

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi

Aterosklerosis adalah penyakit kronis yang ditandai dengan penebalan dan pengerasan dinding arteri. Lesi mengandung deposit lipid dan mengalami kalsifikasi, mengakibatkan obstruksi pembuluh darah, agregasi trombosit, dan vasokonstriksi abnormal (Brashers, 2008).

2.1.2 Penyebab dan Faktor Resiko

Aterosklerosis tidak lagi dianggap timbul akibat proses penuaan saja. Timbulnya bercak-bercak lemak pada dinding arteri koronaria bahkan sejak masa kanak-kanak sudah merupakan fenomena alamiah dan tidak selalu menjadi lesi aterosklerotik. Sekarang dianggap terdapat banyak faktor yang saling berkaitan dalam mempercepat proses aterogenik (Price, 2006).

Terdapat tiga faktor resiko biologis yang tidak dapat diubah, yaitu: usia, jenis kelamin laki-laki, dan riwayat keluarga. Faktor resiko yang masih dapat dirubah yaitu: peningkatan kadar serum, hipertensi, merokok, sigaret, diabetes melitus, gaya hidup yang tidak aktif, obesitas dan peningkatan kadar homosistein (Price, 2006).

2.1.3 Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko Aterosklerosis

Hiperkolesterolemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar kolesterol total yang disertai dengan meningkatnya kadar kolesterol LDL plasma dalam keadaan puasa. Secara klinis, digunakan kadar kolesterol total sebagai tolak ukur, walaupun secara patofisiologi, yang paling berperan sebagai faktor

resiko adalah kolesterol LDL. Seseorang dikatakan menderita hiperkolesterolemia bila kadar kolesterol total plasma ≥ 200 mg/dl. Kadar kolesterol total plasma 200 mg/dl serta dengan kadar kolesterol LDL 130 mg/dl (Anwar, 2003). Diet tinggi lemak salah satu pencetus dislipidemia, pola makan tinggi lemak merupakan penyebab utama timbulnya aterosklerosis melalui proses peningkatan LDL, LDL teroksidasi merupakan tahap awal dari terjadinya aterosklerosis (Kusumastuty, 2014).

2.1.4 Stres Oksidatif pada Aterosklerosis

Reaksi oksidasi sering kali menyebabkan stres oksidatif. Akibatnya, terjadi kerusakan atau kematian sel hal ini terjadi karena senyawa radikal bebas mengoksidasi dan menyerang komponen lipid membran sel. Stres oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA (*poly unsaturated fatty acids*) (Winarsi, 2007).

2.1.5 Patofisiologi

Disfungsi endotel yang merupakan pertanda awal proses aterosklerosis dapat meningkatkan adhesi dan agregasi trombosit serta faktor-faktor koagulasi aktif yang berperan pada pembentukan trombus (Arif, 2009).

Pada tahap ini setelah pembuluh darah terluka dan sel endotel rusak, fase vasokonstriksi mulai terjadi sehingga aliran darah menuju tempat terjadinya luka mulai terhambat. Kemudian terjadi pembentukan gumpalan platelet atau trombosit. Proses penggumpalan ini dimulai dari dengan melekatnya trombosit pada kolagen lalu trombosit tersebut menjadi aktif. Trombosit yang sudah aktif tersebut kemudian melepaskan granula, yang mengandung beberapa substansi yang berperan dalam menstimulasi aktivasi trombosit lebih lanjut dan mempercepat proses hemostatis. Selanjutnya terjadi pembentukan gumpalan

darah. Tahap ini terjadi jika agregasi trombosit yang sudah terbentuk tidak cukup untuk menghentikan terjadinya pendarahan. Mula-mula darah yang semula berbentuk cair berubah menjadi gel. Kurang lebih sebanyak 12 substansi yang disebut sebagai *clotting factor* berperan dalam proses ini (Retnaningsih, 2011).

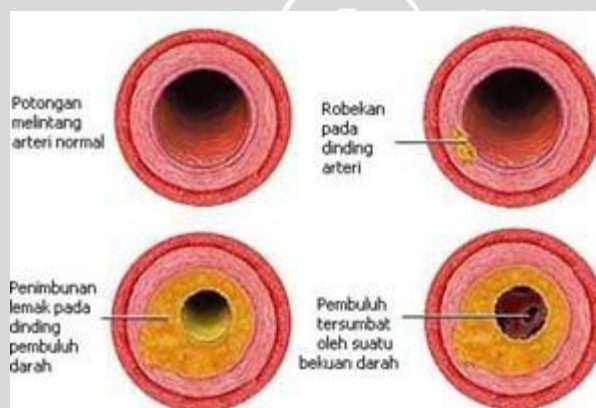
Ketika plak berkembang, plak tersebut akan mengalami ulserasi ruptur, trombosit akan beragregasi dan melekat ke permukaan plak yang ruptur akibat berkurangnya antikoagulan endotel dan pajanan reseptor permukaan glikoprotein trombosit IIb/IIIa, rangkaian peristiwa koagulasi kemudian dimulai, dan trombus 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).

Peningkatan konsentrasi lipoprotein plasma, terutama LDL (*Low density lipoprotein*) yang merupakan sumber dari akumulasi kolesterol pada dinding arteri yang menyebabkan retensi LDL. Retensi LDL serta dinding arteri terjadi karena terperangkapnya lipoprotein, kemudian termodifikasi (teroksidasi) dan ditangkap oleh makrofag, sehingga menyebabkan terjadinya sel busa (*foam cell*) (Arif, 2009).

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). Endotel yang rusak akan menghasilkan faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF) dan *transforming growth factor-beta* (TGF- beta) (Arif, 2009).

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 terjadinya aterosklerosis sampai tersumbatnya pembuluh darah (Anonymous, 2014)

2.2 Trombosit

2.2.1 Definisi

Trombosit merupakan suatu vesikel yang mengandung sebagian dari sitoplasma megakariosit yang terbungkus oleh membran plasma. Berupa fragmen-fragmen sel granular (berdiameter sekitar 2-4 μm), berbentuk cakram, tidak berinti, namun dilengkapi oleh organel dan sistem enzim sitosol untuk menghasilkan energi dan mensintesis produk sekretorik yang disimpan di granula-granula yang tersebar di seluruh sitosolnya. Selain itu, trombosit memiliki aktin dan miosin dalam konsentrasi yang tinggi, sehingga trombosit dapat

berkontraksi. Kemampuan sekretorik dan kontraksi ini penting bagi homeostasis (Catherine, 2005).

Secara ultrastruktur, trombosit terdiri atas: (Gustaviani R, 2006)

- a. Zona perifer, terdiri atas glikokalik, suatu membrane ekstra yang terletak dibagian paling luar, didalamnya terdapat membran plasma dan lebih dalam lagi terdapat sistem kanal terbuka.
- b. Zona so-gel, terdiri atas mikrotubulus, mikrofilamen, sistem tubulus padat (berisi nukleotida adenin dan kalsium). Selain itu juga terdapat trombostenin, suatu protein penting untuk fungsi kontraktil.
- c. Zona organela, terdiri atas granula padat, mitokondria, granula {dan organela (lisosom dan retikulum endoplasmik).

2.2.2 Metode Pengukuran Jumlah Trombosit

Jumlah trombosit didapatkan dari hasil pemeriksaan Darah Lengkap (DL) menggunakan metode *flow cytometri* menggunakan alat XN 1000. Jumlah trombosit normal tikus adalah 561.750-948.000/ μ l (Sulaksono, 2002).

2.3 Agregasi Trombosit

2.3.1 Definisi

Agregasi trombosit adalah karakteristik dari trombosit untuk bergabung satu sama lain untuk membentuk sekumpulan trombosit. Dua protein dari membrane trombosit yang memegang peranan penting dalam agregasi trombosit adalah glikoprotein IIb dan glikoprotein IIIa. Protein ini membentuk kompleks di dalam membran dan mengeluarkan reseptor setelah terjadi aktivasi trombosit yang mengikat fibrinogen (molekul-molekul simetris yang ditemukan dalam jumlah banyak di dalam plasma darah). Fibrinogen dapat mengikat dua trombosit

sekaligus dikarenakan terdapat ikatan kompleks antara glikoprotein IIb-IIIa yang berperan sebagai reseptor fibrinogen (Furie, 2008).

2.3.2 Agregasi Trombosit dan Aterosklerosis

Aterosklerosis diawali dengan rusaknya sel endotel, pada tahap ini setelah pembuluh darah terluka dan sel endotel rusak, fase vasokonstriksi mulai terjadi sehingga aliran darah menuju tempat terjadinya luka mulai terhambat. Kemudian terjadi pembentukan gumpalan platelet atau trombosit. Proses penggumpalan ini dimulai dari dengan melekatnya trombosit pada kolagen lalu trombosit tersebut menjadi aktif. Trombosit yang sudah aktif tersebut kemudian melepaskan granula, yang mengandung beberapa substansi yang berperan dalam menstimulasi aktivasi trombosit lebih lanjut dan mempercepat proses hemostatis. Selanjutnya terjadi pembentukan gumpalan darah. Tahap ini terjadi jika agregasi trombosit yang sudah terbentuk tidak cukup untuk menghentikan terjadinya pendarahan. Mula-mula darah yang semula berbentuk cair berubah menjadi gel. Kurang lebih sebanyak 12 substansi yang disebut sebagai *clotting factor* berperan dalam proses ini (Retnaningsih, 2011).

Hiperlipidemia mempercepat terjadinya aterogenesis melalui meningkatnya penimbunan lipid dalam lapisan intima atau ruang subendotel arteri akibat tingginya konsentrasi lipid dalam plasma darah, sehingga menyebabkan robeknya ruang subendotel tersebut. Trombosit akan beradherensi pada endotel yang mengalami kerusakan, kolagen dan makrofag. Bila diaktivasi, trombosit akan melepaskan granula berisi sitokin dan growth factor, dan bersama trombin memacu migrasi dan proliferasi miosit dan monosit. Aktivasi trombosit dengan keluarnya *fosfolipase A* menyebabkan pembentukan asam arakhidonat bebas yang dapat diubah menjadi prostaglandin melalui

proses siklooksigenase menjadi PGG₂, dan melalui proses siklik endoperoksidase menjadi PGH₂ yang kemudian berubah menjadi tromboksan A₂ (vasokonstriktor dan agregator trombosit paling poten) atau menjadi leukotrien yang memperkuat respon inflamasi (Lisyani, 2005).

2.3.3 Metode Pengukuran Agregasi Trombosit

Metode pengukuran menggunakan metode *direct smear* dilakukan dengan cara:

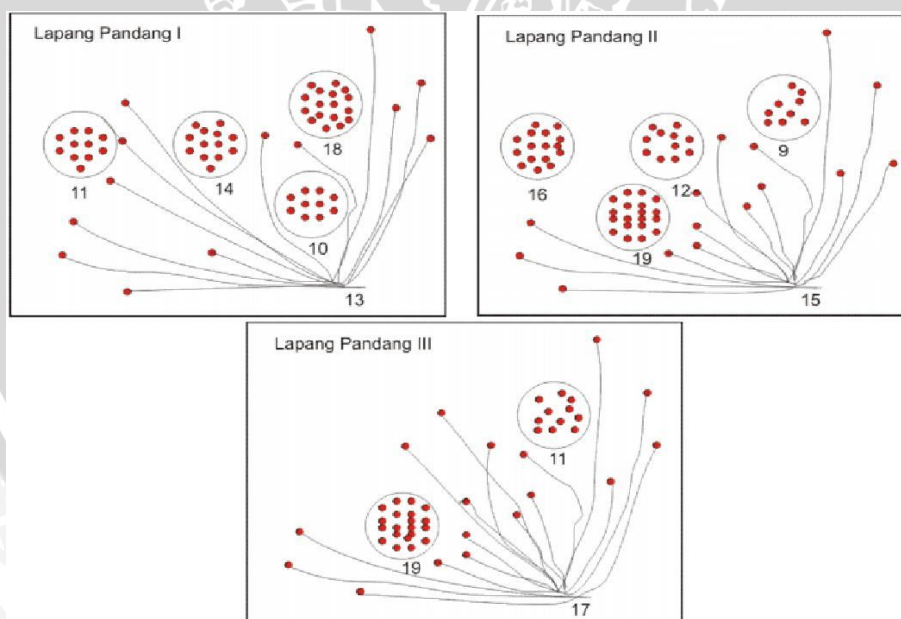
- a. Pembuatan hapusan darah tepi dengan cara:
 - Mengambil darah vena ekor tikus menggunakan skalpel dan jarum 21G sebanyak 0,5 cc atau satu tetes.
 - Darah ditetaskan ke glass slide dengan diameter tidak melebihi 2 mm.
 - Glass slide lainnya (penggeser) ditempatkan di sebelah kiri tetes darah dan kemudian digerakkan ke kanan sampai mengenai tetesan darah.
 - Tunggu sampai darah menyebar kira-kira 0,5 cm dari sudut penggeser. Segera gerakkan penggeser ke kiri dengan sudut kira-kira 30-45°.
 - Glass slide diberi nomor dan dilanjutkan dengan pengecatan wright.
- b. Pengecatan wright:
 - Hapusan darah tepi ditetesi larutan wright 13 – 14 tetes.
 - Diamkan selama 2 menit.
 - Tetesi dengan larutan penyangga / buffer 13 – 14 tetes.
 - Diamkan selama 20 menit
 - Bilas lalu keringkan dengan pengering / *dryer*.

Slide yang telah diwarnai, dilihat dibawah mikroskop menggunakan minyak emersi (pembesaran 100x) untuk menghitung jumlah agregasi platelet

dalam 10 lapang pandang dibandingkan dengan perlakuan normal (Maherda, 2013)

Persentase trombosit yang beragregasi dihitung berdasarkan jumlah trombosit yang berkelompok dibandingkan jumlah trombosit total (trombosit berkelompok dan tidak berkelompok). Kelemahan pembacaan sediaan apus darah tepi terletak pada ketrampilan dan keahlian masing-masing orang dalam membaca agregasi trombosit. Pengecatan apus darah tepi kurang bagus juga akan mempengaruhi dalam pembacaan agregasi trombosit (catatan: menghitung agregasi trombosit tidak menggunakan patokan jumlah lapang pandang yang diperiksa. Namun menggunakan total jumlah trombosit yang ditemukan kurang lebih 200).

2.3.4 Metode Perhitungan Agregasi



Gambar 2.2 Metode perhitungan agregasi trombosit

Trombosit beragregasi

$$\text{I} \quad 11 + 14 + 18 + 10 = 53$$

$$\text{II} \quad 16 + 12 + 9 + 19 = 56$$

$$\text{III } 20 + 11 = \frac{31}{140}$$

Trombosit bebas

$$\text{I } 13$$

$$\text{II } 15$$

$$\text{III } \frac{17+}{45}$$

Trombosit Total

$$140 + 45 = 185$$

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan \% agregasi trombosit} &= \frac{\text{trombosit beragregasi} \times 100\%}{\text{Trombosit total}} \\ &= \frac{140 \times 100\%}{185} \\ &= 75,7\% = 76\% \end{aligned}$$

(Davi, 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 (Karimah, 2010).

Penelitian tentang aterosklerosis menggunakan model hewan belum banyak dikembangkan. Muwarni (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 Hiperkolesterol

Berbagai macam penelitian mengenai diet tinggi lemak diantaranya adalah penggunaan diet tinggi lemak yang pada pakannya ditambahkan kolesterol, asam kolat dan minyak babi (Muwarni, 2006). 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 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). Pola makan tinggi lemak diyakini merupakan penyebab utama timbulnya aterosklerosis melalui proses peningkatan LDL. LDL teroksidasi merupakan tahap awal dari terjadinya aterosklerosis (Kusumastuty, 2014).

2.4.3 Susu Kedelai Sebagai Antioksidan

Susu kedelai merupakan salah satu jenis antioksidan ada dua kelompok sumber antioksidan, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami) (Astuti, 2008). Susu kedelai adalah sari kedelai yang diproses dengan menghancurkan biji kedelai dalam air dingin atau panas (Jumadi, 2009).



Gambar 2.3 Kacang kedelai dan olahan kacang kedelai menjadi susu kedelai (anonymous, 2014)

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

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Klas	: Dicotyledonae
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)

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). Selain itu menurut Retnaningsih (2011) kandungan senyawa flavonoid sebagai antioksidan yang dapat menghambat perlekatan, agregasi, dan sekresi platelet.

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).

Adanya asam lemak tidak jenuh akan mempengaruhi aktivitas dari platelet, yaitu memperpanjang waktu terjadinya penggumpalan darah, waktu

penggumpalan darah yang semakin lama, menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah platelet sehingga aktifitas platelet menjadi berkurang, asam lemak tidak jenuh dapat menghambat produksi tromboxan A₂ yang dapat mengurangi terjadinya penggumpalan darah (Retnaningsih, 2011).

