

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan *posttest only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui apakah protein LOX-1 dapat menurunkan kadar CRP pada serum tikus (*Rattus novergicus*) galur Wistar yang diberi diet aterogenik.

Penelitian ini dilakukan selama 56 hari terhadap 28 ekor hewan coba tikus galur Wistar jantan. Perlakuan pada tikus dalam penelitian ini dibedakan atas 7 (tujuh) kelompok penelitian, 5 kelompok perlakuan yang diberi protein LOX-1 + alum dengan dosis yang berbeda – beda, 1 kelompok kontrol positif dan 1 kelompok kontrol negatif. Enam kelompok penelitian sama – sama diberi diet aterogenik dan 1 kelompok (kontrol negatif) diberi diet normal. Protein LOX-1 ini diberikan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar CRP sebagai bahan anti peradangan yang diharapkan dapat digunakan untuk mencegah aterosklerosis.

6.1 Pengaruh Diet terhadap Asupan Pakan dan Berat Badan Tikus

Diet yang digunakan dalam penelitian ini adalah diet aterogenik yang dapat menginduksi pembentukan plak aterosklerosis. Komposisi standar diet yang diberikan pada tikus penelitian ini menggunakan diet standar yang digunakan secara internasional, yaitu diet *American Institution of Nutrition'93M* (AIN-93M) dengan modifikasi. AIN 93M merupakan diet tinggi lemak sehingga modifikasi dilakukan untuk menyesuaikan menjadi diet aterogenik dengan penambahan bahan yang bersifat aterogenik seperti kolesterol, asam kolat dan propiltiourasil.

Asam kolat diberikan, karena tanpa penambahan asam kolat pemberian diet aterogenik selama 8 minggu tidak dapat meningkatkan kadar kolesterol dan terbentuknya sel busa yang bermakna (Srivastava, 2000). PTU diberikan karena memiliki kemampuan menghambat pembentukan hormone tiroid dan menghambat pengaktifan lipase sehingga kadar kolesterol dalam darah tetap tinggi (Tisnadaja *et al*, 2013).

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa asupan pakan tikus adalah tidak homogen ($p=0,017$), yaitu antara kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif. Hal ini kemungkinan dikarenakan berbedanya jenis diet yang diberikan. Jumlah asupan pakan pada kelompok kontrol negatif ditemukan lebih tinggi dibandingkan jumlah asupan pakan pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan yang mendapatkan pakan diet aterogenik. Hal ini juga bisa dilihat dari perbedaan bermakna asupan pakan tikus ($p<0,05$) yang hanya terjadi kelompok kontrol negatif terhadap seluruh kelompok lainnya. Pakan diet aterogenik yang ditambahkan dengan propiltiurasil yang memiliki rasa pahit menyebabkan nafsu makan dari tikus menjadi berkurang dan jumlah asupan menjadi menurun. Seharusnya dipilih rute atau bentuk sediaan lainnya untuk menyiasati rasa pahit dari PTU seperti pada penelitian Pang *et al.* (2010) yang menggunakan rute intragastrik dengan bentuk emulsi pada hewan coba model aterosklerosis.

Pemberian diet terhadap rerata kenaikan berat badan tikus juga tidak menunjukkan adanya pengaruh ($p=0,610$) diakibatkan oleh asupan pakan yang rendah dari tikus. Tikus kelompok kontrol negatif menunjukkan adanya kenaikan berat badan yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya dikarenakan asupan pakan yang lebih tinggi dimana diet yang diberikan merupakan diet

normal yang rasanya lebih enak dibandingkan dengan diet atherogenik yang lebih pahit.

6.2 Pengaruh Pemberian Protein LOX-1 terhadap Kadar CRP

CRP adalah marker resiko yang kuat pada penyakit - penyakit kardiovaskular yang diawali oleh proses aterosklerosis pada pembuluh darah (Manolov *et al.*, 2003). CRP dapat meningkatkan ekspresi molekul - molekul adhesi untuk adhesi monosit melalui upregulasi NF- κ B. Selain itu, CRP juga mampu mengakibatkan disfungsi endotel dengan mencegah peningkatan produksi NO dan meningkatkan produksi dari ET1 (Szmítko *et al.*, 2003) sehingga CRP berkontribusi dalam patogenesis aterosklerosis.

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa tidak terdapat pengaruh perbedaan pemberian protein LOX-1 terhadap kadar CRP secara bermakna ($p > 0,005$). Hal ini dikarenakan proses inflamasi pada aterosklerosis yang berjalan dengan cepat pada awal penelitian sehingga saat pemeriksaan kadar CRP, sudah terjadi penurunan dari marker-marker peradangan akut. Konsentrasi CRP dalam darah akan meningkat pada 4-6 jam pertama sebagai respon terhadap suatu faktor resiko yang menyebabkan terjadinya inflamasi dan akan mencapai puncaknya antara 36-50 jam (Schmit & Vincent, 2008). Hal ini menyebabkan CRP tidak akan meningkat secara signifikan pada proses inflamasi yang berlangsung terus menerus seperti aterosklerosis. Seharusnya dilakukan pengecekan kadar CRP lebih awal yaitu pada saat masih pemberian awal dari diet atherogenik sehingga kadar CRP yang dilihat dapat menunjukkan pengaruhnya secara signifikan terhadap pemberian diet atherogenik serta dapat

dilihat lebih jauh efek pemberian dari protein LOX-1 terhadap kadar CRP pada masa peradangan akut.

Kadar CRP yang tertinggi terjadi pada kelompok kontrol positif dan terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif dan P4. Hal ini sesuai dengan kondisi kelompok kontrol positif dimana kelompok ini hanya diberi diet aterogenik tanpa pemberian protein LOX-1 sehingga kadarnya menjadi lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya walaupun tidak signifikan. Selain itu, kadar yang terendah pada kelompok kontrol negatif dan kelompok P4. Kelompok kontrol negatif memiliki kadar yang rendah karena diberikan diet normal sehingga tidak menginduksi terjadi proses peradangan. Kelompok P4 juga memiliki kadar yang rendah karena kelompok tersebut diberikan diet aterogenik serta diberikan protein LOX-1 dengan dosis 1 μg yang merupakan dosis tertinggi bila dibandingkan dengan kelompok lain sebagai penghambat terjadinya proses peradangan akibat pemberian diet aterogenik.

Selain pengecekan kadar CRP yang kurang awal, tidak terdapat pengaruh perbedaan secara bermakna pada pemberian protein LOX-1 + alum terhadap kadar CRP juga dapat disebabkan oleh kurangnya sensitifitas dari marker CRP yang digunakan pada penelitian ini. Seharusnya dipilih metode pengecekan CRP yang lebih sensitif seperti pada penelitian Seweidy *et al* (2005) yang menunjukkan terdapat peningkatan kadar CRP yang signifikan terhadap pemberian diet aterogenik menggunakan marker CRP dengan metode ELISA.

6.3 Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian ini melakukan pengecekan kadar CRP membutuhkan sejumlah sampel darah yang tidak sedikit bagi model hewan tikus

sehingga tidak dapat melakukan *monitoring* kadar CRP dari awal pemberian diet aterogenik hingga akhir penelitian.

2. Metode pengecekan kadar CRP yang digunakan pada penelitian ini kurang sensitif bila dibandingkan dengan metode lainnya. Seharusnya dilakukan pengecekan kadar CRP menggunakan marker CRP yang lebih sensitif seperti *high sensitivity-CRP* (hs-CRP) atau dengan menggunakan metode pengecekan dengan ELISA.

