

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Aterosklerosis

##### 2.1.1 Definisi

Aterosklerosis merupakan kondisi patologis arteri koroner ditandai dengan penimbunan abnormal lipid atau bahan lemak dan jaringan fibrosa di dinding pembuluh darah yang mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi arteri dan penurunan aliran darah ke jantung. Aterosklerosis diduga disebabkan akibat kelainan metabolisme lipid, koagulasi darah, dan keadaan biofisika serta biokimia dinding arteri (Smeltzer, 2006).

##### 2.1.2 Etiologi dan Faktor Resiko

Etiologi dan faktor resiko aterosklerosis dibagi menjadi dua yaitu faktor resiko yang dapat dimodifikasi dan faktor resiko yang tidak dapat dimodifikasi: Faktor resiko yang dapat dimodifikasi terdiri dari: (1) Riwayat keluarga positif. (2) Peningkatan usia, (3) Jenis kelamin-terjadi 3 kali lebih sering pada pria dibanding wanita, dan (4) Ras. Ada pun faktor resiko yang tidak dapat dimodifikasi terdiri dari: (1) Kolesterol darah tinggi. (2) Tekanan darah tinggi. (3) Merokok. (4) Gula darah tinggi. (5) Obesitas. (6) Inaktivitas fisik. (7) Stres. (8) Penggunaan kontrasepsi oral. (8) Kepribadian, seperti sangat kompetitif, agresif atau ambisius. (9) Geografi (Smeltzer, 2002).

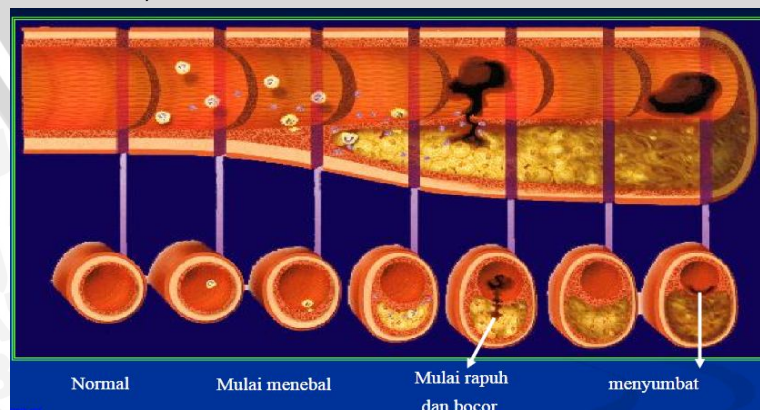
##### 2.1.3 Patofisiologi

Sel endotel yang cedera akan mensekresi kemoatraktan monosit dan mengekspresikan molekul penginduksi adhesi permukaan sel yang akan mengikat monosit dan limfosit dan meningkatkan pengambilan makrofag ke

daerah cedera, melepas sitokin dan merangsang inflamasi, melepas lebih sedikit oksida nitrat (vasodilator) serta mensekresi faktor pertumbuhan yang meningkatkan migrasi dan proliferasi sel otot polos (Brashers, 2008).

LDL (*Low density lipoprotein*) teroksidasi oleh radikal oksigen, difagositosis oleh makrofag, dan kemudian dibawa ke dinding pembuluh darah (oksidasi LDL ditingkatkan oleh kenaikan LDL serum, peningkatan aktivitas lipoksigenase, dan peningkatan radikal oksigen). Makrofag yang terisi LDL teroksidasi dinamakan sel busa. Akumulasi sel tersebut membentuk suatu lesi patologis yang dinamakan lapisan berlemak (*fatty streak*) yang menginduksi perubahan imunologis dan inflamasi lebih lanjut sehingga mengakibatkan kerusakan pembuluh progresif. Leukosit dan makrofag melepaskan pejamu sitokin inflamasi dan mitogen yang selanjutnya merangsang proliferasi otot polos (Angiotensin II, faktor pertumbuhan) dan menghambat sintesis endotel serta melepaskan vasodilator endogen, seperti oksida nitrat (Brashers, 2008).

Sel otot polos bermigrasi ke daerah yang diliputi sel busa sehingga membentuk semacam topi yang dinamakan plak fibrosa. Remodeling pembuluh darah terjadi dengan kalsifikasi dan fibrosis, apoptosis dan nekrosis lesi, penebalan dinding pembuluh peri-lesi, dan penonjolan ke dalam lumen pembuluh darah (Brashers, 2008).



Gambar 2.1 Proses aterosklerosis (Anonymous, 2014)

Ketika plak berkembang, plak tersebut akan mengalami ulserasi ruptur karena (1) tekanan aliran darah mekanis, (2) kolagenase, elastase, dan stromelisin yang dihasilkan oleh makrofag; dan (3) apoptosis sel pada tepi plak menyebabkan nekrosis berkelanjutan pada dinding pembuluh darah. Jumlah deposisi kolagen dan elastin pada tepi (yang dibuat oleh sel otot polos dan fibroblast) dan jumlah LDL di dalam pusatnya menentukan kestabilan dan kerentanannya terhadap ruptur. Selain itu, limfosit T menghasilkan interferon gama yang menurunkan produksi kolagen dan melemahkan plak (autoimunitas) (Brashers, 2008).

Trombosit akan beragregasi dan melekat ke permukaan plak yang ruptur akibat berkurangnya antikoagulan endotel dan pajanan reseptor permukaan glikoprotein trombosit IIb/IIIa, rangkaian peristiwa koagulasi kemudian dimulai, dan trombus terbentuk di permukaan lesi yang bisa mengobstruksi lumen pembuluh darah secara lengkap; pelepasan tromboksan A yang menyebabkan vasokonstriksi akan lebih mempersempit lumen pembuluh darah. Hasil keseluruhannya adalah arteri yang menyempit dan rentan terhadap vasokonstriksi abnormal dan trombosis (Brashers, 2008).

## **2.2 Malondialdehid (MDA)**

### **2.2.1 Definisi**

*Malondialdehid* (MDA) adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid di dalam tubuh, selain itu MDA merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas, metabolit komponen sel yang dihasilkan oleh radikal bebas, oleh sebab itu konsentrasi MDA yang tinggi

menunjukkan adanya proses oksidasi dalam membran sel. Status antioksidan yang tinggi biasanya diikuti oleh penurunan kadar MDA (Winarsi, 2007).

Reaksi oksidasi sering kali menyebabkan kerusakan oksidatif. Akibatnya, terjadi kerusakan atau kematian sel hal ini terjadi karena senyawa radikal bebas mengoksidasi dan menyerang komponen lipid membran sel. Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA (*poly unsaturated fatty acids*). Lipid bilayer diketahui merupakan campuran fosfolipid dan glikoprotein yang berikatan dengan asam lemak rantai gliserol (Winarsi, 2007).

Produk peroksidasi Lipid ini ditentukan melalui pengukuran kadar MDA. (Winarsi, 2007). Menurut Kumalaningsih (2007) Oksidasi lipid terjadi melalui 3 tahap, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi.

#### **a. Tahap Inisiasi**

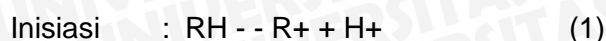
Tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen.

#### **b. Tahap Propagasi**

Radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi.

#### **c. Tahap terminasi**

Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru.



MDA dapat digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggambarkan derajat stres oksidatif, aterosklerosis diawali oleh proses peningkatan LDL. LDL teroksidasi merupakan tahap awal dari terjadinya aterosklerosis (Kusumastuty, 2014). Dislipidemia menyebabkan keadaan hiperkolesterolemia yang kemudian mengganggu fungsi endotel dengan meningkatkan produksi radikal bebas, pemajanan terhadap radikal bebas dalam sel endotel dinding arteri menyebabkan terjadinya oksidasi LDL yang berperan dalam terjadinya plak ateromatosa yang kemudian menjadi aterosklerosis (Price, 2006).

### 2.2.2 Metode Pengukuran MDA

Pengukuran MDA dilakukan dengan menggunakan Metode Wills secara spektrofotometri atas dasar penyerapan warna yang terbentuk dari reaksi *asam tiobarbiturat* (TBA) dan MDA. *Asam tiobarbiturat* (TBA) merupakan salah satu indikator peroksidasi lipid yang paling awal digunakan dalam penelitian dengan subjek manusia ataupun hewan percobaan (Winarsi, 2007). Metode ini berdasarkan prinsip bahwa bila MDA direaksikan dengan TBA akan membentuk senyawa berwarna merah muda, jumlah MDA akan menggambarkan tingkat peroksidasi lipid.

Prosedur pemeriksaannya adalah sebagai berikut: 50  $\mu\text{l}$  plasma dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan aquadest hingga volumenya menjadi 500  $\mu\text{l}$  lalu ditambahkan 250  $\mu\text{l}$  *trichloroacetic acid* (TCA) 20%. Larutan dicampur dan didiamkan dalam suhu ruangan selama 5 menit.

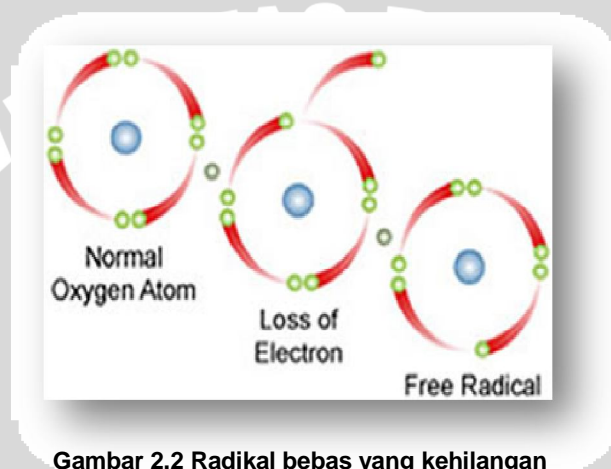
Setelah itu larutan disentrifus pada 2000 g selama 10 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan 500  $\mu$ l aquades. Larutan dicampur dan didiamkan selama 5 menit pada suhu ruangan. Kemudian ditambahkan 500  $\mu$ l TBA 0,67% kedalam larutan dan dicampur. Larutan yang telah tercampur dipanaskan dengan tabung tertutup selama 10 menit dengan suhu kurang lebih 100°C. kemudian tabung diangkat dan didinginkan didalam es. Setelah itu di sentrifus pada 2000 g selama 10 menit. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 530 nm. Pembuatan larutan standar MDA dengan menggunakan larutan tetraoksipropan (TEP) sebagai prekursor sebab MDA merupakan senyawa yang tidak stabil. TEP akan dihidrolisis menjadi MDA. Pembuatan larutan standar dilakukan pada waktu yang sama dengan pemeriksaan sample (Asni, 2010).

Pemilihan pengukuran kadar MDA dalam plasma didasarkan pada penelitian Steghens, *et all* (2001) yang membandingkan keakuratan pengukuran MDA antara plasma atau serum, hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa lebih akurat jika dilakukan pada plasma. MDA plasma membuktikan kerentanan komponen membran sel terhadap reaksi oksidasi, namun demikian, kadar MDA tersebut dapat ditekan dengan suplementasi kedelai (Winarsi, 2007).

### 2.3 Radikal Bebas

Lemak sangat bermanfaat bagi tubuh tetapi konsumsi lemak yang berlebihan khususnya konsumsi lemak *polyunsaturated* dan lemak *hydrogenasi* sangat berpotensi menghasilkan radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang kehilangan pasangan elektron pada permukaan kulit luarnya, sehingga dia berusaha mencapai elektron dari jaringan-jaringan yang ada di

dalam tubuh kita yang disusun oleh sel-sel. Setiap sel memiliki selaput lemak atau lipid yang melindunginya. Radikal bebas yang masuk dalam tubuh kita mulai merusak sel, lalu protein, enzim dan kemudian inti sel dimana DNA dibentuk yang menyebabkan kerusakan-kerusakan pada sel-sel kita yang berakibat timbulnya penyakit Jantung Koroner (PJK) dan penyakit degeneratif (Kumalaningsih, 2007).



**Gambar 2.2 Radikal bebas yang kehilangan atom atau molekul pada pasangan elektron (Anonymous, 2014)**

Target utama radikal bebas adalah lipoprotein, asam lemak tak jenuh dan unsur DNA. Dari ketiga molekul tersebut, yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh (Winarsi, 2007)

## 2.4 Pembuatan Model Tinggi Lemak

### 2.4.1 Penggunaan Tikus Putih (*Rattus Norvegicus Galur Wistar*)

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Terdapat tiga jenis galur tikus putih yang memiliki kekhususan untuk digunakan sebagai hewan percobaan antara

lain *Wistar*, *Long evans* dan *Sprague dawley*. Tikus putih (*Rattus Norvegicus Galur Wistar*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian (Widiartini, 2013).

Tikus putih jantan digunakan sebagai binatang percobaan karena tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina. Tikus jenis jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibanding tikus betina (Kharimah, 2010).

Penelitian tentang aterosklerosis menggunakan model hewan belum banyak dikembangkan. Murwani (2006) dalam penelitiannya mencoba mencari alternatif hewan coba lainnya untuk aterosklerosis yang mudah didapat dan mudah penanganannya. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) dapat dipakai sebagai hewan model untuk penelitian-penelitian aterosklerosis (Murwani, 2006).

#### **2.4.2 Diet Tinggi Lemak Sebagai Penginduksi Aterosklerosis**

Diet tinggi lemak adalah pakan tinggi kolesterol untuk menimbulkan keadaan stadium awal aterosklerosis. Diet tinggi lemak dan obesitas merupakan salah satu pencetus dislipidemia. Pola makan tinggi lemak diyakini merupakan penyebab utama timbulnya aterosklerosis melalui proses peningkatan LDL. LDL teroksidasi merupakan tahap awal dari terjadinya aterosklerosis (Kusumastuty, 2014).



Berbagai macam penelitian mengenai diet tinggi lemak diantaranya adalah penggunaan diet tinggi lemak yang pada pakannya ditambahkan kolesterol, asam kolat dan minyak babi (Murwani, 2006).

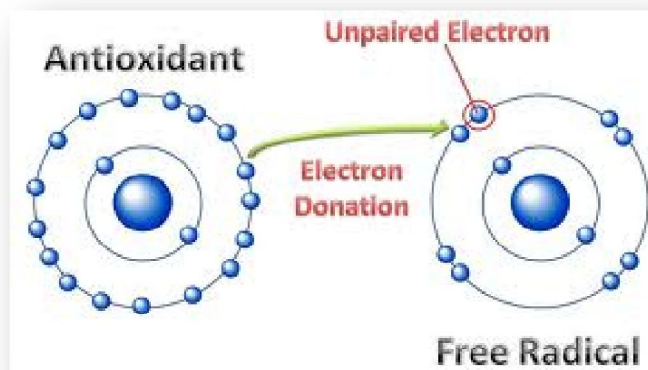
Pada penelitian yang dilakukan oleh Amijaya (2013) menggunakan kolesterol modifikasi pada hewan coba tikus komposisi pakan terdiri dari PARS (50%), tepung terigu (25%), kuning telur bebek (5%), lemak kambing (10%), minyak kelapa (1%), minyak babi (8,9%), dan asam kolat (0,1%) menunjukkan peningkatan inflamasi (Amijaya, 2013).

Tingginya kadar lemak pada diet tinggi lemak disebabkan adanya penambahan kuning telur bebek 5 %, minyak babi 8,9%, lemak kambing, 10%, minyak kelapa 1% dan asam kolat 0,1% (Kusumastuty, 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Yuliani (2002) terjadi peningkatan kadar MDA plasma yang tinggi pada kelompok yang mendapat diet tinggi lemak selama 12 minggu (Yuliani, 2002).

## **2.5 Antioksidan**

### **2.5.1 Definisi**

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2007).



Gambar 2.3 Cara antioksidan mendonorkan elektronnya pada radikal bebas (Anonymous, 2014)

### 2.5.2 Jenis Antioksidan

Atas dasar fungsinya Kumalaningsih (2007) membedakan antioksidan menjadi lima yaitu:

#### a. Antioksidan primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum sempat bereaksi.

Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase. Enzim ini sangat penting sekali karena dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Bekerjanya enzim ini sangat dipengaruhi oleh mineral-mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium yang harus terdapat dalam makanan dan minuman.

#### b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh yang populer antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

**c. Antioksidan tersier**

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker.

**d. Oxygen scavenger**

Antioksidan yang termasuk oxygen scavenger yang mampu mengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi, misalnya vitamin C.

**e. Chelators atau sequesstrants**

Senyawa yang dapat mengikat logam sehingga logam tersebut tidak dapat mengkatalis reaksi oksidasi. Akibatnya kerusakan dapat dicegah. Contoh senyawa tersebut adalah asam sitrat dan asam amino.

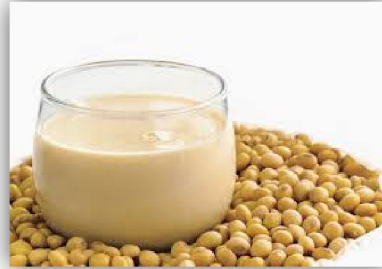
Tubuh dapat menghasilkan antioksidan yang berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh antara lain: Superoksida Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GSH), dan katalase.

**2.5.3 Susu Kedelai Sebagai Antioksidan**

Tanaman kedelai (*Glycine max*) termasuk dalam famili *Leguminosa sub Famili Papillionacea* dan genus *Gysine L.* Kacang kedelai merupakan bahan pangan sumber protein nabati untuk manusia dan hewan diberbagai negara (Amrin, 2000).

Susu kedelai adalah produk analog susu yang merupakan hasil ekstraksi biji kedelai dalam air (Estiasih, 2005). Susu kedelai adalah sari kedelai

yang diproses dengan menghancurkan biji kedelai dalam air dingin atau panas  
(Jumadi, 2009)



Gambar 2.4 Biji Kedelai dan Susu Kedelai  
(Anonymous, 2014)

Berdasarkan taksonominya tanaman kedelai (*Glycine max*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut: (Adisarwanto, 2014)

- Divisi : *Spermatophyta*
- Subdivisi : *Angiospermae*
- Klas : *Dictyledonae*
- Subklas : *Archihlamydae*
- Ordo : *Rosales*
- Subordo : *Leguminosinae*
- Famili : *Leguminosae*
- Genus : *Glycine*
- Species : *Glycine max* (L) Merill

Tabel 2.1 Komposisi Susu Kedelai per 100 gram

Komposisi	Jumlah	Komposisi	Jumlah
Air (%)	88,60	Kalsium (mg)	15
Kalori (kkal)	52,99	Fosfor (mg)	49
Protein (%)	4,40	Natrium (mg)	2
Karbohidrat (%)	3,80	Besi (mg)	1,2
Lemak (%)	2,50	Asam lemak jenuh (%)	40-48
Vit. B1 (%)	0,04	Asam lemak tidak jenuh (%)	52-60
Vit. B2 (%)	0,02	Kolesterol (mg)	0
Vit. A (%)	0,02	Abu (gram)	0,05

Cahyadi (2012)

Susu kedelai merupakan salah satu jenis antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami) (Astuti, 2008).

Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah suatu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman. Kedelai termasuk kelompok flavonoid, merupakan salah satu bahan pangan penghasil antioksidan alami. Antioksidan senyawa flavonoid dapat mendonorkan hidrogen pada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal stabil berenergi rendah yang berasal dari senyawa flavonoid yang kehilangan atom hidrogen (Astuti, 2008).

Vitamin E, vitamin C, dan yang terkandung dalam susu kedelai termasuk antioksidan sekunder yang merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar (Kumalaningsih, 2007).