (Libby *et al*, 2002), dan meningkatkan pembentukan kompleks imun yang memfasilitasi internalisasi makrofag terhadap LDL (Stocker dan Keaney, 2004; Megawati, 2008).

Scavenger receptor pada makrofag menghancurkan partikel ox-LDL dengan pola molekuler patogen. Namun tidak semua kolesterol dari ox-LDL dapat dimobilisasi keluar, kebanyakan justru terakumulasi dalam sitosol dan berkembang menjadi sel busa. Selain *scavenger receptor*, pada makrofag juga terdapat *toll-like receptor* yang juga menghancurkan ox-LDL dengan pola molekuler patogen. Namun yang berbeda dari jalur ini adalah *toll-like receptor* mampu menginisiasi rantai sinyal untuk mengaktivasi sel. Hal inilah yang membuat makrofag mampu memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi, protease, dan molekul oksigen dan nitrogen radikal yang sitotoksik (Hansson, 2005).



Gambar 2.3 Hipotesis modifikasi oksidatif. LDL terjebak dalam ruang subendotel dan mengalami modifikasi oksidatif oleh sel-sel vaskuler dan makrofag. Ox-LDL menstimulasi kemotaksis monosit (A), mencegah monosit keluar kembali (B), dan memicu terbentuknya sel busa (C). Setelah terbentuk, ox-LDL juga mengakibatkan disfungsi endotel (D) dan nekrosis sel busa (E) (Stocker dan Keaney, 2004).

2.1.4 Peran Resistin dalam Hipotesis Respon terhadap Jejas

Resistin termasuk dalam famili protein kaya sistein dan famili *resistin-like molecules* (RELMs). Pada tikus, resistin diekspresikan terutama pada jaringan adiposit putih, sedangkan pada manusia, resistin diekspresikan terutama di *peripheral blood mononuclear cells* (PBMC), dan menyebabkan peningkatan diferensiasi menjadi makrofag (Wen-lan *et al*, 2007; Jung *et al*, 2006; Ahima dan Goncalves, 2011; Pang dan Le, 2006). Pada tikus, terdapat dua bentuk resistin, yaitu *disulfide-linked hexamer* (mayor) dan *trimeric protein* (minor). Bentuk *trimeric* ini memiliki bioaktivitas yang lebih tinggi dalam menurunkan sensitivitas insulin. Sementara pada manusia, terdapat dua bentuk resistin juga, yaitu *trimeric* dan

oligomeric. Bentuk *oligomeric* memiliki efek yang lebih poten dalam stimulasi sitokin proinflamasi (Park dan Ahima, 2013).

Resistin diketahui mempunyai peran besar dalam patogenesis diabetes mellitus tipe 2 dan aterosklerosis (Wang *et al*, 2002; Stepan *et al*, 2001; Reilly *et al*, 2005). Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui fisiologi biomolekuler resistin dalam menyebabkan hal ini. Informasi mengenai reseptor resistin sejauh ini masih simpang siur. Daquinag *et al* (2011) menyebutkan bahwa resistin berikatan dengan Δ DCN (isoform *decorin* yang merupakan pecahan proteolitik dari glikanasi dengan cabang N-terminal) yang berada di permukaan sel progenitor adiposa. Ikatan ini memiliki efek proliferasi, migrasi, dan peningkatan lipogenesis sel progenitor adiposa dalam proses diferensiasi adiposa. Sementara itu, Lee *et al* (2012) mencoba mencari reseptor resistin yang menginduksi inflamasi, dan mereka menyimpulkan bahwa *adenylyl cyclase-associated protein 1* (CAP1) pada monosit dan derivatnya adalah reseptor fungsional resistin dalam menginduksi inflamasi melalui *cAMP dependent signaling pathway*. Ikatan resistin dengan CAP1 dapat meningkatkan konsentrasi *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) intraseluler, aktivitas *protein kinase A* (PKA), dan aktivitas transkripsi NF- κ B dalam memproduksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6.

Regulasi TNF- α , IL-6, dan LPS terhadap ekspresi resistin dan sebaliknya terjadi melalui NF- κ B, IL-12, LPS, ICAM-1, TNFR-2, Ip-PLA2, dan CRP (Pang dan Le, 2008). Akibat ikatan resistin dengan CAP1, meningkatnya cAMP intraseluler akan mengaktifasi enzim katalitik PKA dengan cara memisahkan subunit regulator dengan subunit katalitiknya. Subunit katalitik akan memfosforilasi I κ B α dan NF- κ B sehingga NF- κ B teraktivasi. NF- κ B akan mengaktifasi p50 dan p65 sehingga terjadi proses transkripsi-translasi sitokin-sitokin proinflamasi dan mo-

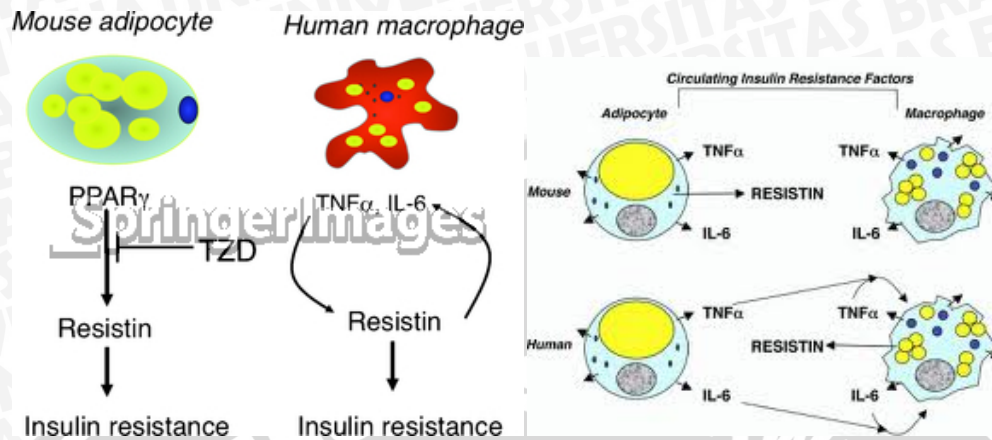
lekul adhesi (Lee *et al*, 2012). Resistin juga berpengaruh terhadap penurunan ekspresi phosphodiesterase 3b (PDE3b) sebagai enzim menghambat cAMP (Qatanani *et al*, 2009). Selain itu, resistin berperan dalam aktivasi *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) *cascade*. Cascade ini dimulai dari terikatnya RAS (GDP) dengan GTP oleh GTPase. Hal ini mengaktifasi MAP3K (Raf), lalu MAP2K, hingga akhirnya MAPK sehingga dapat mengaktifasi faktor transkripsi seperti *Myc*. Cascade ini berlanjut ke ERK1/2 dan aktivasi p38 sehingga terjadi proses transkripsi-translasi sitokin-sitokin proinflamasi dan molekul adhesi (Reilly *et al*, 2005).

Wen-lan *et al* (2007) menyatakan bahwa resistin berkontribusi dalam stimulasi proliferasi sel otot polos pada aterosklerosis. Resistin diketahui dapat menginduksi proliferasi VSMC melalui jalur *long petraxin 3*, ERK1/2 dan Akt *signaling* (Anfossi *et al*, 2010; Pang dan Le, 2008). Selain itu, resistin juga meningkatkan *fractalkine* (CX3CL1) dan reseptornya (CX3CR1) pada VSMC melalui TLR4 dan Gi-protein *signaling*. Fungsi CX3CL1 adalah mengekshibisi efek kemo-taktik monosit yang bermigrasi (Gan *et al*, 2013). ET-1 yang meningkat akibat resistin juga memberikan efek terhadap VSMC, antara lain menginduksi proliferasi, migrasi, kontraksi, sintesis dan remodeling matriks ekstraseluler, serta ekspresi berbagai faktor pertumbuhan proaterogenik (Anfossi *et al*, 2010). Selain itu, stress pada VSMC juga terbukti meningkatkan ekspresi resistin melalui ROS dan jalur p38 MAPK dan STAT3 (Wang *et al*, 2010).

Selain itu, Reilly *et al* (2005) mengungkapkan bahwa pemberian resistin juga dapat meningkatkan ekspresi molekul adhesi pada sel endotel manusia. Verma *et al* (2003) menyatakan bahwa resistin dapat meningkatkan ET-1, VCAM-1, dan MCP-1, dan menurunkan kadar TRAF3, inhibitor penting pada

CD40 *signaling*. Aktivitas resistin diduga terjadi akibat ikatannya dengan *toll-like receptor 4* (TLR4) pada membran sel endotel pembuluh darah. Ikatan ini akan mengaktivasi jalur p38 melalui jalur ROS-MKP-1 sehingga terjadilah proses transkripsi-translasi molekul adhesi. Diketahui pula bahwa aktivasi p38 ini juga berpengaruh pada peningkatan permeabilitas endotel melalui hambatan sintesis *tight junction protein* seperti *zonula occludens 1* (ZO-1) dan *occludin* (Jamaluddin *et al*, 2013). Sehingga dapat disimpulkan, dengan adanya molekul atraktan, molekul adhesi, dan peningkatan permeabilitas endotel, migrasi dan invasi monosit ke sub intima akan terjadi dengan sangat mudah.

Telah disebutkan bahwa resistin pada tikus diekspresikan secara eksklusif oleh jaringan adiposa, namun pada manusia resistin lebih dominan diproduksi oleh sel monosit dan derivatnya (Wen-lan *et al*, 2007; Jung *et al*, 2006; Ahima dan Goncalves, 2011; Pang dan Le, 2006). Tercatat ada mekanisme *feedback* pada makrofag yang terjadi antar sitokin proinflamasi dan dengan resistin. TNF- α akan ditangkap oleh TNF-*receptor 2* (TNF-R2) dan mengaktivasi jalur NF- κ B, sehingga transkripsi-translasi sitokin proinflamasi kembali terulang (Choo *et al*, 2007). Begitu pula pada IL-6 yang ditangkap oleh IL-6R dan mengaktivasi jalur JAK dan aktivasi sementara STAT3 sehingga menimbulkan respon proinflamasi yang sama (Wang *et al*, 2011). Kedua sitokin ini juga diketahui dapat meningkatkan produksi resistin (Ahima dan Goncalves, 2011; Reilly *et al*, 2005; Pang dan Le, 2006), namun sejauh ini belum ada publikasi penelitian yang menyebutkan jalur sintesis resistin intraseluler. Resistin yang diproduksi akan kembali meregulasi ekspresi sitokin-sitokin proinflamasi sehingga progresivitas aterosklerosis terus berjalan.



Gambar 2.4 Sumber resistin pada hewan pengerat, dalam hal ini mencit, adalah adiposit, dan efeknya menginduksi resistensi insulin. Resistin mencit dapat dihambat oleh thiazolidinediones (TZD, *insulin sensitizer*). Resistin manusia diekspresikan oleh makrofag, dan ditingkatkan oleh sitokin proinflamasi. Patut diperhatikan mekanisme *feedback* pada gambar (Ahima dan Goncalves, 2011).

2.1.5 Komplikasi

Aterosklerosis mengakibatkan oklusi pembuluh dan manifestasi klinis bermacam-macam. Manifestasi aterosklerosis antara lain iskemia dan infark jantung, stroke, hipertensi renovaskular, dan penyakit oklusi tungkai bawah. Manifestasi pada jantung tercatat sebagai manifestasi yang paling banyak terjadi (Robinson *et al*, 2009). Data Dinas Kesehatan Indonesia menunjukkan peningkatan angka kasus penyakit jantung koroner (PJK). Seperti yang disebutkan oleh Rahman (2012), terdapat peningkatan kasus PJK sebesar 0,66% antara tahun 2005 hingga 2006. PJK ini merupakan penyebab kematian terbanyak di Indonesia, yaitu sebesar 1,08 juta jiwa (WHO, 2011). Disusul oleh kasus stroke iskemik akut, di mana terjadi peningkatan sebesar 0,55% antara tahun 2004 hingga 2009. Dilanjutkan oleh kasus penyakit arteri perifer (PAP) yang memiliki prevalensi antara 3,8% hingga 33%. Manifestasi yang bermacam-macam ini diprediksi bisa menyerang 2 dari 3 pria dan 1 dari 2 wanita di atas 40 tahun (Robinson *et al*, 2009). Aterosklerosis diprediksi menjadi penyebab nomor satu morbiditas dan mortalitas

pada tahun 2020 jika perubahan pola hidup tidak sehat tetap berlanjut di masyarakat (Rahman, 2012).

2.1.6 Terapi

Fakta bahwa aterosklerosis merupakan bagian dari proses inflamasi membuat berkembangnya obat-obatan dengan konsep dasar immunosupresan atau antiinflamasi, bahkan vaksin. Obat-obatan immunosupresan antara lain seperti cyclosporine dan sirolimus yang mengblok aktivasi sel T dan, pada dosis tinggi, menghambat proliferasi sel otot polos. Obat-obat ini menghambat lesi intima dan mencegah restenosis setelah angioplasty. Obat-obatan antiinflamasi antara lain seperti COX-2 inhibitor dan inhibitor eicosanoid lainnya. Mekanisme yang terlibat cukup rumit, karena enzim yang dihambat komponen di atas tidak hanya berperan dalam produksi eicosanoid protrombotik oleh platelet, namun juga berperan pada produksi eicosanoid antitrombotik oleh endotel. Obat-obatan jenis statin (penurun lipid) juga mengadopsi konsep antiinflamasi, yaitu dengan menghambat pembentukan asam mevalonik, sehingga dapat menurunkan kolesterol dan isoprenoid intermediet yang digunakan lipid untuk menempel ke molekul *signaling* intraseluler. Contoh statin seperti atorvastatin yang menghambat aktivasi sel T oleh antigen, meningkatkan NO endotel, fibrinolisis, dan menurunkan aktivitas platelet. Obat berikutnya adalah vaksinasi. Vaksinasi aterosklerosis dilakukan dengan induksi ox-LDL, bakteri yang mengansung fosfolipid termodifikasi tertentu, atau heat-shock protein untuk menginduksi antibody protektif atau sel T (Hansson, 2005).

2.2 Pare (*Momordica charantia*)

2.2.1 Klasifikasi dan Persebaran



Gambar 2.5 Tumbuhan pare yang merambat (Herbalbless.com), buah pare (Indiamart.com), dan biji pare (Bombayharbor.com)

Kingdom : *Plantae*
 Subkingdom : *Tracheobionta*
 Superdivision : *Spermatophyta*
 Division : *Magnoliophyta*
 Class : *Magnoliopsida*
 Subclass : *Dilleniidae*
 Order : *Violales*
 Family : *Cucurbitaceae*
 Genus : *Momordica* L.
 Species : *Momordica charantia* L.
 (United States Department of Agriculture, 2012)

Pare (*Momordica charantia*) disebut juga *pomme de merveille*, *pomo balsamo*, *balsamini longa*, *muop dang*, *tsuru reishi*, *bittergourd*, *bitter melon*, *balsam pear*, *sopropo*, *arsorossie*, *ku gua foo*, *peria*, *karela*, *balsamina*, *balsampfel*, *mara* (Lamanepa, 2005). Pare tumbuh di daerah tropis seperti Amazon, timur Afrika, Asia, Karibia, dan Amerika Selatan (Braca *et al*, 2008). Tanaman ini termasuk jenis tanaman merambat tahunan yang ramping dengan daun kuning

panjang, bunga soliter jantan dan betina tumbuh di antara ketiak daun. Buahnya dapat dideskripsikan seperti labu berkulit dan lonjong menyerupai mentimun, berwarna hijau muda (oranye-kuning saat matang). Semua bagian dari tanaman, termasuk buah, mempunyai rasa yang sangat pahit (Taylor, 2005). Ada tiga sub spesies pare yang dikenal nama daerahnya sebagai pare gajah, pare kodok, dan pare hutan. Pare gajah berbentuk panjang, berdaging tebal, dan rasanya tidak terlalu pahit, sementara pare kodok buahnya kecil-kecil dan lebih pahit, sedangkan pare hutan tumbuh liar berbuah kecil dan pahit (Lamanepa, 2005). Walau pahit, pare telah terkenal akan kegunaannya baik sebagai masakan ataupun obat-obatan (Braca *et al*, 2008). Pare memiliki biji yang sangat banyak dalam satu buahnya, berbentuk pipih dengan warna coklat kekuningan pucat (Subahara, 2004).



Gambar 2.6 Biji pare (*Momordica charantia*) (Alpine-plants-jp.com)

2.2.2 Kandungan

Tabel 2.1 Kandungan yang telah diidentifikasi pada tumbuhan pare (Taylor, 2005; Lamanepa, 2005; Kuswoyo, 2009; Popovich *et al*, 2010)

alkaloids	charantin	cryptoxanthin	charine
cucurbitins	cucurbitacins	cucurbitanes	cycloartenols
diosgenin	elaeostearic acids	erythrodiol	galacturonic acids
gentisic acid	goyaglycosides	goyasaponins	guanylate cyclase inhibitors
gypsogenin	hydroxytryptamines	karounidiols	lanosterol
lauric acid	linoleic acid	linolenic acid	momorcharasides
momorcharins	momordenol	momordicilin	momordicins
momordicinin	momordicosides	momordin	multiflorenol
myristic acid	nerolidol	oleanolic acid	oleic acid
oxalic acid	pentadecans	petroselinic acid	ribosome-inactivating
proteins	acid	rosmarinic	rubixanthin
spinasterol	steroidal glycosides	stigmasta-diols	stigmasterol
taraxerol	trehalose	trypsin inhibitors	uracil
vacine	v-insulin	verbascoside	vicine
zeatin	zeatin riboside	zeaxanthin	zeinoxanthin
kalium	vitamin C	vitamin E	beta karoten
protein MAP-30	saponin	flavonoid	polifenol
urease	antihelmintic	aspartic acid	serine
glutamic acid	threonine	alanine	g-amino butyric acid
pipecolic acid	resin	mucilage	triterpenoid

Saponin, flavonoid, dan polifenol di buah pare diketahui bertindak sebagai antioksidan kuat, sementara lectin menunjukkan aktivitas antilipolitik dan lipogennik. Alkaloid, antihelmintik, urease, saponin, alkaloid, triterpenoid, dan asam momordial diidentifikasi pada biji pare. Alkaloid di sini merupakan gugus besar dari momordisin, sementara triterpenoid merupakan gugus besar dari glikosida, saponin, resin, dan mucilage. Pada buah dan biji pare diketahui terdapat *viz. p-insulin* yang mirip dengan *bovine insulin*, karena itulah pare diyakini mempunyai efek antidiabetik (Lamanepa, 2005).

Braca *et al* (2008) telah mengisolasi komponen dalam biji pare, antara lain sesquiterpenes (71.7%), phenylpropanoids (11.0%), dan monoterpenes

(7.6%). Dari temuan ini bisa disimpulkan bahwa kandungan dominannya adalah triterpenoid (gugus besar sesquiterpenes dan monoterpenes). Sementara itu, telah diketahui bahwa saponin adalah derivat triterpenoid dengan aktivitas paling besar. Saponin umumnya berupa senyawa golongan triterpenoid residu gula larut air yang berbeda dalam jenis dan kadar gulanya. Terdapat dua kelas saponin dalam tumbuhan pare yang dikenal dengan *cucurbitane-type* dan *oleanane-type* triterpenoid, di mana diketahui ada 5 jenis triterpenoid (Popovich *et al*, 2010). Saponin inilah yang memberi rasa pahit pada seluruh bagian tumbuhan pare, dalam kasus ini adalah bijinya. Jenis saponin pada biji pare mencakup dua kelas, yaitu cucurbitane dan oleanana-tipe triterpenoid (Grover *et al*, 2003). Karena sifat amfifiliknya, saponin sangat aktif di permukaan. Aktivitas biologis mereka terkait erat dengan struktur kimia yang menentukan polaritas, hidrofobik dan keasaman senyawa (Popovich *et al*, 2010).

2.2.3 Penelitian tentang Pare (*Momordica charantia*) dan Saponin

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa komponen dalam tumbuhan pare memiliki potensi sebagai anti obesitas. Ekstrak pare dapat mempengaruhi metabolisme lemak dengan menekan lipogenesis, meningkatkan lipolisis, dan menurunkan deposisi lemak (Chen, 2004; Huang *et al*, 2008; Nerurkar *et al*, 2009). Selain itu, ekstrak biji pare mampu menghambat aktivitas enzim lipase pankreas dan menyebabkan penurunan absorpsi lemak oleh usus (Oishi *et al*, 2007). Kemampuan tersebut terjadi akibat campuran *insulin-like peptide* dan alkaloid dalam ekstrak (Danladi, 2012) melalui peningkatan *phospholipase A2* (PLA2) (Kim *et al*, 2006), penurunan ekspresi PPAR γ (Popovich *et al*, 2010), penurunan *fatty acid synthase*, *acetyl-CoA carboxylase-1*, LPL, dan *adipocyte fatty*

acid binding protein (Huang *et al*, 2008). Secara singkat, pemberian ekstrak pare dapat mempengaruhi penurunan berat badan melalui penghambatan absorpsi dan peningkatan metabolisme lemak.

Lamanepa (2005) mendokumentasikan beberapa penelitian tentang efek pare sebagai antidiabetes. Tersebut di antaranya yaitu penelitian Srivistava yang menggunakan ekstrak buah pare terbukti menurunkan kadar gula darah sampai 54%, penelitian Sarkar yang menunjukkan bahwa pare menurunkan gula darah dengan cara meningkatkan penggunaan glukosa oleh hati, dan penelitian Ahmed yang melaporkan bahwa perasan buah pare meningkatkan jumlah sel beta yang dapat memproduksi insulin. Selain itu, buah pare juga memiliki efek hipoglikemik, antioksidan, anti kanker, anti HIV, anti lipolitik, anti aterogenik, dan anti inflamasi. Penelitian terakhir adalah milik Chaturvedi yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak pare terbukti menurunkan kadar TG, LDL, dan meningkatkan HDL.

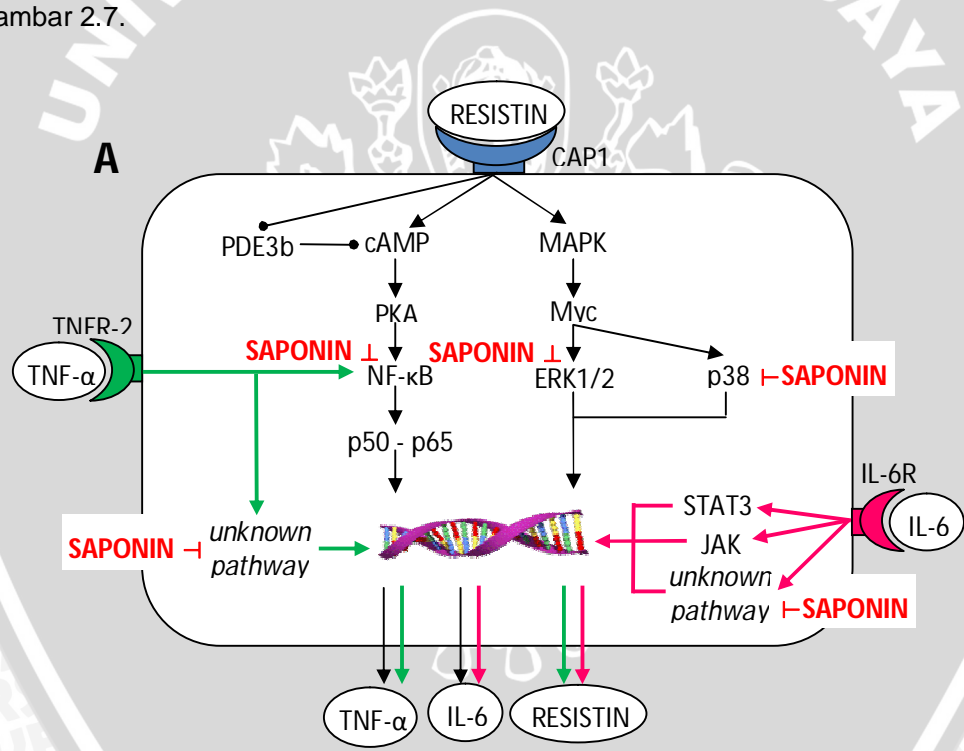
Sementara Taylor (2005) merangkum hasil penelitian mengenai komponen bioaktif triterpenes, protein, dan steroid pada pare. Diketahui bahwa komponen-komponen tersebut memiliki kemampuan inhibisi terhadap enzim guanylate cyclase (penting dalam pathogenesis psoriasis, leukemia, dan kanker). Sementara itu, momordin, alpha dan beta-momorcharin, cucurbitacin B, dan MAP-30 diketahui memiliki potensi anti kanker. MAP-30 dan alpha dan beta-momorcharin juga diketahui mempunyai potensi menghambat replikasi virus HIV dan herpes.

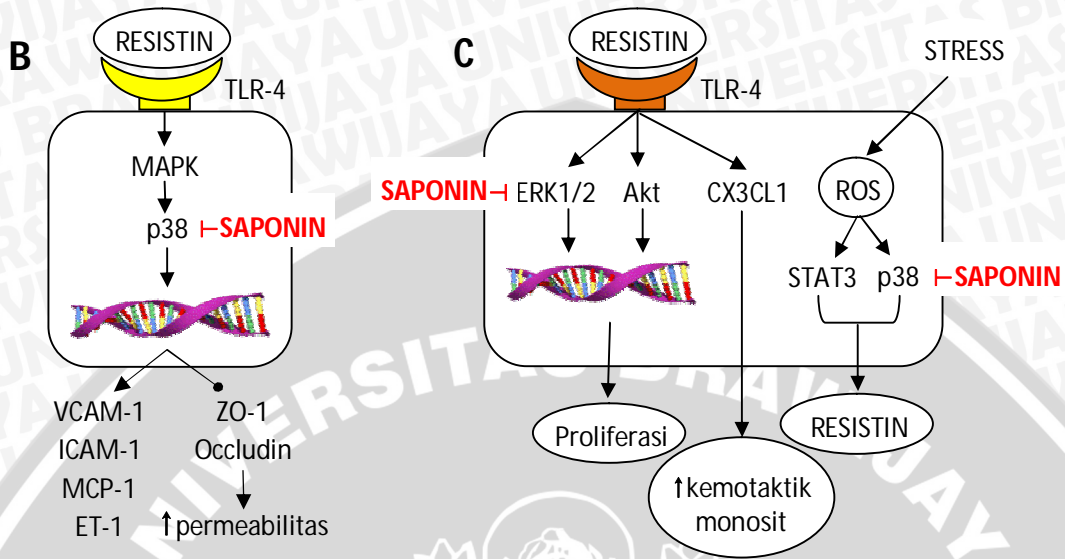
Braca *et al* (2008) menunjukkan aktivitas antimikrobal yang poten dari minyak biji pare, terutama terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*, didukung oleh Taylor (2005) yang menyatakan aktivitas yang sama juga terjadi terhadap *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Streptobacillus*, *Streptococcus*, dan *Helicobacter pylori*. Aktivitas antiprotozoal juga teridentifikasi terhadap *Entamoeba histolytica*.

Sementara itu, penelitian telah menunjukkan keberhasilan saponin sebagai agen terapi di berbagai proses inflamasi. Saponin terbukti menurunkan resistin (Kim *et al*, 2006), IL-6 (Kim *et al*, 2003), dan TNF- α (Guo *et al*, 2010). Ginsenosides Rb2, Rd and Rg1, yang merupakan ginseng total saponin, secara bermakna terbukti menurunkan kadar IL-6 yang diinduksi NE dan/atau E pada kultur sel makrofag (RAW 264.7). Hal ini membuktikan bahwa aksi inhibitor saponin ginseng pada IL-6 yang diinduksi stress immobilisasi dapat dihambat lebih baik dengan menggeblok produksinya di makrofag daripada di otak (Kim *et al*, 2003). Sementara itu, terdapat penelitian lain yang bertujuan menemukan efek pemberian ginsenoside Re, Rc and EGCG pada ekspresi mRNA di leptin, hormone sensitive lipase (HSL), dan resistin pada kultur adiposity 3T3-L1. Fokus pada resistin, dari penelitian ini ditemukan bahwa kadar resistin menurun secara bermakna pada adiposit yang diterapi dengan G-Re, G-Rc and EGCG (Kim *et al*, 2006). Kemudian, terdapat penelitian lain yang bertujuan menemukan efek *Panax notoginseng saponins* (PNS) pada ACE2 dan TNF- α pada tikus dengan remodeling infeksi post-myocardial ventrikel. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa PNS dapat menstimulasi ACE1 untuk menghambat ekspresi TNF- α dan meningkatkan antioksidan. PNS juga dapat mengurangi perlukaan patologis pada myosit jantung pada myocardial iskemia dan otot jantung (Guo *et al*, 2010).

Selain itu, komponen dalam tumbuhan pare terbukti dapat menurunkan proliferasi (Francis *et al*, 2002) dan infiltrasi makrofag (Bao *et al*, 2013), meningkatkan polarisasi makrofag (pergeseran dari sub tipe M1 (tipe makrofag proinflamasi) menjadi M2 (tipe makrofag terpolarisasi)), dan menghambat MCSF (Yui *et al*, 2001) yang dapat menghambat resistin secara tidak langsung. Beberapa penelitian telah membuktikan efek ekstrak pare, biji pare, maupun fraksi saponin

terhadap aktivitas beberapa jalur intraseluler, antara lain peningkatan 5' *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) (Bao *et al*, 2013), hambatan aktivitas pengikatan NF- κ B dan fosforilasi p38, JNK, ERK/MAPK (Kobori *et al*, 2008), dan Cdk2 *pathway* (Kim *et al*, 2006) serta penurunan PPAR γ pada jaringan adiposa (Popovich *et al*, 2010). Reseptor saponin pada sel endotel masih belum ditemukan, namun kompleks saponin-reseptor diketahui dapat bertranslokasi ke dalam nukleus dan mempengaruhi pola transkripsi (Francis *et al*, 2002). Aktivitas inhibisi saponin dalam patogenesis aterosklerosis diringkas dalam Gambar 2.7.





Gambar 2.7 Mekanisme saponin dalam menghambat progresivitas aterosklerosis. (A) Pada makrofag, saponin menghambat fosforilasi NF-κB, ERK1/2, dan p38 *signaling pathway*, sehingga menurunkan produksi sitokin proinflamasi, dalam hal ini TNF-α dan IL-6. Selain itu juga menghambat sintesis resistin dalam mekanisme yang belum jelas. (B) Pada endotel, saponin menghambat p38 sehingga menurunkan produksi molekul adhesi dan menurunkan inhibisi ZO-1 dan occludin. (C) Pada VSMC, saponin menghambat ERK1/2 dan p38 sehingga menurunkan proliferasi sel otot polos dan produksi resistin.

Ket: → (menginduksi), - (menghambat), —● (menghambat)