

BAB VI

PEMBAHASAN

Dalam keadaan aterosklerosis, ketebalan PVAT dapat meningkat dibandingkan dengan keadaan normal (Szasz, 2013). *Perivascular Adipose Tissue* (PVAT) telah dikenal dalam biologi vaskular sebagai komplikasi kardiovaskular dari obesitas yang dapat berkembang menjadi resistensi insulin (Meijer *et al*, 2010). Pada keadaan obesitas dan resistensi insulin maka inflamasi lokal akan meningkat sehingga menyebabkan ketidakstabilan sekresi adipokinin. Hal tersebut menyebabkan stres oksidatif yang berlanjut pada disfungsi endotel, hipoksia, dan resistensi insulin. Maka dari itu penelitian ini menggunakan ketebalan PVAT sebagai variabel terikat untuk mengetahui efek pemberian Darapladib terhadap tikus *Sprague Dawley* model DM tipe 2.

Penelitian ini dilakukan selama 26 minggu terhadap 30 ekor hewan coba tikus *Sprague Dawley* jantan untuk mengetahui dari efek pemberian Darapladib terhadap peningkatan ketebalan PVAT pada tikus *Sprague Dawley* model diabetes mellitus (DM) tipe 2. Kemudian, kelompok tikus dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan serial waktu pemberian terapi Darapladib selama 8 minggu dan 16 minggu untuk mengetahui kerja Darapladib dalam 2 fase pembentukan Aterosklerosis yaitu pembentukan *foam cell* dan hingga pembentukan *fatty streak*. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok besar yaitu kelompok yang diberi perlakuan pakan standar, kelompok yang diberi perlakuan pakan *High Fat Diet* (HFD) dan diinjeksi *Streptozotocin* (STZ), serta kelompok yang diberi perlakuan pakan HFD, diinjeksi STZ, dan diberikan terapi Darapladib dengan dosis 20 mg/KgBB. Ketiga kelompok tersebut kemudian dibagi menjadi 2 serial waktu yang berbeda yaitu 8 minggu dan 16 minggu.

6.1 HFD dan STZ sebagai Pemicu Diabetes Mellitus Tipe 2

Untuk memicu terjadinya diabetes mellitus (DM) tipe 2 pada tikus di penelitian ini, maka digunakanlah *High Fat Diet* (HFD) dan *Streptozotocin* (STZ). Dimana kedua hal tersebut akan memicu DM tipe 2 melalui perkembangan sindroma metabolik: perlemakan organ, dislipidemia, dan resistensi insulin (Stanhope, et Havel, 2008).

HFD merupakan jenis pakan tikus yang mampu meningkatkan kejadian dislipidemia sehingga dapat terjadi hiperglikemia akibat resistensi insulin yang terjadi di seluruh tubuh yang biasa disebut dengan sindroma metabolik (Buettner *et al*, 2006). Pada penelitian ini menggunakan pakan HFD pada kelompok DM dan DM+DP baik pada kelompok serial 8 minggu dan 16 minggu sebanyak 26 g/hari setiap satu tikus.

Pada kelompok model DM dan DM+DP terjadi peningkatan berat badan secara drastis apabila dibandingkan dengan kelompok normal yang dapat dilihat dalam **Gambar 5.2**. Beriringan dengan kenaikan berat badan, *Total Cholesterol* (TC) dan *Low Density-Lipoprotein* (LDL) juga meningkat pada kelompok DM (dilihat dalam **Tabel 5.2**). Kadar LDL dan TC representatif terhadap kejadian pro-aterogenik. Apabila TC dan LDL meningkat, maka dapat meningkatkan pula kejadian pro-aterogenik. Sebaliknya dengan *High Density-Lipoprotein* (HDL) merupakan representatif terhadap anti-aterogenik, apabila meningkat maka kejadian aterogenik dapat menurun (Suryawanshi *et al*, 2006). Pada kelompok DM didapatkan bahwa terdapat tingginya nilai LDL dan TC, sebaliknya HDL rendah. Hal ini menunjukkan bahwa sudah terjadi dislipidemia pada kelompok tikus DM pada serial waktu 8 minggu dan 16 minggu. Sedangkan pada kelompok normal dan DM+DP pada serial 8 minggu dan 16 minggu didapatkan TC dan LDL lebih

rendah, dan HDL yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbaikan nilai profil lipid pada kelompok pemberian darapladib (DMDP).

Tingginya berat badan dan terjadinya dislipidemia mendukung terjadinya obesitas yang menjadi hal utama terjadinya resistensi insulin. Dalam keadaan fisiologis, reseptor insulin pada seluruh sel dapat menurun apabila terjadi sistem *down regulation* karena tingginya kandungan glukosa dalam darah. Apabila kejadian ini terjadi terus menerus secara kronis, maka akan ada desensitisasi reseptor insulin (Wahyuni, 2011). Sehingga untuk memasukkan glukosa dalam jaringan sel dibutuhkan insulin dalam plasma lebih tinggi. Oleh karena itu dalam **Tabel 5.2** terjadi peningkatan kadar insulin plasma pada kelompok DM 8 minggu dan DM 16 minggu. Penggunaan STZ *low dose* (35 mg/KgBB) pada penelitian ini adalah untuk menurunkan produksi insulin oleh sel β Langerhans pankreas. Hal ini dapat menambahkan efek hiperglikemia pada tikus DM tipe 2 karena glukosa tidak mampu memasuki intrasel.

Peningkatan insulin plasma dan kadar glukosa puasa dapat meningkatkan kejadian resistensi insulin (Shaw *et al*, 2010). Dengan menggunakan rumus HOMA-IR yang telah dimodifikasi untuk tikus dapat ditentukan apakah sudah terjadi resistensi insulin atau belum. Apabila didapatkan nilai lebih dari *cut off* ($> 1,716$) (CI 95%; sensitivitas 83,87%; spesivitas 80,56%) (Van Dijk *et al*, 2013; Cacho, 2008). Setelah pemberian HFD selama 8 minggu, kelompok DM dan DM+DP pada masing-masing serial waktu, dilakukan perhitungan resistensi insulin yang kemudian didapatkan hasil resistensi insulin pada kelompok DM dan DM+DP (lihat **Tabel 5.3**). Sebelum diberikan Darapladib didapatkan bahwa terdapat resistensi insulin pada kelompok DM 8, DM+DP 8, DM 16, dan DM+DP 16. Kemudian setelah pemberian darapladib didapatkan bahwa terjadi konversi

resistensi insulin pada kelompok DM 8 minggu, DM+DP 8 minggu, dan DM+DP 16 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Darapladib mampu menurunkan kejadian resistensi insulin pada diabetes mellitus tipe 2.

6.2 Ketebalan PVAT pada Aorta Tikus Sprague Dawley Jantan yang diberi Diet Normal

PVAT merupakan lapisan adiposa diluar pembuluh darah yang dipisahkan oleh lapisan adventitia walaupun masih belum jelas batasan diantara keduanya (Szasz, 2013). Lokasi PVAT terdapat di arteri koroner, aorta, otot, ginjal, dan jaringan lemak (Meijer, 2011). PVAT secara fisiologis berperan sebagai organ endokrin yang penting yang dapat menghasilkan efek parakrin terhadap pembuluh darah (Szasz, 2013). Pada **Tabel 2.6** dipaparkan beberapa substansi yang dihasilkan oleh PVAT dalam keadaan normal.

Pengukuran ketebalan PVAT pada kelompok normal 8 minggu dan 16 minggu dilakukan secara patologi anatomi dengan pengecatan Hematoksilin Eosin. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan aplikasi Olyvia™ Dot Slide sehingga didapatkan data rata-rata ketebalan PVAT dalam **Tabel 5.5**. Rentang nilai rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok normal 8 minggu adalah 379,1833 hingga 608,01 μm . Kemudian didapatkan mean rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok normal 8 minggu sebesar $488,0691 \pm 90,1514 \mu\text{m}$. Nilai rata-rata tersebut merupakan rata-rata terendah apabila dibandingkan kelompok perlakuan 8 minggu lainnya. Sedangkan rentang nilai rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok normal 16 minggu 427,36 μm , dan 669,6033 μm . Mean yang didapatkan adalah $505,5600 + 110,6899 \mu\text{m}$.

Dapat dilihat terdapatnya peningkatan ketebalan dari kelompok 8 minggu dan 16 minggu. Hal ini dikarenakan ketebalan PVAT dipengaruhi oleh umur tikus

(Miao, 2011). Pada penelitian oleh Winastuti *et al* (2015) dengan menggunakan metode pengecatan HE, didapatkan nilai ketebalan PVAT pada kelompok negatif (diet standar) tikus *strain* Wistar sebesar 79.67-94.60 μm , merupakan nilai terendah apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain. Perbedaan nilai rata-rata yang didapatkan dari penelitian lain dengan penelitian ini adalah karena jenis hewan model yang digunakan berbeda.

Selain karena perbedaan jenis tikus dan umur, banyak hal lain yang mempengaruhi ketebalan PVAT. PVAT dapat dipengaruhi oleh adanya infeksi, jejas, obesitas, umur, dan lainnya (Miao, 2011). Pakan pada kelompok normal di penelitian ini hanya diberikan diet standar dan tidak diberikan perlakuan injeksi STZ. Data rata-rata asupan pakan tikus dapat dilihat dalam **Gambar 5.1**. Pemberian pakan pada kelompok normal 8 minggu dan 16 minggu diberikan batas maksimal pakan 26 g/hari, sedangkan asupan minum diberikan secara *ad libitum*. Pada penelitian Hubert (2000), perlakuan pakan *ad libitum* menunjukkan adanya insiden lesi di jantung sebagai penyebab kematian dibandingkan kelompok restriksi pakan <24 g/hari. Maka dari itu, pada kelompok normal 8 minggu dan 16 minggu yang diberi pakan standar 26 g/hari tidak menimbulkan lesi aterosklerosis yang mengakibatkan peningkatan ketebalan PVAT.

Selain umur, jenis tikus, dan asupan pakan, berat badan juga mempengaruhi ketebalan PVAT (Miao, 2011). Umur tikus pada awal penelitian ini adalah 6 minggu yang mana memiliki berat badan yang dapat dilihat di **Gambar 5.2**. Pada grafik tersebut juga menunjukkan berat badan tikus saat akhir pembedahan (umur tikus 14-22 minggu). Berat badan tikus Sprague Dawley jantan normal pada umur 6 minggu adalah 163.8 $\pm$ 10.0 g, sedangkan pada umur 12 minggu berat badan normalnya adalah 359.8 $\pm$ 11.5 g (Harlan, 2011). Hal ini

menunjukkan berat badan awal tikus yang digunakan di penelitian ini sesuai. Pada **Gambar 5.2** dapat dilihat bahwa dengan bertambahnya umur, berat badan tikus Sprague Dawley meningkat. Pertambahan umur dan berat badan inilah yang menyebabkan adanya peningkatan ketebalan PVAT dari kelompok normal 8 minggu ke kelompok 16 minggu.

6.3 Ketebalan PVAT pada Aorta Tikus Sprague Dawley Jantan Model

Diabetes Mellitus Tipe 2

Peningkatan produksi PVAT merupakan salah satu tanda terjadinya disfungsi vaskuler. Disfungsi vaskular dapat disebabkan oleh keadaan obesitas dan resistensi insulin (Szasz, 2013). Ketebalan PVAT pada aorta dipengaruhi oleh dengan peningkatan keterlibatan faktor risiko Framingham (Lehman, 2010). Berikut merupakan data rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok DM 8 minggu dan 16 minggu pada penelitian yang dapat dilihat pada **Tabel 5.5** dan **Gambar 5.4**.

Pada kelompok DM 8 minggu nilai rata-rata ketebalan PVAT berkisar antara 422,59-679,32 μm . Kelompok DM 8 minggu memiliki mean rata-rata ketebalan $565,5426 \pm 109,3565 \mu\text{m}$. Kemudian, pada kelompok DM 16 minggu memiliki nilai rata-rata ketebalan PVAT berkisar antara 488,9-569,057 μm . Kelompok DM 16 minggu dengan mean rata-rata ketebalan $552,9846 \pm 36,2119 \mu\text{m}$. Pada data ini dapat dilihat bahwa rata-rata ketebalan PVAT (μm) pada kelompok DM 8 minggu lebih tinggi daripada DM 16 minggu. Kemudian, simpangan baku dari kelompok DM 8 minggu sangat besar apabila dibandingkan dengan DM 16 minggu.

Penelitian mengenai ketebalan PVAT masih sedikit dilakukan. Pada penelitian Haberka (2015) menggunakan teknologi *ultrasound* untuk pengukuran *Extra-Media Thickness* di arteri karotis (EMT;adventitia) pada pasien obesitas dan

sindroma metabolik (IDF; NCEP ATP III, WHO). Didapatkan bahwa EMT pada keadaan sindroma metabolik $824 \pm 131 \mu\text{m}$. Selain itu, pasien yang tidak mengalami sindroma metabolik memiliki EMT lebih rendah dibandingkan pasien sindroma metabolik (Haberka, *et al*, 2015). Kemudian, pada hasil studi penelitian Rittig (2008) dalam pengukuran ketebalan PVAT arteri *brachialis* menggunakan ultrasonografi pada populasi 95 orang didapatkan hubungan signifikan antara ketebalan PVAT dengan sensitivitas insulin yang dihitung dengan ISI-OGTT ($r = -0.42$, $\beta = -0.543$, $p < 0.0001$).

Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian lain, terdapat perbedaan ketebalan karena berbagai faktor yaitu, subjek penelitian dan letak PVAT yang diperiksa. Namun, dari hasil penelitian tersebut sudah mendukung jika adanya hubungan antara resistensi insulin dengan ketebalan PVAT.

Peningkatan ketebalan yang terjadi antara DM minggu ke-8 dan ke-16 adalah dikarenakan faktor usia, diet, obesitas, sindroma metabolik, dan kerusakan endotel akibat hiperglikemia yang disebabkan oleh resistensi insulin. Kerusakan endotel ini kemudian membuat kelainan sekresi adipokin, adiponektin, leptin, visfatin, dan berbagai substansi lainnya sehingga mempengaruhi kontraktilitas otot polos vaskular yang kemudian berlanjut menjadi aterosklerosis. Akibat kelainan sekresi ini, PVAT kemudian menjadi menebal seiringan dengan progresivitas penyakit aterosklerosis.

Aterosklerosis dapat terjadi karena adanya resistensi insulin yang menyebabkan terjadinya disfungsi endotel. Diabetes tidak hanya menjadi faktor risiko namun juga dapat memperparah efek dari faktor risiko yang lain seperti, meningkatkan tingkatan kolesterol, menaikkan tekanan darah, merokok, dan obesitas (George, 2010). Hiperglikemia yang terjadi pada DM tipe 2 diyakini

menyebabkan percepatan disfungsi endotel dan vaskular serta menyebabkan inflamasi (Kaplan *et al*, 2012).

Berberapa studi telah menunjukkan bahwa HFD dapat memicu hiperglikemia, resistensi insulin di seluruh tubuh, dan menyebabkan transduksi insulin di otot dan hepar (Buettner, *et al*, 2006). Oleh karena itu, untuk membuat tikus model DM tipe 2 pada penelitian ini, tikus diberikan pakan HFD. Pemberian pakan pada kelompok DM 8 minggu dan 16 minggu adalah menggunakan diet tinggi lemak (HFD) yang berkomposisi 460 g ParS, 248 g tepung terigu, 10 g kolesterol, 2 g asam kolat, 100 g kurvet, dan 180 g air. Pemberian pakan HFD diberikan setelah aklimatisasi 2 minggu yang hanya diberikan pakan ParS. HFD diberikan setiap harinya sebesar 26 g/hari. Setelah pemberian HFD selama 8-16 minggu terdapat peningkatan rata-rata berat badan tikus *Sprague Dawley* setiap bulannya dapat dilihat di **Gambar 5.2**.

Pada penelitian Schemmel (1970), penggunaan diet pakan tinggi lemak dapat menyebabkan peningkatan berat badan tikus pada dari 10 ke 20 minggu (Schemmel, 1970). Pemberian pakan HFD pada kelompok DM 8 minggu dan DM 16 minggu diberikan setelah aklimatisasi 2 minggu yang hanya diberikan pakan ParS. HFD diberikan setiap harinya sebesar 26 g/hari. Setelah pemberian HFD selama 8-16 minggu terdapat peningkatan rata-rata berat badan tikus *Sprague Dawley* setiap bulannya dapat dilihat di **Gambar 5.2**.

Selain diberikan pakan HFD, kelompok perlakuan DM 8 minggu dan 16 minggu juga diinjeksi. Untuk memastikan tikus *Sprague dawley* pada penelitian ini terkena DM tipe 2, ada beberapa data yang mendukung yaitu data glukosa darah puasa, insulin plasma, resistensi insulin, profil lipid, dan berat badan tikus dapat dilihat pada **Gambar 5.2**, **Tabel 5.2**, dan **Tabel 5.4**.

Kadar profil lipid pada kelompok DM 8 minggu dan 16 minggu ditemukan bahwa adanya peningkatan kadar TC dan LDL dibandingkan dengan kelompok normal, kemudian adanya penurunan kadar HDL dibandingkan dengan kelompok normal. Hal ini terjadi dikarenakan perbedaan pakan yang diberikan, kelompok normal menggunakan pakan standar, sedangkan kelompok DM menggunakan pakan HFD. Dengan data tersebut, dapat dipastikan bahwa tikus pada kelompok model DM 8 minggu dan 16 minggu mengalami dislipidemia, yaitu suatu keadaan kelainan kandungan lemak di darah. Keadaan ini dapat menimbulkan penyakit kardiovaskular, bahkan resistensi insulin. Hal ini disebabkan tingginya kadar glukosa akibat pecahan dari lemak, karbohidrat, atau protein yang menurunkan sensitifitas reseptor insulin sehingga terjadi resistensi insulin (Wahyuni, 2011).

6.4 Ketebalan PVAT pada Aorta Tikus Sprague Dawley Jantan Model

Diabetes Mellitus Tipe 2 yang Diberi Terapi Darapladib

Darapladib merupakan inhibitor reversibel enzim Lp-PLA₂ (Lipoprotein-associated Phospholipase A2), sehingga tidak terjadi hidrolisis PAF, 1-myristoyl-2-(4-nitrophenylsuccinyl) PC, dan lainnya (Rosenson et Stafforini, 2014). Lp-PLA₂ merupakan enzim yang diproduksi dan disekresi oleh sel inflamasi pada kejadian aterosklerosis, berikatan dengan apolipoprotein B, dan diekspresikan sangat banyak dari inti nekrosis aterosklerosis. Enzim ini, secara cepat mendegradasi fosfolipid secara oksidatif di kolesterol LDL, sehingga menyebabkan pembentukan produk proinflamasi dan sitokin (Serruys, 2008).

Pada kelompok DM+DP 8 minggu nilai rata-rata ketebalan PVAT berkisar antara 330,18-752,8 μm . Kelompok DM+DP 8 minggu memiliki mean rata-rata ketebalan $534,5253 \pm 163,5874 \mu\text{m}$. Kemudian, pada kelompok DM+DP 16 minggu memiliki nilai rata-rata ketebalan PVAT berkisar antara 332,99-537,3233

μm . Kelompok DM+DP 16 minggu dengan mean rata-rata ketebalan $421,3560 \pm 79,4164 \mu\text{m}$. Pada data ini dapat dilihat bahwa rata-rata ketebalan PVAT (μm) pada kelompok DM+DP 8 minggu lebih tinggi daripada DM+DP 16 minggu. Kemudian, simpangan baku dari kelompok DM+DP 8 minggu sangat besar apabila dibandingkan dengan DM+DP 16 minggu.

Penurunan rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok DM+DP 8 minggu dan 16 minggu dibandingkan dengan kelompok DM 8 minggu dan DM 16 minggu dapat dilihat pada **Tabel 5.5** dan **Gambar 5.4**. Seiring bertambahnya waktu, penurunan rata-rata ketebalan PVAT pada perlakuan 16 minggu lebih besar daripada perlakuan 8 minggu. Penurunan rata-rata ketebalan PVAT ini terjadi karena inhibisi Lp-PLA₂ oleh Darapladib yang kemudian mengurangi disfungsi endotel akibat hidrolisis kolesterol LDL.

Berbagai studi telah menunjukkan hasil dari pengobatan Darapladib terhadap overekspresi Lp-PLA₂ pada aterosklerosis secara *in vivo*. Efek pemberiannya adalah adanya penurunan sel inflamasi, penurunan area plak, dan meningkatnya kerja anti inflamasi. Kemudian terdapat juga perubahan marker inflamasi dari pemberian Darapladib terhadap tikus model HFD yaitu penurunan aktivitas serum Lp-PLA₂, penurunan sel proinflamasi (Hs-CRP, IL-6, MCP-1, VCAM-1, dan TNF α), dan penurunan makrofag pada lesi aterosklerosis (Rosenson et Srafforini, 2014).

Dosis pemberian Darapladib pada penelitian ini adalah 20 per KgBB pada masing-masing kelompok serial waktu. Pemberian Darapladib dilakukan secara oral setiap harinya dalam kurun waktu 8 minggu dan 16 minggu. Darapladib diberikan setelah perlakuan HFD selama 8 minggu dan injeksi STZ untuk membuat model tikus DM tipe 2. Adapun pada penelitian Serruys (2008) pada pasien PJK

(Penyakit Jantung Koroner), diberikan dosis 160 mg setiap harinya Darapladib secara oral selama 12 bulan. Hasilnya didapatkan bahwa Darapladib dapat menghambat Lp-PLA₂ secara langsung sehingga mengurangi ekspansi nekrosis inti aterosklerosis.

Pada kelompok DM+DP 8 minggu maupun DM+DP 16 minggu pemberian pakan disamakan dengan kelompok DM 8 minggu dan DM 16 minggu. Pakan diberikan menggunakan diet tinggi lemak (HFD). Pemberian pakan HFD diberikan setelah aklimatisasi 2 minggu yang hanya diberikan pakan ParS. HFD diberikan setiap harinya sebesar 26 g/hari. Setelah pemberian HFD selama 8-16 minggu terdapat peningkatan rata-rata berat badan tikus *Sprague Dawley* setiap bulannya dapat dilihat di **Gambar 5.2**. Berat badan tikus pada penelitian ini pada kelompok DM+DP 8 minggu dan DM+DP 16 minggu terdapat peningkatan.

6.5 Perbedaan Ketebalan PVAT Masing-masing Kelompok Perlakuan Tikus

Untuk dapat membedakan hasil penelitian antar kelompok serial waktu 8 minggu dan 16 minggu maka dilakukanlah uji *repeated* ANOVA dan uji Post hoc. Uji *Repeated* ANOVA dilakukan untuk membandingkan nilai rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok normal, model DM tipe 2, serta kelompok model DM tipe yang diberikan darapladib terhadap dua serial waktu yaitu 8 dan 16 minggu. Sedangkan uji post hoc adalah uji untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Sebelum dilakukan uji *Repeated* ANOVA, dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebagai penentu berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA. Uji normalitas adalah uji untuk mengetahui apakah suatu data memiliki sebaran yang normal atau tidak. Apabila sebaran data tersebut maka dapat dilakukan uji parametrik. Hasil yang didapatkan dalam uji normalitas di penelitian ini ditemukan

bahwa sebaran data tebal PVAT 8 minggu adalah $p > 1,000$ dan tebal PVAT 16 minggu adalah $p = 0,986$ sebagaimana ditunjukkan pada **Tabel 5.6**. Uji homogenitas adalah uji untuk mengetahui apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA. Pada **Tabel 5.7** dapat dilihat bahwa data rata-rata ketebalan PVAT 8 minggu dan 16 minggu memiliki varian data homogen ($p > 0.05$).

Hasil uji *Repeated* pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 5.8**. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok normal, kelompok model DM tipe 2, serta kelompok model DM tipe 2 dengan pemberian Darapladib terhadap serial waktu 8 minggu dan 16 minggu memiliki hubungan yang tidak signifikan ($p = 0.154$). Hal ini dikarenakan adanya simpangan baku yang besar pada kelompok DM 8 dan DMDP8 dibandingkan dengan kelompok DM16 dan DMDP16 (lihat **Tabel 5.5** dan **Gambar 5.4**).

Data tersebut pula memiliki arti bahwa Darapladib tidak memiliki hubungan yang signifikan pada ketebalan PVAT baik pada serial waktu 8 dan 16 minggu. Namun, berdasarkan perlakuan, Darapladib dapat menurunkan angka rata-rata ketebalan PVAT antara model DM tipe 2 dan kelompok pemberian Darapladib. Hal ini dikarenakan Darapladib dapat menghambat Lp-PLA₂ secara langsung sehingga mengurangi ekspansi nekrosis inti aterosklerosis yang berlangsung, sehingga dapat menurunkan disfungsi vaskular (Serruys, 2008). Oleh karena itu, Darapladib dapat diberikan baik pada fase awal maupun kronis.

Untuk mengetahui lebih dalam mengenai perbedaan antar kelompok, dilakukanlah uji Post Hoc. Uji Post Hoc bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji Post Hoc yang

digunakan adalah uji LSD dan Duncan dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0.05$). Identifikasi kelompok mana yang berbeda dapat dilihat pada hasil Post Hoc Tes, sebagaimana **Tabel 5.9** dan **Tabel 5.10**.

Post hoc tidak dapat dilakukan karena hasil Anova menunjukkan tidak signifikan. Kelainan nilai p pada kelompok serial 8 minggu dan 16 minggu terjadi akibat adanya perbedaan tinggi data pada kelompok DM 8 minggu dan 16 minggu. Hal tersebut ditandai dengan selisih simpang baku yang tinggi dibandingkan kelompok lain. Namun, nilai rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok pemberian Darapladib masih mendekati dibawah nilai rata-rata ketebalan PVAT pada kelompok model DM tipe 2. Sehingga, hasil *repeated* ANOVA yang dilakukan pada kelompok serial 8 minggu dan 16 minggu menunjukkan data tidak signifikan ($p > 0.05$).

6.6 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran

Potensi atau manfaat dari Darapladib sebagai terapi pencegahan progresivitas aterosklerosis yang terjadi pada seseorang dengan Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 belum dapat dibuktikan dengan hasil penelitian ketebalan PVAT namun ada kecenderungan untuk menurun. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa Darapladib tidak mampu menurunkan ketebalan PVAT berdasarkan progresivitas aterosklerosis seiring bertambahnya waktu secara signifikan. Namun, masih ada kecenderungan penurunan ketebalan PVAT apabila dibandingkan antara kelompok pemberian terapi Darapladib dengan kelompok perlakuan DM tipe 2. Hal ini dikarenakan adanya kemampuan Darapladib yang berperan dalam upaya pencegahan terhadap proses aterosklerosis pada DM tipe 2 dengan menghambat enzim Lp-PLA₂ untuk menghidrolisis LDL-c menjadi ox-LDL sehingga mengurangi terjadinya inflamasi dan deposisi lemak yang

didapatkan hewan coba melalui *High Fat Diet*. Sehingga dengan Darapladib, kejadian plak aterosklerosis yang diakibatkan oleh perlekatan ox-LDL sebagai mediator aterosklerosis pada pembuluh darah. Tanda-tanda kerusakan vaskuler dalam kondisi DM Tipe 2 adalah timbulnya lesi lemak yang berkembang menjadi sel busa dan plak aterosklerosis.

Inhibisi terhadap Lp-PLA₂ sebagai faktor kausatif aterogenesis menunjukkan adanya peran sangat penting (Wilensky, 2008). Sebelumnya, telah dilakukan uji klinis pemberian Darapladib dengan pasien ditemukan bahwa darapladib mampu mencegah ekspansi nekrosis inti arteri koroner yang mungkin dapat dijadikan pendekatan terapi baru (Serruys, 2008). Pada studi uji STABILITY (*Stabilization of Atherosclerosis plaque by Initiation of Darapladib Therapy*) dengan *placebo* ditemukan bahwa darapladib belum mampu dilanjutkan dalam tahap pengawasan terhadap kebermanfaatannya pada pasien PJK (White, 2011). Untuk pengaruh darapladib terhadap penyakit Diabetes mellitus tipe 2 masih belum ada yang melakukan. Untuk itu, masih perlu dilakukannya penelitian Darapladib terhadap DM tipe 2 untuk mengetahui pengaruh Darapladib selain sebagai inhibitor aterogenesis juga mampu sebagai obat anti diabetes.

Oleh karena itu, pengaruh Darapladib terhadap aterogenesis maupun terhadap DM tipe 2 masih harus diteliti lebih lanjut. Karena, hasil studi ini dan beberapa hasil studi sebelumnya masih kurang menjelaskan hubungannya. Perlu diteliti juga adanya pengaruh aterogenesis terhadap ketebalan PVAT sehingga pantas dikatakan sebagai suatu variabel.

Walaupun hasil data dari penelitian ini memiliki data yang tidak signifikan dengan uji *repeated* ANOVA, terlihat adanya pola penurunan ketebalan PVAT karena pengaruh Darapladib terhadap tahap aterogenesis. Hal ini masih dapat

menunjukkan adanya harapan terapi pencegahan aterosklerosis terbaru, bahwa Darapladib memiliki manfaat yang baik terhadap pasien dengan penyakit jantung.

6.7 Keterbatasan Penelitian

Terdapat beberapa faktor yang merupakan keterbatasan peneliti dalam melaksanakan penelitian mengenai efek Darapladib terhadap ketebalan *Perivascular Adipose Tissue* (PVAT) pada tikus Sprague Dawley model DM tipe 2. Preparasi dengan metode tertentu dari sediaan yang digunakan juga dapat mempengaruhi kualitas sediaan sehingga memungkinkan adanya perbedaan dalam mengamati ketebalan PVAT. Preparasi sediaan blok parafin yang dilakukan secara manual memungkinkan terjadinya perbedaan kualitas sediaan yang menyebabkan terjadinya simpangan baku yang besar dalam rata-rata ketebalan PVAT. Pembacaan ketebalan PVAT dengan gambaran mikroskopis yang variatif dalam satu sediaan dapat mempengaruhi data akhir. Kemudian, pengukuran yang menggunakan software *dotSlide Olyvia™* memiliki subjektivitas pengamat yang berbeda-beda memungkinkan adanya pengaruh dari data akhir yang didapatkan sehingga didapatkan data yang tidak signifikan pada uji Anova maupun post hoc.