

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit vaskular

2.1.1 Penyakit degenerative

Penyakit degeneratif adalah suatu istilah medis untuk menjelaskan penyakit tidak menular yang muncul di usia pertengahan dan usian tua, akibat proses kemunduran fungsi sel tubuh. Penyakit degeneratif merupakan penyakit kronik menahun yang banyak mempengaruhi kualitas hidup serta produktifitas seseorang. Penyakit-penyakit degeneratif tersebut antara lain penyakit kardiovaskuler (termasuk hipertensi), diabetes melitus dan kanker (Brunner & Suddarth, 2002).

Penyakit kronis butuh waktu bertahun-tahun sebelum berkembang ke tahap di mana gejala yang jelas muncul. Kontributor utama terjadinya penyakit kronis adalah pola hidup yang tidak sehat seperti kebiasaan merokok, minum alkohol, pola makan dan obesitas, aktivitas fisik yang kurang, stres, dan pencemaran lingkungan.

Penyakit degenerative kardiovaskular yang utama yaitu penyakit jantung koroner dan hipertensi. Penyakit jantung koroner terutama disebabkan oleh kelainan miokardium akibat insufisiensi aliran darah koroner karena arterosklerosis yang merupakan proses degeneratif, di samping faktor-faktor lainnya (Handajani, *et al.*, 2009).

Penyakit degeneratif tentunya timbul karena penambahan usia. Dengan bertambahnya usia, fungsi – fungsi sel tubuh sudah mulai menurun. Hal ini dapat diperburuk oleh pola hidup yang tidak sehat seperti kurangnya beraktifitas, makan makanan tinggi lemak, merokok, dan lain – lain.

Penyakit degeneratif sebenarnya dapat diminimalisasi, dengan cara meminimalkan faktor resiko penyebabnya, karena memang kasus penyakit degeneratif

pada umumnya disebabkan oleh faktor resiko yang telah diketahui (Brunner & Suddarth, 2002). Selain menjauhi faktor resiko, perlu deteksi dini untuk mengendalikan perkembangan penyakit kronis ini.

2.1.2 Atherosklerosis

Pengertian mengenai aterosklerosis mulai berkembang setelah adanya hipotesis response to injury dan hipotesis kelainan lipid. Aterosklerosis adalah perubahan dinding arteri yang ditandai adanya akumulasi lipid ekstra sel, rekrutmen dan akumulasi leukosit, pembentukan sel busa, migrasi dan proliferasi miosit, deposit matrik ekstra sel (misalnya: kolagen, kalsium), akibat pemicuan multifaktor berbagai patogenesis yang bersifat kronik progresif, fokal atau difus, bermanifestasi akut maupun kronis, serta menimbulkan penebalan dan kekakuan arteri (Wijaya,2011).

Pada aterosklerosis, arteri tertutup oleh akumulasi plak. Plak aterosklerosis terdiri dari tiga komponen utama. Pertama adalah sel, termasuk sel otot polos, makrofag, dan leukosit. Kedua adalah matriks ekstrasel, termasuk kolagen, serat elastik, dan proteoglikan. Ketiga, plak juga terdiri dari lemak intrasel dan ekstrasel (Robbins, 2007). Penumpukan ini membuat bentuk dari lumen pembuluh darah menjadi tidak rata, memicu sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF α untuk datang. Hal ini membuat makrofag pun datang untuk merusak hal yang tidak normal ini. Inflamasi pun terjadi, Disamping itu, makin menebalnya lapisan pembuluh darah membuat robeknya lapisan dinding sehingga terjadi bekuan darah yang malah dapat menyumbat aliran darah dalam arteri (Salma, 2011).

Terdapat beberapa penyebab mengenai apa yang pertama kali menyebabkan kerusakan sel-sel endotel dan mencetuskan rangkaian proses aterogenesis diatas. Dapat dikatakan bahwa beberapa proses pencetus yang terlibat adalah berlainan, dengan derajat yang berbeda-beda, pada orang yang berbeda pula. Menurut Corwin (2000). Penyebab

aterosklerosis antara lain kolesterol serum darah yang tinggi, tekanan darah tinggi kronis, infeksi virus dan kadar besi yang tinggi dalam darah.

Penyebab pertama ialah kolesterol serum yang tinggi, penyebab ini menandakan kadar kolesterol serum dan trigliserida yang tinggi dapat menyebabkan pembentukan aterosklerosis. Pada pengidap aterosklerosis, pengendapan lemak yang disebut *foam cell*, ditemukan di seluruh kedalaman tunika intima, meluas ke dalam tunika media. Kolesterol dan trigliserida dibawa di dalam darah terbungkus dalam protein pengangkut lemak yang disebut lipoprotein. Lipoprotein berdensitas tinggi (*high-density lipoprotein*, HDL) membawa lemak keluar untuk diuraikan, dan diketahui bersifat protektif melawan aterosklerosis. Tetapi, lipoprotein berdensitas rendah (*low-density lipoprotein*, LDL) dan lipoprotein berdensitas sangat rendah (*very-low density lipoprotein*, VLDL) membawa lemak ke sel tubuh, termasuk sel endotel arteri. Lipoprotein merembes ke dalam sel akibatnya kolesterol dan trigliserida dilepaskan di dalam sel. Di dinding arteri, oksidasi kolesterol dan trigliserida menyebabkan pembentukan radikal-radikal bebas yang diketahui merusak sel-sel endotel. (Corwin, 2000)

Tekanan darah yang tinggi secara kronis menimbulkan gaya regang atau gaya potong yang merobek lapisan endotel arteri dan arteriol. Gaya regang terutama timbul ditempat-tempat arteri bercabang (*bifurkasi*) atau percabangan, yang merupakan ciri dari arteri koroner, aorta dan arteri-arteri serebrum. Dengan robeknya lapisan endotel, maka timbul kerusakan yang berulang-ulang sehingga terjadi siklus peradangan, penimbunan sel darah putih dan trombosit. Serta pembentukan bekuan. Setiap thrombus yang terbentuk dapat terlepas dari arteri sehingga terjadi embolus dibagian distal. (Corwin, 2000).

Infeksi virus dapat mencetuskan suatu siklus peradangan. Sel-sel darah putih dan trombosit datang ke daerah tersebut dan terbentuklah bekuan dan jaringan parut. Virus spesifik yang diketahui berperan dalam peradangan ini ialah sitomegalovirus, anggota dari family virus herpes. (Corwin, 2000).

Nomenclature and main histology	Sequences in progression	Main growth mechanism	Earliest onset	Clinical correlation
Type I (initial) lesion isolated macrophage foam cells	<pre> graph TD I((I)) --> II((II)) II --> III((III)) III --> IV((IV)) IV --> V((V)) V --> VI((VI)) V --> IV VI --> V </pre>	growth mainly by lipid accumulation	from first decade	clinically silent
Type II (fatty streak) lesion mainly intracellular lipid accumulation			from third decade	
Type III (intermediate) lesion Type II changes & small extracellular lipid pools				
Type IV (atheroma) lesion Type II changes & core of extracellular lipid		accelerated smooth muscle and collagen increase	from fourth decade	clinically silent or overt
Type V (fibroatheroma) lesion lipid core & fibrotic layer, or multiple lipid cores & fibrotic layers, or mainly calcific, or mainly fibrotic				
Type VI (complicated) lesion surface defect, hematoma-hemorrhage, thrombus		thrombosis, hematoma		

Gambar 2.1 Proses Aterosklerosis (Corwin, 2000)

2.1.2.1 Faktor Risiko

Pembentukan Aterosklerosis dipengaruhi oleh faktor risiko, yaitu sesuatu yang meningkatkan peluang seseorang untuk menjadi sakit dan atau menambah progresifitas penyakit (William, 1999). Pada aterosklerosis, faktor risiko yang ada dibedakan menjadi faktor risiko yang dapat dimodifikasi yaitu dapat diubah yaitu faktor risiko ini dapat dikurangi dalam progresifitas penyakit seperti dikontrol, diterapi atau dimodifikasi agar tidak mencetuskan dan memperburuk penyakit, dan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi yaitu faktor risiko sudah dimiliki seseorang tersebut dan tidak dapat diubah. (WHO,2011)

Faktor risiko yang dapat dimodifikasi antara lain diet tinggi lemak, tingginya kadar kolesterol (hiperkolesterolemia), kegemukan (obesitas), tekanan darah tinggi (hipertensi), peningkatan gula darah (diabetes), dan kurangnya aktivitas fisik, dan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi antara lain usia, jenis kelamin dan riwayat keluarga (WHO, 2011; Guyton, A.C., Hall, J.E., 2006).

Hipertensi menempati urutan pertama penyebab penyakit kardiovaskular sebanyak 13%, diikuti dengan penggunaan tembakau 9 %, Peningkatan gula darah 6 %, kurangnya aktivitas fisik 6% dan obesitas 5%. (WHO,2011). Menurut The Seventh Report of Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment for High Blood Pressure (JNC-7) Normotensi atau tekanan darah normal memiliki kadar 120 mmHg sistolik dan di bawah 80 mmHg diastolik. Tekanan darah sistolik di antara 120 dan 139 mmHg dan tekanan darah diastolik di antara 80 dan 89 mmHg disebut prehipertensi dan harus melakukan modifikasi gaya hidup untuk mencegah penyakit kardiovaskular. Pada hipertensi, stres dan renin angiotensin aldosteron sistem (RAAS) memicu terjadinya aterosklerosis. Stres mekanik mengenai jantung dan pembuluh darah. Jantung mengalami peningkatan beban kerja karena harus memompa melawan resistensi perifer yang meningkat, sementara dinding pembuluh darah akan melemah akibat proses degeneratif aterosklerosis. (Masao et al., 1997)

Faktor risiko merokok semakin besar menjadi penyakit kardiovaskular jika perokok ialah wanita, merokok semenjak usia muda dan perokok berat. Kandungan dari rokok yaitu nikotin meningkatkan denyut jantung dan tekanan darah sehingga membuat jantung bekerja lebih keras. (Teo, 2006). Baik wanita dan laki-laki yang menderita diabetes, memiliki peningkatan ratio penyakit kardiovaskular, hiperglikemia berhubungan dengan fungsi endotel mikrovaskular yang terganggu (Farkouh, 2011) . Dikatakan memiliki aktifitas fisik yang cukup jika sekurang-kurangnya melakukan lima kali atau lebih aktifitas fisik dalam intensitas sedang selama 30 menit dalam satu minggu (WHO,2011). aktifitas fisik mempertahankan kesehatan vaskuler otak dengan menurunkan tekanan darah, meningkatkan profil lipoprotein, dan memicu produksi NO oleh endotel (Weuve, 2004).

Asupan diet tinggi lemak tersaturasi, lemak trans dan garam, dan rendahnya asupan buah, sayur dan ikan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular (WHO, 2011). Hiperkolesterolemia menyebabkan aterosklerosis melalui komponen lipid yang merusak endotel, sehingga endotel menjadi disfungsi, khususnya LDL (Low density Lipoprotein) (Andi,1995). Obesitas berhubungan kuat dengan faktor risiko penyakit kardiovaskuler, sebanding dengan hipertensi, diabetes dan hiperkolesterolemia (WHO,2011).

Risiko Penyakit kardiovaskular meningkat seiring pertambahan usia, dengan bertambahnya usia, jantung akan mengalami perubahan fisiologis walaupun tidak adanya penyakit. Pria memiliki risiko lebih tinggi daripada wanita premenopause, tetapi ketika menopause, tingkat risiko wanita dan pria sama tingginya terhadap penyakit kardiovaskuler. Hal ini dikarenakan perbedaan hormon seks yang dimiliki oleh wanita yang bersifat protektif terhadap penyakit kardiovaskular sedangkan hormon seks pada pria bersifat aterogenik. Termasuk risiko stroke, antara laki-laki dan wanita sama. Adanya Riwayat keluarga yang menderita penyakit kardiovaskuler mengindikasikan seseorang untuk menderita penyakit yang sama, jika terdapat keluarga wanita sebelum usia 65 tahun dengan penyakit kardiovaskuler, dan pria sebelum usia 55 tahun , risiko untuk terkena penyakit kardiovaskuler lebih tinggi. (WHO,2011)

2.1.2.2 Atherosclerosis diakibatkan infeksi kronis

Pembentukan atherosclerosis diawali dengan sirkulasi monosit menempel pada endotel, penempelan endotel ini diperantarai oleh beberapa molekul adhesi pada permukaan sel endotel, yaitu *intercellular adhesion molecule -1* (ICAM-1), endotelial *leucocyte adhesion molecule* (ECAM-1) dan *vaskular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1). Molekul adhesi ini diatur oleh sejumlah faktor yaitu produk

bakteri lipopolisakarida, prostaglandin dan sitokin. Setelah berikatan dengan endotel kemudian monosit berpenetrasi kelapisan lebih dalam dibawah lapisan intima, terjadi pembesaran monosit dan terbentuk *atheromatous plaque* (Mealey & Perry, 2006; Kinane, 1998).

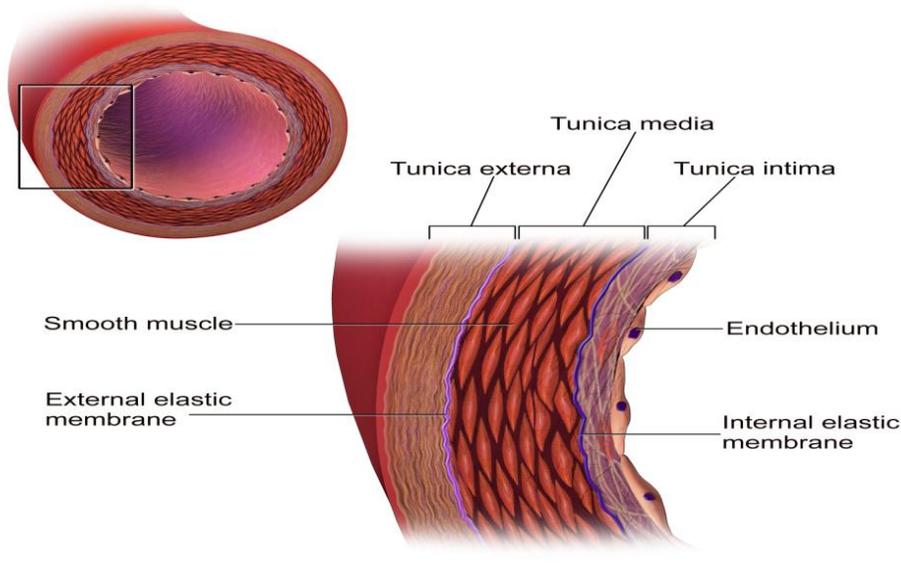
Pembentukan *atheromatous plaque* dan penebalan dinding pembuluh darah menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah, akibatnya terjadi berkurangnya aliran darah. Trombosis sering terjadi setelah pecahnya *plaque atheromatous*, terjadi pengaktifan platelet dan jalur koagulasi. Kumpulan platelet dan fibrin dapat menutupi pembuluh darah menyebabkan iskemi seperti angina atau *myocardial infarction*(Mealey & Perry, 2006; Kinane, 1998).

2.2 Endotel

Pembuluh darah manusia memiliki 3 lapisan disebut dengan tunika, yang terdiri dari tunika intima, tunika media dan tunika adventitia. Tunika terdiri atas satu lapis sel endotel, yang ditopang oleh lapisan subendotel jaringan ikat longgar yang kadang-kadang mengandung sel otot polos (Juncqueira, 2003).

Tunika intima atau disebut juga dengan tunika interna terdiri atas selapis sel endotel yang membatasi permukaan dalam pembuluh. Di bawah endotel adalah lapisan subendotel, terdiri atas jaringan penyambung halus yang kadang-kadang mengandung sel otot polos yang berperan untuk kontraksi pembuluh darah . Tunika media terdiri dari sel-sel otot polos yang tersusun melingkar atau disebut sirkuler(Faller, 2004).

The Structure of an Artery Wall



Gambar 2.2 Lapisan Pembuluh Darah Manusia (Young, 2010)

2.2.1 Definisi

Sel endotel adalah sel yang melapisi bagian dalam pembuluh darah. Sel endotel membentuk lapisan tunggal atau monolayer yang melapisi seluruh sistem vaskular. Integritas struktural dan fungsional sel endotel merupakan hal penting dalam pemeliharaan homeostasis dinding pembuluh darah dan fungsi sirkulasi (Robbins, 2007).

2.2.2 Disfungsi endotel

Akibat infeksi secara berulang, integritas sel endotel terganggu dan permeabilitas sel-sel endotel terhadap berbagai bahan didalam plasma meningkat sehingga bahan-bahan tersebut memiliki akses kedalam arteri (Corwin, 2000 ; Hess, 2012). Lipid yang sebagian besar merupakan LDL dan monosit mulai menumpuk diendotel yang mengalami kerusakan. Monosit melalui endotel, memasuki lapisan intima dinding pembuluh, dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang selanjutnya mencerna dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein, sehingga penampilan makrofag menyerupai sel busa. Sel busa makrofag atau disebut *foam cell* ini kemudian bersatu pada pembuluh darah dan membentuk *fatty streak*

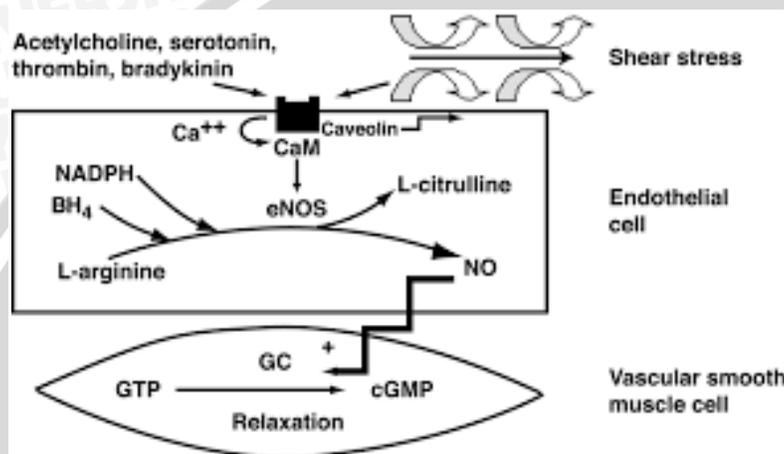
(Guyton & Hall, 2006). Dengan berjalannya waktu, *fatty streak* menjadi lebih besar dan bersatu, selain itu banyak produk peradangan yaitu makrofag yang merangsang proliferasi sel otot polos melalui pelepasan zat yang menimbulkan inflamasi dan proliferasi lebih lanjut sehingga sel-sel otot polos berproliferasi ke dalam tunika intima yang dapat membentuk plak. Penimbunan LDL ditambah proliferasi sel dapat menjadi sangat besar sehingga plak menonjol ke dalam lumen arteri dan menyebabkan gangguan aliran darah, yang dapat menyumbat seluruh pembuluh darah. Bahkan tanpa penyumbatan fibroblas plak akhirnya menimbun sejumlah besar jaringan ikat padat (sklerosis), menjadi sangat besar dan arteri menjadi kaku dan tidak lentur. Arteri yang mengalami arterosklerosis kehilangan sebagian besar distensibilitasnya dan karena daerah di dinding pembuluh darahnya berdegenerasi, pembuluh darah menjadi mudah robek. Pada tempat penonjolan plak ke dalam aliran darah, permukaan plak yang kasar dapat menyebabkan terbentuknya bekuan darah, dengan akibat pembentukan trombus atau embolus sehingga dapat menyumbat semua aliran darah didalam arteri dengan tiba-tiba (Guyton & Hall, 2006).

2.3 Nitrogen oksida

NO atau nitrogen oksida juga diketahui sebagai nitrogen monoksida, ialah suatu molekul dengan formula kimia (NO-). NO merupakan radikal bebas dan penting pada industri kimia. Pada manusia, NO penting sebagai sinyal molekul interseluler pada proses fisiologis maupun patologis. NO berwujud gas dan merupakan faktor pelepas yang berasal dari endotel (*endothelium-derived relaxing factor, EDRF*) yang berdifusi ke otot polos sekitar. NO berfungsi fisiologis sebagai vasodilator kuat dengan mempunyai waktu paruh yang sedikit didalam darah sekitar 3-4 detik dikarenakan NO dapat bereaksi dengan oksigen dan superoksida. Kadar produksi NO yang rendah sangat penting sebagai perlindungan organ contohnya liver dari kerusakan iskemik. (Elizabeth, 1992 ; Murray, Robber K *et al*, 2009).

2.3.1 Definisi

Nitrogen oksida (NO) adalah gas terlarut yang disintesis secara terus menerus dari asam amino L – arginine di sel endotel oleh calcium – calmodulin dependent enzyme nitric oxide synthase (NOS) (Tousoulis, 2012). Nitrogen oksida disintesis oleh berbagai jenis sel di dalam tubuh, tetapi sintesis oleh endotel pembuluh darah adalah salah satu yang terpenting, karena berpengaruh pada regulasi aliran darah (Klabunde, 2011).



Gambar 2.3 Pengaruh NO pada Otot Polos Pembuluh Darah (Klabunde, 2011)

Nitric oxide memiliki berbagai macam sifat biologis yang mempertahankan homeostasis pembuluh darah, termasuk modulasi tonus pembuluh darah, regulasi pertumbuhan sel setempat, dan perlindungan pembuluh darah terhadap berbagai jenis lesi (Tousoulis, 2012). Oleh karena pentingnya fungsi NO terhadap pembuluh darah, produksi NO abnormal yang terjadi pada berbagai macam penyakit, dapat mempengaruhi aliran darah dan berbagai fungsi pembuluh darah yang lainnya (Klabunde, 2011)

2.3.2 Biosintesis nitrogen oksida

NO memiliki tiga isoform NOS yaitu NOS1 atau neuronal (nNOS), NOS 2 nama lainnya adalah iNOS atau penginduksi, NOS3 dengan nama lain endotelial (eNOS). NO

dibuat dari L-arginin dan oksigen dengan melibatkan enzim NOS menjadi L-sitrulin dan NO. (Lechner et al, 2005)

NO diproduksi dari asam amino L – arginine oleh reaksi enzimatik nitric oxide synthase (NOS). Ada dua bentuk dari NOS endothel : constitutive NOS (cNOS : tipe III) dan inducible NOS (iNOS : tipe II). Selain NOS endothel, juga terdapat NOS neural (nNOS : tipe I) yang menjalani peran sebagai transmiter di otak dan sistem saraf tepi.

Dalam keadaan normal, NO diproduksi secara berkelanjutan oleh cNOS. Aktivitas dari cNOS bergantung pada kalsium dan kalmodulin. Ada dua jalur stimulasi cNOS, keduanya berhubungan dengan pelepasan kalsium. Pertama adalah flow-dependent NO formation dan yang kedua receptor-stimulated NO formation.

Bentuk yang lain dari NOS endothel adalah iNOS yang tidak bergantung pada kalsium. Dalam keadaan normal jumlah iNOS sangat rendah. Aktivitas iNOS distimulasi dengan adanya proses inflamasi oleh endotoksin bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) (Klabunde, 2011).

Selanjutnya, setelah NO diproduksi oleh endothel pembuluh darah, dengan cepat NO akan berdifusi ke dalam darah, dimana akan berikatan dengan hemoglobin dan kemudian dipecah. NO juga berdifusi ke sel – sel otot polos pembuluh darah dimana NO akan mengikat dan mengaktifkan guanylyl cyclase. Enzim ini mengkatalisasi dephosphorylation of GTP menjadi cGMP, yang berperan menjadi second messenger untuk berbagai fungsi selular, terutama untuk sinyal relaksasi otot polos. Sesuai proses yang telah dijelaskan di atas, cGMP berperan dalam relaksasi otot polos. Beberapa mekanisme yang terjadi adalah sebagai berikut (Klabunde, 2011) :

1. Meningkatkan cGMP di dalam sel, yang mencegah masuknya kalsium ke dalam sel, dan menurunkan konsentrasi kalsium di dalam sel.
2. Mengaktifasi kanal K^+ sehingga terjadi hiperpolarisasi dan relaksasi.

3. Stimulasi cGMP-dependent protein kinase yang mengaktifkan myosin light chain phosphatase, dimana akan mengakibatkan relaksasi otot polos.

2.3.3 Fungsi nitrogen oksida pada endotel

NO melalui eNOS memiliki fungsi yang berperan penting dalam perlindungan terhadap aterosclerosis baik pada fase awal maupun pada fase lanjut aterosclerosis. Fungsi Fisiologis NO antara lain sebagai vasodilator dan penghambat agregasi platelet, penghambat adhesi leukosit dan inflamasi vaskuler. Selain itu NO juga dapat mengontrol proliferasi otot polos divaskuler, menstimulasi angiogenesis oleh eNOS sintetase, dan aktivasi endotelial progenitor sel oleh eNOS (Huige, 2011).

Pada prinsipnya relaksasi otot polos dipengaruhi oleh penurunan Ca^{2+} sebagai akibat dari pelepasannya kembali ke dalam retikulum sarkoplasma oleh Ca^{2+} ATPase. NO berperan sebagai vasodilator dan penghambat agregasi platelet memiliki mekanisme terhadap cGMP dan Ca^{2+} . eNOS memicu vasodilatasi dengan distimulasi oleh *Guanyl cyclase* dan meningkatkan cyclic GMP disel otot polos (Huige,2011). Konstriksi dan dilatasi dari pembuluh darah merupakan respon dari kebutuhan lingkungan yang dikontrol oleh perubahan kadar Ca^{2+} di sitosol dalam sel otot polos pembuluh darah. Respon dari faktor mekanik atau agonis vasoaktif, vaskuler menjadi konstriksi dikarenakan peningkatan Ca^{2+} , baik melalui influx permeabilitas Ca^{2+} atau pelepasan Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma dari penyimpanan Ca^{2+} (Akata,2007).

Selain sebagai vasodilator dan penghambat agregasi platelet, NO memiliki fungsi lain yaitu dapat menghambat adhesi leukosit dan inflamasi. Endotelial NO mengontrol ekspresi gen yang terlibat dalam aterosclerosis, salah satu ekspresi gen yang dapat dikontrol adalah Kemoatraktan protein (MCP-1) (Zeicher, 1995). Endotelial NO juga mampu menghambat adhesi leukosit ke dinding vaskuler. Ikatan leukosit CD 11atau CD18 dengan permukaan sel endotel dihambat ikatannya melalui penekanan ekspresi CD 11 atau CD18 di leukosit.

Penempelan leukosit merupakan fase awal dari berkembangnya aterosklerosis, dan oleh karena itu NO dapat mencegah terjadinya aterogenesis difase awal. Gangguan Integritas dari pertahanan endotelial monolayer dapat memicu agen-agen proinflamasi. NO mencegah apoptosis sel endotel, yang diinduksi oleh sitokin proinflamasi dan faktor proaterosklerosis termasuk ROS (*reactive oxygen species*) Angiotensin II (AT). Penekanan apoptosis sel endotel ini merupakan fungsi NO sebagai antiinflamasi (Huige,2011).

Pada proses ateroklerosis makrofag dan sel T sebagai pertanda inflamasi melepaskan sitokin dan growth factor. Sitokin akan meningkatkan sintesis *Platelet Activating Factor* (PAF), dimana faktor tersebut berfungsi sebagai mediator dari agregasi dan degranulasi platelet, permeabilitas vaskuler, peningkatan oksidatif, kemotaksis dari leukosit, serta metabolisme asam arakidonat di fagosit (Albertini, 2008). Dalam hal ini NO menghambat proliferasi otot polos melalui perlindungan endotel dari paparan PAF dan efek antiproliferasi tersebut dimediasi oleh cGMP. Melalui fungsi ini, NO dapat dikatakan mencegah fase aterogenesis untuk berkembang lebih lanjut membentuk fibrous plak (Huige,2011).

Stimulasi Angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru salah satu fungsi dari NO melalui eNOS, terutama terhadap keadaan aterosklerosis tingkat lanjut seperti post infark (Murohara,1998; Huige, 2011). Aktifasi *endotelial progenitor cell* (EPC) oleh eNOS, pada defisiensi eNOS, mobilisasi EPC dari sumsum tulang terganggu (Aicher, 2003 ; Huige, 2011), sehingga pembentukan sel endotel terganggu , baik pada pembentukan kolateral pada post iskemik maupun pada pembentukan vaskuler yang baru.

2.3.4 Peran nitrogen oksida pada migrasi endotel

Migrasi sel merupakan proses yang kompleks yang membutuhkan berbagai koordinasi inter- dan intraseluler seperti reorganisasi sitoskeleton, renovasi matriks, modulasi adesi sel dan induksi kemoatraktan. Sel endotel yang mengalami perlukaan melakukan regenerasi

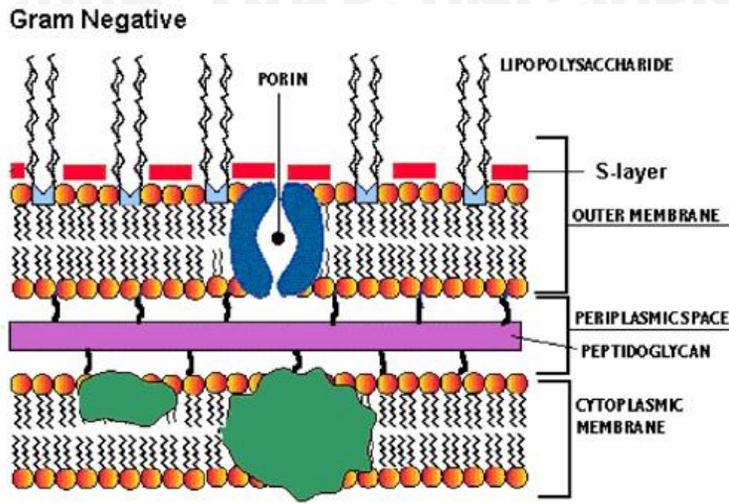
salah satunya dengan migrasi dan proliferasi pada sel-sel endotel. Fasilitasi angiogenesis dilakukan melalui aktivitas parakrin, yaitu dengan melepaskan mediator yang berperan penting pada aktivasi sel endotel matur, diantaranya NO. *Nitric Oxide* diketahui dapat mempengaruhi fungsi migrasi sel endotel yang penting dalam angiogenesis, yaitu melalui jalur signaling *vascular endothelial growth factor and receptors/ vascular endothelial receptor-2* (VEGF/ VEGFR2). Peran NO sebagai regulator utama dari migrasi sel dan angiogenesis berdasarkan pengamatan bahwa melalui NO diproduksi oleh eNOS diikuti aktivasi VEGFR-2/PI3K/Akr-PKB dalam sel endotel yang teraktivasi oleh VEGF (Nugrahenny *et al.*, 2012; Lamalice *et al.*, 2007; Murohara *et al.*, 1999).

Dalam sel endotel, VEGF menginduksi akumulasi *stress fiber* yang terkait dengan polimerisasi aktin dan pembentukan *focal adhesion* pada sel endotel. Reorganisasi sitoskeletal ini menghasilkan aktivitas motogenik sel. VEGF ini melalui VEGFR2 mengatur migrasi sel endotel melalui induksi aktivasi *Stress-activated Protein Kinase-2/p38* (SAPK2/p38), fosforilasi *Focal Adhesion Kinase* (FAK), dan meningkatkan aktivitas migrasi. Aktivasi SAPK2/p38 memicu polimerisasi aktin, sedangkan FAK memulai perakitan *Focal Adhesion*. Kedua proses ini berperan dalam pembentukan *stress fiber* yang penting untuk proses migrasi sel endotel. Polimerisasi aktin dan perakitan *Focal Adhesion* ini akan mengakibatkan reorganisasi sitoskeleton yang juga dibutuhkan untuk migrasi sel (Rousseau *et al.*, 2000).

2.4 Lipopolisakarida

Lipopolisakarida merupakan komponen utama membrane luar bakteri gram-negative. LPS terdiri dari gabungan antara senyawa lipid dan rantai polisakarida dengan ikatan kovalen. Sifat dari membrane luar bakteri ini adalah endotoksin, dimana endotoksin akan memicu aktivasi sistem kekebalan tubuh. Terjadi interaksi antara makrofag, monosit, dan neutrophil, yang menghasilkan mediator – mediator inflamasi. Beberapa mediator inflamasi

seperti interleukin (IL), interferon(IF), *platelet activating factor*(PAT), dan *tumor necrosis factor*(TNF).



Gambar 2.4 Lipopolisakarida pada Membran Luar Bakteri Gram Negatif (Sondi, 2004)

2.4.1 Pengaruh LPS terhadap reaksi inflamasi

Dalam respon terhadap paparan LPS sistemik, host akan memproduksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β serta interferon gamma (IFN- γ). Produksi sitokin proinflamasi dan induksi mediator yang lebih distal seperti NO, *platelet activation factor* (PAF) dan prostaglandin menyebabkan hipotensi, perfusi organ inadekuat dan kematian sel yang berhubungan dengan *Multiple Organ Dysfunction Syndrome* (MODS). Status proinflamasi ini didefinisikan sebagai *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS). Induksi sistem imunitas innate secara besar-besaran ini dapat dan seringkali menimbulkan efek katastrofik pada pasien dengan sindroma sepsis (Kayser *et al.*, 2005; Singleton *et al.*, 2006).

LPS secara langsung menimbulkan respon dari sel endotel yang hampir sama dengan respon tubuh yang timbul saat terjadi sepsis, seperti peningkatan produksi sitokin proinflamasi (IL-6, IL-8, IL-1 β), peningkatan ekspresi molekul adhesi (E-*selectin*, ICAM-1, VCAM-1 dan peningkatan ekspresi *tissue factor*. Selain aktivasi tersebut, LPS juga

menginduksi *programmed cell death* atau apoptosis pada sel endotel. LPS molekul signal juga memiliki peran dalam mengatur aktivasi proapoptotik NF- κ B yang diinduksi LPS dan respon nonapoptotik dari sel endotel. Apoptosis endotel terlibat dalam patogenesis dari berbagai penyakit seperti aterosklerosis, gagal jantung kongestif dan *systemic capillary leak syndrome* (Bannerman dan Goldblum, 2003).

2.5 Reactive Oxygen Species (ROS)

2.5.1 Definisi

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Clarkson and Thompson, 2000). Kebanyakan radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum menyatu dengan atom lain. Simbol untuk radikal bebas adalah sebuah titik yang berada di dekat simbol atom (R \cdot). ROS (Reactive Oxygen Species) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain superoxide anion (O $_2^{\cdot-}$), hydroxyl radicals (OH \cdot), dan peroxy radicals (RO $_2\cdot$). Yang nonradikal misalnya hydrogen peroxide (H $_2$ O $_2$), dan organic peroxides (ROOH) (Halliwell and Whiteman, 2004).

2.5.2 Pengaruh Lipopolisakarida terhadap ROS

Respons sistemik terhadap LPS akan menyebabkan aktivasi NF- κ B sebagai salah satu protein faktor transkripsi yang akan meningkatkan produksi mediator-mediator inflamasi atau sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β serta IFN- γ (Rose *et al.*, 2004). *Tumor necrosis factor- α* dan IL-1 menyebabkan peningkatan sintesis dan merangsang produksi IL-

6, IL-8 dan IL-10. *Tumor necrosis factor- α* dan IL-1 memperantarai inflamasi melalui produksi IL-8 dan dengan merangsang ekspresi dari molekul adhesi (Abbas, 2007).

Sitokin aktivator makrofag yang poten adalah IFN- γ . Setelah bakteri masuk ke dalam fagolisosom sel dalam proses fagositosis, makrofag akan membunuh dengan pembentukan ROS melalui jalur *Reactive Oxygen Intermediates* (ROI) (Abbas, 2007). Adanya induksi TNF- α terhadap sel endotel mengakibatkan peningkatan produksi ROS dari mitokondria sel endotel. Meningkatnya TNF- α akan mengaktifkan *signaling cascade* dalam sel yang akan memacu pembentukan ROS oleh mitokondria (Corda *et al.*, 2001).

Dalam respon terhadap stres dan *injury*, sel endotel akan menghasilkan ROS dan nitrogen *intermediates*. Pembentukan radikal bebas ini akan berakibat ketidakseimbangan antara keadaan pro- dan antioksidan. Hal ini lebih lanjut mengakibatkan terjadinya stres oksidatif dan kerusakan sel. Meningkatnya ROS atau berkurangnya antioksidan akan menimbulkan terjadinya apoptosis di berbagai jenis sel, termasuk sel endotel. Lipopolisakarida memiliki efek timbulnya ROS dalam sel endotel. Timbulnya ROS oleh LPS ini berkaitan dengan onset apoptosis. *Reactive oxygen species* meningkatkan produksi faktor pro-apoptotik melalui peningkatan permeabilitas membran mitokondria. Salah satu dari faktor tersebut adalah sitokrom-c, kofaktor yang menjalankan pengaturan *caspase-9-activating apoptosome*. ROS juga dilaporkan meningkatkan ekspresi dan aktivasi dari *caspase-8* dan juga *caspase-3* (Bannerman dan Goldblum, 2003).

Kunci dari aktivasi apoptosis sel endotel adalah aktivasi NF- κ B dan translokasi nuklear, yang dibutuhkan dalam berbagai aktivitas sel, termasuk juga ekspresi dari beberapa sitokin dan molekul adhesi. Beberapa studi mengatakan beberapa molekul *signaling* yang bekerja sebagai mediator apoptosis juga berkontribusi dalam meregulasi aktivasi NF- κ B (Bannerman dan Goldblum, 2003).

2.5.3 Pengaruh ROS terhadap Disfungsi Endotel

Dalam beberapa kondisi patologis, seperti peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) pada penyakit degeneratif kardiovaskuler mengakibatkan area besar permukaan sel endotel dan kesulitan untuk melakukan regenerasi. ROS dapat merusak fungsi ini.

Dengan berikatan dengan nitric oxide, ROS dapat menurunkan kadar NO yang seharusnya berfungsi untuk proteksi vascular. Kadar NO yang turun dapat menyebabkan disfungsi endotel, sehingga endotel mudah terkena jejas dan terjadilah proses inflamasi yang memicu penyakit degenerative vascular.

2.6 Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs)

2.6.1 Kultur HUVECs

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan jaringan dengan cara mengisolasi bagian jaringan, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik, yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian jaringan dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi jaringan lengkap. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan jaringan dengan menggunakan bagian vegetatif jaringan menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril (Arjita, 2002).

Kultur sel adalah suatu proses dimana suatu [sel](#) dari suatu jaringan diambil dan ditumbuhkan pada kondisi yang terkontrol dan [aseptik](#). Sel yang digunakan untuk proses kultur biasanya diambil dari jaringan [eukaryota](#). Sel hasil kultur dapat hidup secara in vitro dan masih mempunyai sifat-sifat mirip dengan sel intak/sel asalnya dan lepas dari pengaruh sistemik. Sel – sel tertentu tetap mengadakan proliferasi tetapi masih dalam keadaan tidak terdiferensiasi (Moldovan et al, 2000).

Sel endotel pembuluh darah merupakan satu lapis sel yang terletak diantara aliran darah dan jaringan. Selain sebagai barier terhadap difusi makromolekul ke jaringan, sel endotel pembuluh darah juga mempunyai fungsi lain, seperti pengaturan tonus otot polos pembuluh darah, haemostasis dan koagulasi, pertahanan tubuh dan angiogenesis. Dalam mempelajari peran sel endotel (struktur dan fungsi) pada patomekanisme penyakit atau mengembangkan obat yang bertarget pada sel endotel, dapat digunakan penelitian in vivo menggunakan hewan coba atau manusia dan atau in vitro menggunakan kultur sel. Ada dua sumber sel yang dapat dipergunakan dalam pembuatan kultur sel endotel yaitu sel binatang dan sel manusia. Pemilihan sumber sel endotel tergantung pada tujuan penelitian dan ketersediaan sel. Untuk kultur sel endotel pembuluh darah yang berasal dari sel manusia yang lazim digunakan berasal dari vena umbilical (Nurhidayat, 2010).

Umbilikus yang digunakan harus memenuhi kriteria inklusi, yaitu didapatkan dari hasil persalinan Sectio Caesaria (SC) yang meliputi kehamilan fisiologis (normal), kehamilan dengan pinggul sempit dan kehamilan dengan letak melintang. Sedangkan umbilikus hasil persalinan SC yang tidak boleh digunakan adalah kehamilan disertai infeksi, hipertensi atau kondisi ketuban pecah dini (Djati MS et al, 2010).

2.7 Manggis (*Garcinia Mangostana* L.)

2.7.1 Taksonomi

Secara taksonomi, manggis diklasifikasikan sebagai berikut (Verheij, 1997):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonaceae
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Guttiferae

Genus : *Garcinia*
Spesies : *Garcinia mangostana* L

2.7.2 Morfologi

Manggis dengan nama latin *Garcinia mangostana* Linn. Merupakan tanaman buah berupa pohon yang banyak tumbuh secara alami pada hutan tropis di kawasan Asia Tenggara, seperti di Indonesia, Malaysia, dan Thailand. Tanaman manggis mudah dijumpai di Indonesia dari Sabang hingga Merauke. Tanaman yang sekerabat dengan kandis ini dapat mencapai tinggi 25 m dengan diameter batang mencapai 45 cm. Pohon manggis mampu tumbuh dengan baik pada ketinggian 0-600 m dpl, suhu udara rata-rata 20-30°C, pH tanah berkisar 5-7. Lahan dengan pH asam seperti di lahan gambut, manggis tetap mampu tumbuh dengan baik. Curah hujan yang sesuai untuk pertumbuhan manggis berkisar 1500 - 300 mm/tahun yang merata sepanjang tahun (Mardiana, 2012).

Manggis mempunyai batang tegak, batang pohon jelas, kulit batang coklat, dan memiliki getah kuning. Daun manggis tunggal, duduk daun berhadapan atau bersilang berhadapan. Manggis mempunyai bunga betina 1-3 di ujung batang, susunan menggarpu, dan garis tengah 5-6 cm. Kelopak daun manggis dengan dua daun kelopak terluar hijau kuning, dua yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, tumpul. Manggis mempunyai 4 daun mahkota, bentuk telur terbalik, berdaging tebal, hijau kuning, tepi merah atau hampir semua merah. Benang sari mandul (staminodia) biasanya dalam tukul (kelopak). Bakal buah beruang 4-8, kepala putik berjari-jari 5-6. Buah manggis berbentuk bola tertekan, garis tengah 3,5-7 cm, ungu tua, dengan kepala putik duduk (tetap), kelopak tetap, dinding buah tebal, berdaging, ungu, dengan getah kuning. Biji 1-3, diselimuti oleh selaput biji yang tebal berair, putih, dapat dimakan (termasuk biji yang gagal tumbuh sempurna). Manggis mempunyai waktu berbunga antara bulan Mei – Januari (Ristek, 2013)



Gambar 2.5 Buah Manggis

Manggis merupakan tumbuhan pepohonan, yang mempunyai batang berkayu, bulat, tegak bercabang simodial dan berwarna hijau kotor. Berdaun tunggal, lonjong, ujung runcing, pangkal tumpul tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 20-25 cm lebar 6-9 cm, tebal, tangkai silindris hijau. Bunga tunggal, berkelamin dua, diketiak daun. Buah seringkali, bersalut lemak berdiameter 6-8 cm dengan warna coklat keunguan. Biji bulat berdiameter 2 cm, dalam satu buah terdapat 5-7 biji (Ristek, 2013).

2.7.3 Kandungan

Selain daging buah manggis, kulit manggis juga mempunyai berbagai manfaat. Kulit manggis mempunyai kandungan yang dapat dikembangkan sebagai bahan obat – obatan. Kulit buah manggis setelah diteliti ternyata mengandung beberapa senyawa dengan aktivitas farmakologi misalnya antiinflamasi, antihistamin, pengobatan penyakit jantung, dan lain – lain. Kandungan kulit buah manggis yang dilaporkan bertanggung jawab atas beberapa aktivitas farmakologi adalah golongan xanthan. Turunan xanton yang sudah ditemukan adalah sebagai berikut Mangostin, Alfa Mangostin, Beta Mangostin, Mangostenol, Mangostanol, Mangostinon A, Mangostenon B, Tovophyllin B, Trapezifolixanthone, Garcinon B, Flavonoid Epicatechin, dan Gartanin. Xanton adalah

suatu senyawa organik dengan struktur molekul C₁₃H₈O₂. Senyawa xanton dalam kulit manggis adalah sumber antioksidan terbanyak yang ditemukan di alam. Sejauh ini kurang lebih ada 40 jenis xanton yang telah ditemukan di dalam buah manggis (Monajjemi et al, 2011).

Dari seluruh senyawa yang ada, turunan xanthone berupa α -mangostin merupakan komponen yang paling banyak dalam kulit manggis. Selain jumlahnya yang paling banyak, α -mangostin juga memiliki aktivitas biologis yang paling baik. (Parveen et al., 1991). Bila dihubungkan dengan penyakit atherosklerosis, xanton terbukti mampu menghambat oksidasi LDL, sehingga menurunkan resiko terjadinya aterosklerosis. Xanton adalah penangkap radikal bebas yang sangat kuat, yang mampu berikatan dengan elektron bebas dari radikal bebas (Farrell, 2006).

2.7.4 Manfaat Medis *Garcinia Mangostana* L.

Sejak dahulu kulit buah manggis sudah digunakan sebagai obat tradisional untuk kulit yang terinfeksi, luka, dan diare (Moongkarndi, 2004). Akhir – akhir ini banyak produk *G.mangostana* dikonsumsi untuk suplemen, dikarenakan tingkat antioxidant yang tinggi. Akhir – akhir ini banyak dilakukan penelitian mengenai fungsi *Garcinia Mangostana*. Beberapa fungsi medis yang ditemukan adalah antioxidant (α -mangostin), antitumor (garcinone E), antiinflamasi, antialergi, antibakteri, antifungal, antiviral, dan antimalarial (Pedroza-Chaverri, 2008.).

Tabel 2.1 Kepentingan Medis dan Mekanisme dari Senyawa Turunan *Xanthone* (Pedraza Chaverri et al., 2008)

Efek	Kandungan	Mekanisme
Antioksidan	Ekstrak metanol daging buah	Aktivitas <i>scavenger</i>
	Ekstrak metanol kulit buah	Penghambat produksi ROS
	Ekstrak aqua daging buah	Aktivitas <i>scavenger</i> DPPH Anticytotoxic

	Alpha dan Gamma mangostin	Metode <i>ferric thiocyanate</i>
	Gamma mangostin	Aktivitas <i>Scavenger</i> HO ⁻
	Alpha mangostin	Penghambat isoproterenol – oksidatif Penghambat oksidasi LDL
	Mangostiin	Aktivitas penghambat radikal DPPH dan ABTS
	Xanthone	<i>Scavenging</i> ONOO ⁻ Penghambat oksidasi LDL
	Ekstrak Kulit manggis	<i>Scavenger</i> HO ⁻ dan penghambat lipid peroksidasi
Anti-inflamasi	Alpha mangostin	Stabilisasi Histamin Antiinflamasi studi experimental Penghambat 12-LOX
	Gamma mangostin	5HT _{2A} antagonis reseptor Penghambat COX 1 dan COX 2
	Alpha dan Gamma mangostin	Penghambat sitotoksitas LPS, Produksi NO ⁻ dan PGE ₂

2.7.5 Antioksidan

Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Proses oksidasi adalah peristiwa alami yang terjadi di alam dan dapat terjadi dimana-mana tak terkecuali di dalam tubuh kita. Antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi atau bersifat reduktor kuat dibanding dengan molekul yang lain. Jadi keefektifan antioksidan bergantung dari seberapa kuat daya oksidasinya dibanding dengan molekul yang lain. Semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut (Indigomorie. 2009).

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu menunda, memperlambat atau menghambat reaksi oksidasi makanan atau obat. Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi sel melawan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas, seperti singlet oksigen, superoksid, radikal peroksid dan radikal hidroksil (Yuswantina, 2009). Fungsi paling efektif dari antioksidan dalam menghambat terjadinya oksidasi adalah dengan menghentikan reaksi berantai dari radikal-radikal bebas (*primary antioxidant*).

