

BAB 6

PEMBAHASAN

Berikut adalah pembahasan dari hasil penelitian yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh darapaladib dalam mengurangi ketebalan intima-media aorta tikus Sprague-dawley dengan kondisi dislipidemia. Sampel yang digunakan adalah tikus berjenis kelamin jantan agar tidak dipengaruhi oleh hormon esterogen yang mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol.

6.1 Ketebalan Intima-media Aorta pada Kelompok Tikus Normal

Dari hasil pengukuran ketebalan intima-media, kelompok tikus normal memiliki ketebalan yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Berikut akan dibahas ketebalan Intima-media pada kelompok tikus normal setiap serial waktu yaitu 8 minggu dan 16 minggu.

6.1.1 Ketebalan Intima-media Aorta pada Kelompok Tikus Normal 8 minggu

Pengukuran ketebalan intima-media aorta tikus pada kelompok normal 8 minggu didapatkan rata-rata sebesar $87.50 \pm 13.21 \mu\text{m}$ dengan angka terkecil sebesar $66.96 \mu\text{m}$ dan angka terbesar sebesar $99.15 \mu\text{m}$. Ketebalan intima-media aorta pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wihastuti et,al. (2015), bahwa rata-rata ketebalan intima-media aorta tikus Sprague-dawley dengan diet normal selama 5 minggu adalah $70.46 \mu\text{m}$.

KIM pada kelompok tikus normal 8 minggu memiliki rata-rata terendah dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini mungkin dikarenakan kadar HDL pada kelompok normal 8 minggu tinggi. HDL memiliki sifat anti-aterogenik dimana dapat menghambat ekspresi dari molekul adesi endotel, menghambat *LDL-induced monocyte transmigration* dan menghambat pembentukan *reactive oxygen species* (Vargeer, Menno et al. 2010). HDL merupakan kolesterol darah yang melindungi dinding arteri dari aterosklerosis (Shao, B dan Heinecke, J.W, 2009). Maka dari itu, pada kelompok normal 8 minggu yang diberi diet normal memiliki rata-rata KIM aorta paling rendah karena HDL yang tinggi melindungi dinding arteri dari aterosklerosis.

6.1.2 Ketebalan Intima-media Aorta pada Kelompok Tikus Normal 16 minggu

Ketebalan intima-media pada kelompok tikus normal 16 minggu didapatkan rata-rata ketebalan sebesar $88.56 \pm 6.85 \mu\text{m}$ dengan angka terkecil sebesar $83.3 \mu\text{m}$ dan angka terbesar $97.09 \mu\text{m}$. Penelitian ini hampir sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Al-joufi et al. (2016), bahwa rata-rata ketebalan intima-media aorta *Sprague-dawley* dengan diet normal selama 12 minggu adalah $82.00 \mu\text{m}$. Perbedaan nilai yang didapatkan dari penelitian lain dengan penelitian ini dikarenakan durasi waktu yang digunakan berbeda.

Terjadinya peningkatan berat badan pada kelompok tikus dengan diet normal selama 16 minggu dapat dilihat pada **tabel 5.2** peningkatan berat badan pada kelompok ini kemungkinan menyebabkan peningkatan KIM aorta dari kelompok normal 8 minggu dan 16 minggu.

Terdapat peningkatan ketebalan dari kelompok 8 minggu dan 16 minggu. Hal ini dikarenakan bertambahnya usia juga memiliki peranan penting dalam peningkatan *intima media thickness* dinding pembuluh darah. seiring bertambahnya usia radikal bebas semakin mudah terbentuk. Akibatnya stress oksidatif dalam tubuh semakin tinggi, sehingga proliferasi otot-otot polos semakin mudah terjadi dan mengalami peningkatan tunika intima media (Ohira et al., 2011).

6.2 Ketebalan Intima-media Aorta pada Kelompok Tikus Dislipidemia

Aterosklerosis adalah penyakit dinding arteri yang terjadi pada situs rentan dalam arteri utama. Hal ini dimulai oleh retensi lipid, oksidasi, dan modifikasi yang memprovokasi peradangan kronis dan akhirnya menyebabkan trombosis atau stenosis. Lesi aterosklerotik dapat menyebabkan stenosis dengan iskemia berpotensi mematikan atau dapat memicu oklusi trombotik arteri saluran utama ke jantung, otak, kaki, dan organ lainnya (Insull 2009).

Faktor resiko yang paling penting untuk aterosklerosis adalah Dislipidemia (Koba S dan Hirano T, 2011). Dislipidemia terdiri dari tiga serangkai yaitu peningkatan konsentrasi darah dari LDL partikel, peningkatan trigliserida dan penurunan HDL (Musunuru 2010). Dislipidemia ditandai dengan hipertrigliseridemia (>200 mg/dl), hiperkolesterolemia (>240 mg/dl), kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang tinggi (>160 mg/dl) serta kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) yang rendah (<40 mg/dl) (Nico Gandha,2009).

6.2.1 Ketebalan Intima-media Aorta pada Kelompok Tikus Dislipidemia 8 minggu

Pada kelompok dislipidemia 8 minggu terjadi peningkatan berat badan secara drastis apabila dibandingkan dengan kelompok normal yang dapat dilihat pada **grafik 5.2**. Peningkatan berat badan yang terjadi kemungkinan disebabkan oleh pemberian HFD selama 8 minggu. Menurut Muwarni et.al., (2016) Pemberian pakan tinggi lemak dapat menginduksi terjadinya hiperkolesterolemia (Muwarni et.al., 2016). Peningkatan berat badan ini memiliki potensi yang besar untuk mengalami dislipidemia. 80% kondisi dislipidemia disebabkan oleh beberapa faktor yaitu obesitas, usia tua, genetik, kolesterol dan High Fat Diet (Sorace, et al., 2006). High Fat Diet atau pemberian pakan tinggi lemak pada penelitian ini diberikan pada tikus Sprague Dawley karena tikus ini dapat merespon pemberian lemak tinggi sampai 45% dari total kalori (Gajda, et al., 2008).

Beriringan dengan berat badan, Total *Cholesterol* dan LDL/VLDL meningkat pada kelompok ini. Sedangkan kadar HDL kelompok Dislipidemia 8 minggu memiliki kadar terendah apabila dibandingkan dengan kelompok lain. Menurut penelitian Teuku Heriansyah (2013), peningkatan kadar TG, LDL dan penurunan kadar HDL dipengaruhi oleh durasi pemberian HFD. Pada durasi 8 minggu pemberian HFD secara signifikan meningkatkan kadar TG, LDL, dan penurunan kadar HDL (Heriansyah 2013).

Kondisi Dislipidemia akibat pemberian pakan tinggi lemak pada eksperimen ini diharapkan dapat meningkatkan ketebalan Intima-media

pada tikus. Pengukuran ketebalan Intima-media pada kelompok dislipidemia 8 minggu, didapatkan rata-rata ketebalan Intima-media yaitu $102.41 \pm 6.57 \mu\text{m}$ dengan rentang berkisar antara $92.75 \mu\text{m}$ dengan $106.56 \mu\text{m}$. Pada penelitian yang dilakukan oleh Wu, Jing et.al (2014), Tikus Sprague-dawley yang diberi pakan tinggi lemak selama 8 minggu menunjukkan lesi vaskular dengan nilai menengah dimana nilai terendah dimiliki oleh kelompok normal dan juga menunjukkan peningkatan KIM aorta dari kelompok normal (Wu, Jing., et.al., 2014).

6.2.2 Ketebalan Intima-media Aorta pada Kelompok Tikus Dislipidemia 16 minggu

Pada kelompok dislipidemia 16 minggu ditemukan rata-rata ketebalan intima-media yaitu $122.47 \pm 6.53 \mu\text{m}$ dengan rentang berkisar antara $114.27 \mu\text{m}$ dengan $129.79 \mu\text{m}$. KIM aorta pada kelompok ini paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wu, Jing et.al (2014), dimana kelompok tikus SD yang diberi HFD selama 12 minggu dan 16 minggu mempunyai lesi vaskular pada level tertinggi dari kelompok normal dan kelompok tikus yang diberi HFD 8 minggu. Selain itu terjadi penebalan intima ringan dan seluler hipertrophy pada intima-media aorta (Wu, Jing., et.al., 2014)..

Pasien dengan Dislipidemia dan Diabetes Mellitus mempunyai resiko ketebalan intima-media yang lebih besar dengan orang yang sehat. Peningkatan ketebalan intima-media lebih besar pada aorta intima-media thickness daripada carotid intima-media thickness. Hal tersebut dikarenakan aterosklerosis dimulai pertama kali di intima aorta (Järvisalo

et al., 2001). Oleh karena itu terjadi peningkatan KIM aorta pada kelompok ini.

Pemberian HFD selama 16 minggu menyebabkan kenaikan berat badan drastis apabila dibandingkan dengan kelompok normal. Peningkatan berat badan dapat dilihat pada grafik **5.2**. Kadar kolesterol total dan LDL/VLDL kelompok 16 memiliki kadar yang tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok lain. Peningkatan kadar kolesterol total dipengaruhi oleh pemberian HFD selama 16 minggu (Guilford, 2013). Dimana jika kadar LDL meningkat maka LDL akan menumpuk. LDL kemudian dimodifikasi oleh enzim dan dioksidasi menjadi partikel proinflamasi yang memprovokasi dari sistem kekebalan bawaan dalam intima. Tetesan lemak dapat menumpuk di sitoplasma sel otot polos. Perubahan pertama di dinding arteri terjadi pada titik-titik cabang arteri dimana terjadi penebalan intima (Insull 2009). Sedangkan kadar HDL kelompok DL 16 lebih rendah apabila dibandingkan dengan kelompok normal.

6.3 Ketebalan Intima-media Aorta pada Tikus Kelompok Dislipidemia dengan Darapladib

Disfungsi endotel yang disebabkan oleh dislipidemia, merupakan awal dari perkembangan aterosklerosis (Dessi et al. 2013). Setelah kerusakan endotel terjadi, monosit dan lipid yang beredar mulai menumpuk ditempat yang mengalami kerusakan. Monosit melalui endotel memasuki lapisan intima pembuluh darah dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang selanjutnya mencerna dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein menjadi sel

busa (*foam cell*). Sel busa kemudian bersatu pada pembuluh darah dan membentuk *fatty streak* (Guyton dan Hall, 2006).

Monosit, makrofag dan neutrofil yang mensekresikan enzim Lp-PLA2 (Lipoprotein-associated phospholipase A2) adalah sel-sel inflamasi yang terlibat pada proses aterosklerosis (Rosenson, et al., 2012). *Lipoprotein terkait fosfolipase A2* (Lp-PLA2) diekspresikan berlimpah dalam inti nekrotik lesi koroner, dan produk dari aktivitas enzimatik yang dapat menyebabkan peradangan dan kematian sel, plak rentan terhadap *rupture* (Serruys et al. 2008). *Lipoprotein-associated phospholipase A2* (Lp-PLA2) adalah enzim yang beredar diproduksi dan disekresikan oleh sel-sel inflamasi yang terlibat dalam aterosklerosis, terikat terutama untuk apolipoprotein B yang mengandung lipoprotein, dan disajikan dalam inti nekrotik lesi aterosklerotik. Lp-PLA2 cepat mendegradasi fosfolipid oksidatif yang dimodifikasi dalam LDL-C, yang menyebabkan pembentukan proinflamasi dan produk sitotoksik (Mohler et al. 2008).

6.3.1 Ketebalan Intima-media Aorta pada Tikus Kelompok Dislipidemia dengan Darapladib 8 Minggu

Pada studi ini, pengaruh pemberian darapladib dalam menurunkan respon inflamasi akan dibuktikan dengan penurunan ketebalan intima-media. Ketebalan intima-media pada kelompok tikus dislipidemia serial waktu 8 minggu yang diberi darapladib memiliki rata-rata ketebalan sebesar $101.94 \pm 6.87 \mu\text{m}$ dengan rentang nilai ketebalan intima-media antara $98.00 \mu\text{m}$ dengan $114.14 \mu\text{m}$. Terjadi penurunan rata-rata ketebalan intima-media aorta pada kelompok DLDP 8 minggu

meskipun tidak mencapai ketebalan intima-media pada kelompok tikus normal. Hal ini menunjukkan bahwa Darapladib berpengaruh terhadap penurunan ketebalan intima-media aorta.

Pada kelompok DLDP 8 memperlihatkan kadar HDL yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok DL 8. Selain itu juga terdapat penurunan total kolesterol dan kadar LDL/VLDL. Kemungkinan penurunan total kolesterol dan kadar LDL/VLDL serta peningkatan kadar HDL pada kelompok ini dipengaruhi oleh pemberian terapi Darapladib.

6.3.2 Ketebalan Intima-media Aorta pada Tikus Kelompok Dislipidemia dengan Darapladib 16 Minggu

Sedangkan pada serial waktu 16 minggu memiliki rata-rata ketebalan intima-media sebesar $92.82 \pm 2.18 \mu\text{m}$ dengan rentang nilai antara $90.25 \mu\text{m}$ dengan $96.04 \mu\text{m}$. Meskipun penurunan tidak mencapai ketebalan intima-media pada kelompok tikus normal, terjadi penurunan ketebalan dari kelompok DL16. Pada penelitian yang dilakukan oleh T.Heriansyah (2015) menunjukkan bahwa pemberian darapladib selama 8 minggu dan 16 minggu dapat mengurangi level ox-LDL dan jumlah sel busa (Heriansyah, Teuku., et.al., 2015). Kemungkinan pada kelompok dislipidemia dengan pemberian darapladib selama 16 minggu terjadi penurunan level ox-LDL dan jumlah sel busa sehingga terjadi penurunan KIM aorta. Hal ini menunjukkan bahwa Darapladib berpengaruh terhadap penurunan ketebalan intima-media aorta.

6.4 Perbedaan Ketebalan Intima-media Aorta pada Tiap Kelompok Tikus

Beberapa sel inflamasi yang terlibat dalam aterogenesis mensekresikan Lp-PLA2, termasuk monosit dan makrofag. Monosit atau makrofag adalah kunci utama dalam inisiasi dan perkembangan aterosklerosis serta telah diusulkan sebagai target terapi baru yang potensial untuk pencegahan dan pengobatan penyakit ini. Dalam pematangan monosit menjadi makrofag disertai dengan peningkatan dramatis dari Lp-PLA2 (Rosenson and Stafforini 2000).

Berdasarkan uji *Post Hoc Duncan* didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan pada kelompok dislipidemia 8 minggu dan dislipidemia dengan pemberian darapladib 8 minggu hal ini menunjukkan bahwa kelompok ini masih memiliki KIM masih tinggi. Namun pada analisa deskriptif menunjukkan adanya penurunan KIM dengan pemberian terapi darapladib. Sedangkan pada kelompok normal 16, dislipidemia 16 dan dislipidemia dengan darapladib 16 didapatkan hasil yang signifikan. Hal ini menunjukkan pemberian darapladib dapat menurunkan KIM aorta.

Epidemiologi dan studi korelatif menunjukkan bahwa ekspresi Lp-PLA2 meningkat pada CVD yang dikombinasikan dengan analisis *in vitro* telah menyebabkan bahwa enzim ini memiliki peran dominan pro-inflamasi dalam aterogenesis. Sehingga dalam hal ini menghambat enzim Lp-PLA2 bisa berpotensi bermanfaat bagi pencegahan dan atau pengobatan aterosklerosis terkait gangguan (Rosenson and Stafforini 2000). Darapladib telah berulang kali terbukti menghambat hidrolisis Lp-PLA2 substrat (yaitu, PAF, 1-myristoyl-2-(4-nitrophenyl) suksinil) PC, dan lain-lain). Darapladib menghambat Lp-PLA2-dimediati hidrolisis substrat eksogen dalam plasma dan LDL *in vitro*. Darapladib memiliki beberapa efek anti-inflamasi dan anti-aterogenik pada tikus yang diberi diet aterogenik di diabetes dan hiperkolesterolemia babi, dan pada manusia. Hal

ini menunjukkan bahwa darapladib mungkin memiliki efek penting mengurangi jalur utama pro-inflamasi yang terkait dengan aterosklerosis (Rosenson and Stafforini 2000).

6.5 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Potensi atau manfaat darapladib dalam penghambatan perkembangan aterosklerosis melalui penurunan ketebalan intima-media dapat dibuktikan dengan hasil penelitian mengenai ketebalan intima-media. Dari analisis data didapatkan hasil yang signifikan pengaruh pemberian darapladib terhadap penurunan ketebalan intima-media aorta serta penurunan ketebalan intima-media lebih banyak pada pemberian Darapladib selama 16 minggu. Dapat ditarik kesimpulan bahwa darapladib dapat menurunkan ketebalan intima-media. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui pengaruh darapladib untuk menghambat proses aterosklerosis melalui penelitian *clinical trial*.

6.5 Keterbatasan penelitian

Terdapat beberapa faktor yang menjadi keterbatasan peneliti dalam melaksanakan penelitian mengenai pengaruh Darapladib terhadap ketebalan intima media pada tikus *Sprague-Dawley* yang diberi *High Fat Diet*. Penelitian *in vivo* menggunakan hewan coba memiliki keterbatasan yaitu, metode pengambilan sampel jaringan aorta yang memungkinkan hewan coba tetap hidup setelahnya masih belum bisa. Selain itu, efek dari pemberian perbedaan dosis darapladib tidak dapat diukur karena dalam penelitian ini hanya menggunakan secara single dose yaitu 20mg/kgBB.