

BAB VI

PEMBAHASAN

Diabetes Mellitus adalah penyakit kronik yang terjadi ketika pankreas tidak dapat memproduksi insulin atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang dihasilkan secara efektif (WHO,2016). Diabetes Mellitus dapat menyebabkan berbagai penyakit kronik salah satunya adalah terjadinya plak aterosklerosis pada daerah subintima pembuluh darah (Sarwono,2014). Metode terbaik untuk mengidentifikasi aterosclerosis yang direkomendasikan oleh American Heart Association yaitu melalui pengukuran kompleks intima media thickness (Muis & Murtala, 2011). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dampak dari pemberian darapladib terhadap perubahan dari ketebalan intima media pada tikus Sprague dowley dengan aterosklerosis model Diabetes Mellitus tipe 2.

6.1 HFD dan STZ sebagai Pemicu terjadinya Resistensi Insulin

Beberapa metode *study* sebelumnya mengatakan bahwa beberapa hewan coba Diabetes Mellitus tipe 2 akan lebih baik dan stabil dengan cara pemberian *High Fat Diet* (HFD) yang dikombinasikan dengan STZ (Zhang et al, 2008). Konsumsi kronik HFD pada hewan coba dapat menyebabkan obesitas, hiperglikemia, hiperinsulinemia, dislipidemia, dan resistensi insulin yang merupakan salah satu indikasi penting pada Diabetes Mellitus tipe 2 (Meng R et al, 2011). Resistensi insulin adalah ketidakmampuan insulin memberi efek biologik yang normal pada kadar gula darah tertentu. Dikatakan resisten insulin bila dibutuhkan kadar insulin yang lebih banyak untuk mencapai kadar glukosa

darah yang normal. Hal ini terjadi karena Mekanisme yang mungkin sebagai penyebab resistensi insulin antara lain mekanisme down-regulasi, defisiensi atau polimorfisme genetic dari fosforilasi tyrosine reseptor insulin, protein IRS atau PIP-3 kinase, atau abnormalitas fungsi GLUT 4 yang disebabkan berbagai hal (Merentek, 2006).

Pemberian HFD pada tikus dapat menyebabkan obesitas (Gajda, 2008). Menurut penelitian sebelumnya tikus yang diberi HFD selama 60 hari atau 8 minggu yang secara signifikan memiliki jaringan adiposa yang lebih berat daripada tikus dengan diet normal (Ikeuchi et al, 2007). Jaringan adipose yang selama ini hanya dikenal sebagai organ tempat penyimpanan asam lemak bebas seperti trigliserid ternyata juga merupakan organ endokrin yang menghasilkan beberapa hormon disebut *adipokine*, yang mempengaruhi sensitivitas insulin walaupun peran masing-masing adipokine dalam memediasi terjadinya resistensi insulin belum sepenuhnya jelas. Termasuk di dalamnya adalah *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), leptin, resistin, interleukin-6, dan adiponektin (Merentek, 2006).

Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), mempunyai peranan langsung pada perkembangan resistensi insulin pada kegemukan, TNF- α dilaporkan menyebabkan gangguan ambilan glukosa yang dirangsang insulin pada jaringan otot dan sel-sel adipose dan menekan translokasi *glucose transporter 4* (GLUT4). Lebih lanjut TNF- α dapat menurunkan aktifitas lipoprotein lipase (LPL) dan meningkatkan lipogenesis di hati. Jadi TNF- α berperan secara lokal maupun sistemik pada resistensi insulin yang berhubungan dengan kegemukan (American Diabetes Association, 2004). Leptin dianggap sebagai mediator resistensi insulin pada obesitas karena kadar leptin plasma berkorelasi dengan

total massa lemak tubuh. Ekspresi leptin lebih banyak ditemukan pada lemak subkutan. (Merentek, 2006). Pada penelitian ini kelompok Diabetes Mellitus tipe 2 serial waktu 8 minggu dan 16 minggu diberikan HFD sebanyak 26 gram/ekor/hari.

Berdasarkan pengukuran berat badan tikus yang telah dilakukan ditemukan bahwa berat badan tikus meningkat pada model Diabetes Mellitus tipe 2. Peningkatan berat badan ini disertai dengan peningkatan LDL dan total kolesterol dan penurunan kadar HDL. Hal ini akan meningkatkan kemungkinan terjadinya kejadian pro atherogenik. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi dislipidemia. Dislipidemia inilah yang nantinya akan menjadi faktor resiko terjadinya resistensi insulin. Resistensi insulin pada penelitian ini dapat dilihat dari insulin plasma dan kadar glukosa darah puasa. Resistensi insulin dihitung dengan rumus HOMA-IR untuk hewan coba tikus. Dari perhitungan diketahui bahwa telah terjadi resistensi insulin pada kelompok DM 16 minggu. Kelompok DM 8 minggu memang belum sampai terjadi resistensi insulin karena nilainya belum melebihi nilai cut-off. Namun telah terjadi peningkatan nilai HOMA-IR dibandingkan kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok DM 8 minggu sudah mendekati terjadinya resistensi insulin.

Streptozotosin (STZ) akan menginduksi insulin-dependent dan non insulin-dependent Diabetes Mellitus dengan menginduksi kematian sel β melalui alkilasi DNA. Setelah 8 minggu pasca penyuntikan STZ tikus memiliki peningkatan kadar glukosa darah puasa yang signifikan (Zhang et al, 2008). Pada penelitian ini kelompok Diabetes Mellitus tipe 2 serial waktu 8 minggu dan 16 minggu diberikan STZ sebanyak 30 mg/kg.

6.2 Ketebalan Intima Media pada tikus Kelompok Normal

Kelompok tikus normal merupakan kontrol negatif pada penelitian ini dimana perlakuan yang diberikan hanya berupa pakan normal saja. Tunika Intima adalah bagian dari struktur arteri yang merupakan lapisan paling dalam. Sedangkan tunika media adalah lapisan tengah yang terutama tersusun oleh serat otot polos yang melingkar (Victor p. Erochenko, 2015).

6.2.1 Tikus Kelompok Normal 8 Minggu

Tikus kelompok normal 8 minggu memiliki rata-rata ketebalan intima media sebesar $87.8363 \pm 10.9843 \mu\text{m}$ dengan nilai maksimum $88,75 \mu\text{m}$ dan nilai minimum sebesar $87,06 \mu\text{m}$. Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok N 8 dengan N 16, DM 8, DM 16, dan DMDP 8

Pada kelompok normal tetap terbentuk penebalan intima tunika media dengan luas yang lebih kecil dari kelompok lainnya. Hal ini disebabkan tikus dengan pakan normal tetap didapatkan penebalan tunika intima media pembuluh darah. Pada manusia, lesi aterosklerosis yang memicu terbentuknya *foam cell* berasal dari derivat *vascular smooth muscle cell* (VSMC) atau disebut sel-sel otot pembuluh darah dan juga makrofag. Sel-sel tersebut merupakan sel yang paling poten memicu terbentuknya *fatty streak* di aorta. Studi menggunakan mikroskop elektron menyebutkan bahwa *fatty streak* yang terbentuk disebabkan oleh terpenuhnya sel-sel otot pembuluh darah dengan lipid, walaupun makrofag dan extracelluler space tidak mengandung lipid sama sekali. Lesi aterosklerosis pada manusia sudah dimulai terbentuk secara fisiologis dalam jaringan tubuh. Kondisi lesi aterosklerosis setiap orang berbeda-beda tergantung faktor resiko yang dimiliki. Genotip sendiri memiliki peran yang signifikan dalam terbentuknya

aterosklerosis seperti tingkat HDL, LDL, tekanan darah, dan adipositas (Anderson *et al.*, 2012).

Ketebalan intima media antara tikus normal 8 minggu dan 6 minggu memiliki perbedaan sebesar 0,72 μm . Lebih tebal pada tikus normal 16 minggu. Hal ini dikarenakan bertambahnya usia memiliki peran dalam meningkatkan ketebalan tunika intima media. Stres oksidatif dalam tubuh semakin tinggi sehingga proliferasi sel otot polos pembuluh darah semakin mudah terjadi (Ohira *et al.*, 2011).

6.2.2 Tikus Kelompok Normal 16 Minggu

Tikus kelompok normal 8 minggu memiliki rata-rata ketebalan intima media sebesar $85.7175 \pm 1.91203 \mu\text{m}$ dengan nilai maksimum 88,78 μm dan nilai minimum sebesar 83,97 μm . Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok N 8 dengan N 16, DM 8, DM 16, dan DMDP 16.

Dapat dilihat adanya peningkatan ketebalan dari kelompok 8 minggu dan 16 minggu. Hal ini dikarenakan ketebalan tunika intima media dipengaruhi oleh umur tikus (Wu, J., 2014). Bertambahnya usia juga memiliki peranan penting dalam peningkatan *intima media thickness* dinding pembuluh darah. Hal ini dikarenakan 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).

Penelitian Xiaoshan Zhang *et al* (2014) dengan menggunakan biomikroskopi ultarsound menunjukkan peningkatan ketebalan intima media aorta yang signifikan dari $0.10 \pm 0.03 \text{ mm}$ pada tikus 16 minggu dan 0.16 ± 0.04

mm pada tikus 24 minggu. Perbedaan nilai rata-rata yang didapatkan pada penelitian lain dengan penelitian ini adalah karena jenis hewan model yang digunakan berbeda.

Rata-rata asupan pakan pada tikus normal 16 minggu sebesar 25 gram pada bulan pertama, 23,75 pada bulan kedua, 22,03 gram pada bulan ketiga, dan 22,75 gram pada bulan keempat. Terdapat hubungan peningkatan ketebalan tunika intima media arteri karotis dengan peningkatan indeks massa tubuh, indeks BB/TB, tekanan darah diastolik, dan kadar kolesterol HDL yang rendah (Hariyanto *et al.*, 2009).

Selain umur, asupan pakan, jenis tikus, berat badan juga mempengaruhi ketebalan tunika intima media. Umur tikus awal pada penelitian ini adalah 6-8 minggu yang memiliki berat badan yang dapat dilihat pada **Gambar 5.2**. Pada grafik tersebut juga menunjukkan berat badan tikus saat akhir pembedahan (umur tikus 14-22 minggu) yaitu terdapat peningkatan berat badan. Menurut penelitian sebelumnya, terdapat perbedaan bermakna antara tunika intima media pasien dengan obesitas (berat badan meningkat) dan pasien dengan berat badan normal (Hariyanto *et al.*, 2009).

Pada kelompok normal tetap terbentuk intima media thickness pembuluh darah dengan luas yang lebih kecil dari kelompok lain. Pada manusia lesi aterosklerosis yang memicu terbentuknya foam cell berasal dari derivat *vascular smooth muscle* (VSMC) dan juga makrofag. Sel-sel otot pembuluh darah merupakan sel yang paling poten memicu terbentuknya *fatty streak* di aorta. Makrofag nantinya menempel pada endotel melalui perekat endotel spesifik yang terbentuk di permukaan endotel yang mengalami disfungsi dan bermigrasi diantara sel endotel untuk masuk ke intima. Selanjutnya terjadi proliferasi sel otot

polos dan pengendapan matriks ekstrasel oleh sel otot polos di intima mengubah bercak perlemakan menjadi ateroma fibrofatty matang dan berperan menyebabkan pertumbuhan progressif lesi aterosklerotik (Kumar, 2012).

6.3 Ketebalan Tunika Intima Media pada tikus kelompok Diabetes Mellitus tipe 2

Proses pembuatan tikus model Diabetes Mellitus tipe 2 dilakukan dengan cara pemberian HFD dan STZ *low dose*. Beberapa metode *study* sebelumnya mengatakan bahwa beberapa hewan coba Diabetes Mellitus tipe 2 akan lebih baik dan stabil dengan cara pemberian *High Fat Diet* (HFD) yang dikombinasikan dengan STZ (Zhang et al, 2008). Pemberian HFD dengan komposisi lemak 40%, karbohidrat 35%, dan protein 25% sedangkan pemberian dosis STZ disesuaikan dengan berat badan yaitu 30mg/kgBB.

Pemberian STZ pada penelitian ini dimaksudkan untuk menginduksi kerusakan sel beta pankreas. Menurut Prasad *et al* (2009), pemberian STZ bekerja selektif pada sel beta pankreas dan memicu terjadinya nekrosis secara irreversible. Pemberian STZ ditambahkan dalam penelitian guna memicu terjadinya resistensi insulin.

Ketebalan tunika intima media merupakan tanda terjadinya disfungsi vaskuler. Disfungsi vaskuler dapat disebabkan oleh keadaan obesitas dan resistensi insulin (Szaza, 2013).

6.3.1 Tikus Kelompok Diabetes Mellitus 8 Minggu

Pasien dengan Diabetes Mellitus dan dislipidemia memiliki resiko memiliki ketebalan tunika intima media yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol orang yang sehat, dengan peningkatan yang lebih besar dalam aorta *intima media thickness* (aIMT) daripada pada carotid artery *intima media*

thickness (cIMT). Hal ini dikarenakan aterosklerosis dimulai pertama kali di intima aorta, dan data menunjukkan bahwa aIMT mungkin penanda terbaik saat ini pada aterosklerosis praklinis (Järvisalo et al., 2001).

Rata-rata ketebalan tunika intima media pada kelompok Diabetes Mellitus serial waktu 8 minggu adalah 92.5689 ± 0.96093 dengan rentang intima media thickness pada kelompok DM 8 minggu berkisar antara 92.11 μm hingga 94.19 μm . Peningkatan ketebalan sebesar 3,78 μm terjadi antara tikus normal 8 minggu dengan tikus Diabetes Mellitus 8 minggu. Hal ini terjadi karena dikarena faktor diet, obesitas, sindroma metabolik, dan kerusakan endotel akibat hiperglikemia karena resistensi insulin.

Faktor diet berhubungan dengan rata-rata asupan intake pakan pada kelompok N 8 dapat dilihat pada **Gambar 5.1**, asupan pada bulan pertama sebesar 22,88 gram dan bulan kedua 21.76 gram. Serta terdapat peningkatan berat badan yang dapat dilihat pada **Gambar 5.2**. Dalam rentang waktu penelitian didapatkan kecenderungan peningkatan berat badan tikus yang disebabkan oleh pakan HFD yang diberikan sehingga memacu kondisi hiperglikemia. Menurut Srinivisan, *et al* (2007) pemberian diet tinggi lemak dapat menimbulkan resistensi insulin yang ditandai dengan peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan tersebut akan mengakibatkan obesitas yang merupakan faktor resiko penyakit kardiovaskular yang mempengaruhi proses kardiovaskular sehingga berpengaruh terhadap ketebalan intima media (Hariyanto et al., 2009).

Rerata ketebalan tunika intima-media juga berhubungan dengan profil lipid. Tunika intima media lebih tebal pada profil lipid abnormal dibandingkan dengan kadar profil lipid normal, namun secara statistik perbedaan bermakna

terlihat pada kadar kolesterol LDL >130mg/dl dibandingkan dengan kolesterol LDL <130 mg/dl ($p=0,005$). Demikian juga terlihat perbedaan bermakna pada kadar kolesterol HDL rendah (<40 mg/dl) dibandingkan dengan kadar kolesterol HDL >40 mg/dl ($p=0,04$). Pada penelitian ini kadar HDL kelompok DM 8 adalah 4,9 mg/dl, sehingga dapat dikatakan bahwa kadar HDL yang dimilikinya rendah. Sedangkan Kadar kolesterol total, kadar trigliserida dan kadar apo B, tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok terhadap ketebalan tunika intima media arteri karotis (Hariyanto et al., 2009).

6.3.2 Tikus Kelompok Diabetes Mellitus 16 Minggu

Diabetes melitus dapat mengakibatkan komplikasi makrovaskuler berupa aterosklerosis. Adanya aterosklerosis menyebabkan peningkatan ketebalan lapisan intima-media yang berhubungan dengan hipertrofi tunika intima-media. Aterosklerosis mengakibatkan pengerasan pada pembuluh darah arteri yang terjadi karena proses pengendapan lemak, kompleks karbohidrat dan produk darah, jaringan ikat dan kalsium, yang mengakibatkan hilangnya elastisitas arteri, disertai perubahan degenerasi lapisan media dan intima. Penekanan yang terlalu banyak pada arteri dapat menyebabkan dinding pembuluh darah menjadi tebal dan kaku akhirnya membatasi darah yang mengalir ke organ dan jaringan yang menimbulkan proses arteriosklerosis (Murtala et al, 2010).

Rata-Rata ketebalan tunika intima media 16 minggu memiliki rata-rata intima media thickness sebesar 91.6243 ± 0.56537 dengan rentang antara 90.75 μm hingga 92.20 μm . Hal ini terjadi karena pemberian HFD yang mampu meningkatkan kolesterol dalam darah dan menjaga kestabilan kolesterol dalam darah sehingga mampu menginduksi dislipidemia yang mampu memicu penebalan tunika intima media.

Terdapat beberapa data yang mendukung dalam terjadinya Diabetes mellitus tipe 2 yaitu data glukosa darah, insulin plasma, resistensi insulin, profil lipid. Kadar profil lipid pada kelompok 16 minggu ditemukan adanya peningkatan kadar LDL dibandingkan dengan kelompok normal, yaitu pada kelompok N 16 sebesar 19,24 mg/dL sedangkan pada kelompok DM 16 meningkat menjadi 88,25 mg/dL. Terjadi penurunan pada kadar HDL. Pada kelompok N 16 sebesar 35,77 mg/dL sedangkan pada kelompok DM 16 sebesar 13,96 mg/dL. Hal ini terjadi karena perbedaan pakan yang diberikan, kelompok normal diberi pakan standart sedangkan kelompok DM diberi pakan HFD.

Rerata intake pakan HFD pada kelompok DM 16 mengakibatkan tikus mengalami peningkatan berat badan. Rata-rata berat badan awal tikus sebesar 155 gram dan berat badan akhir sebesar 335 gram. Sehingga terjadi peningkatan rata-rata berat badan tikus sebesar 180 gram. Hal ini dapat mengakibatkan tikus dalam kondisi obesitas. Obesitas ini akan berhubungan dengan resistensi insulin.

Hubungan tersebut dapat dijelaskan bahwa pada obesitas terjadi pelepasan asam lemak bebas kedalam sirkulasi. Asam lemak bebas yang berasal dari lipolisis trgliserida jaringan adiposa. Makin banyak jaringan adiposa, maka makin meningkat asam lemak bebas yang dikeluarkan. Pada obesitas tetap terjadi pelepasan asam lemak berlebih, meskipun kadar insulin juga meningkat. Hal ini disebabkan meski kadar insulin tinggi dapat menekan lipolisis jaringan adiposa namun tetap tidak mampu menekan pelepasan asam lemak hingga mencapai normal pada obesitas. Asam lemak bebas merupakan sumber energi pada keadaan puasa, pada obesitas masuknya asam lemak bebas ke jaringan melebihi dari kebutuhan. Masuknya asam lemak bebas berlebihan

kedalam otot mengakibatkan resistensi insulin masih belum bisa dimengerti., diduga bahwa masuknya asam lemak bebas menghambat oksidasi glukosa. Penelitian yang dilakukan Shulman (2000) menunjukkan bahwa pada otot terjadi peningkatan kadar diasgliserol yang akan merangsang fosforilasi serin reseptor insulin dan akhirnya akan menghambat kerja insulin normal. Resistensi insulin di otot merupakan faktor predisposisi hiperglikemia, yang akhirnya akan muncul gejala klinik pada orang yang mengalami defek sekresi insulin (Cahjono H & Budhiarta, 2007)

Dengan data tersebut, dapat dipastikan bahwa tikus pada kelompok 16 minggu mengalami dislipidemia, yaitu suatu keadaan kelainan kandungan lemak di darah. Keadaan ini menimbulkan penyakit kardiovaskuler dan resistensi insulin. Keadaan ini disebabkan tingginya kadar glukosa akibat pecahan dari lemak, karbohidrat atau protein yang menurunkan sensitifitas reseptor insulin sehingga terjadi resistensi insulin (Wahyuni, 2011). Hal inilah yang menjadi faktor resiko terjadinya aterosklerosis.

Aterosklerosis dapat terjadi karena adanya resistensi insulin yang menyebabkan terjadinya disfungsi endotel. Diabetes tidak hanya menjadi faktor resiko namun juga dapat memperparah efek dari faktor resiko yang lain seperti meningkatkan tekanan darah, merokok, dan obesitas (George, 2010). Hiperglikemia yang terjadi pada Diabetes Mellitus tipe 2 diyakini menyebabkan percepatan disfungsi endotel dan vaskular serta menyebabkan inflamasi (Kaplan *et al.*, 2012). Inflamasi ini nantinya akan berakibat pada timbulnya ketebalan tunika intima media.

Penebalan tunika intima media juga disebabkan oleh adanya proliferasi sel otot polos pembuluh darah di tunika intima media. Adanya proliferasi sel otot

polos akan menjadi tanda awal dimulainya pembentukan plak atherosclerosis. Kondisi ini diakibatkan oleh resistensi insulin pada tubuh tikus yang menimbulkan tingginya kadar glukosa darah. Hal ini menyebabkan kerusakan endotel yang di bantu oleh respon proinflamasi.

6.3 Rata-Rata *Intima Media Thickness* (IMT) pada Tikus Kelompok Diabetes Mellitus tipe 2 dengan Darapladib

Darapladip adalah inhibitor lipoprotein terkait fosfolipase lipase A2. Pada penelitian babi dengan model atherosclerosis, darapladip dapat mengurangi tingkat lipoprotein terkait fosfolipase A2 dalam plak, mengurangi nekrotik daerah inti, dan menghambat perkembangan lesi pada arteri koroner. Darapladip juga telah terbukti dapat mengurangi aktivitas lipoprotein terkait fosfolipase A2 di karotis manusia. Lp-PLA2 merupakan enzim yang diproduksi dan disekresi oleh sel inflamasi pada kejadian aterosklerosis, berikatan dengan apolipoprotein B dan diekspresikan sangat banyak pada inti nekrotik aterosklerosis. Enzim ini secara cepat mendegradasi fosfolipid secara oksidatif di kolesterol LDL, sehingga menyebabkan pembentukan produk proinflamasi dan sitokin (Serruys, 2009). Pada *Integrated Biomarker and Imaging Study 2 (IBIS 2)* yang melibatkan pasien dengan penyakit jantung koroner, darapladib dibandingkan dengan placebo dapat menghentikan progresi plak arteri koroner yang mengalami nekrotik yang ditentukan melalui *intravascular ultrasonography virtual histology analysis* dalam periode 12 bulan. (Investigators, 2014)

Aterosklerosis adalah penyakit yang terjadi akibat penumpukan plak pada arteri, yaitu pembuluh darah yang membawa darah kaya oksigen ke jantung dan organ lainnya. Plak terdiri dari lemak, kolesterol, kalsium, dan zat lain yang ditemukan dalam darah. Seiring dengan berjalannya waktu plak akan mengeras

dan mengakibatkan penyempitan arteri sehingga jumlah aliran darah akan berkurang. Aterosklerosis dapat menyebabkan serangan jantung, stroke, bahkan kematian (U.S. Department of Health & Human Services, 2014).

6.3.1 Kelompok Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 diberi Darapladib 8 minggu

Pada kelompok DM+DP 8 minggu tikus mengalami peningkatan berat badan. Berat badan awal tikus sebesar 168 gram dan berat badan akhir 360, sehingga didapatkan peningkatan sebesar 192 gram. Hal ini terjadi akibat pemberian pakan HFD pada tikus DM+DP 8 minggu sehingga dapat menimbulkan obesitas pada tikus. Obesitas inilah yang nantinya akan berpengaruh pada ketebalan tunika intima media (Kaunang D, 2015)

Berdasarkan penelitian ini, Tikus kelompok DM 8 minggu memiliki ketebalan intima media sebesar $91,6243 \pm 0,56537 \mu\text{m}$ sedangkan tikus kelompok diabetes mellitus tipe 2 yang diberi terapi Darapladib 8 minggu memiliki rata-rata ketebalan tunika intima media sebesar $87,821 \pm 1,39084$ dengan rentang nilai ketebalan minimal 88,00 μm hingga maksimal 89,75 μm . Hal ini membuktikan bahwa pemberian Darapladib dengan dosis sebesar 20mg/kgBB dapat menurunkan ketebalan tunika intima media. Selain itu pemberian Darapladib juga berpengaruh terhadap kadar LDL dan HDL.

Kelompok DM+DP 8 minggu memiliki kadar LDL yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok DM 8 minggu. Kelompok DM 8 minggu memiliki kadar LDL sebesar 95,53 mg/dL sedangkan pada kelompok DM+DP 8 minggu memiliki kadar LDL sebesar 85,92 mg/dL. Dapat dikatakan bahwa pemberian darapladib dapat menurunkan kadar LDL sebesar 9,61 mg/dL. Sedangkan kadar HDL tikus kelompok DM+DP 8 minggu jika dibandingkan dengan kelompok DM 8 minggu mengalami peningkatan sebesar 10,98 mg/dL. Hal ini sesuai dengan

penelitian yang menyatakan bahwa bahwa Darapladib secara signifikan dapat menurunkan kadar LDL dan HDL (Heriansyah *et al.*, 2016).

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa Darapladib sebagai inhibitor Lp-PLA₂ dapat menghambat beberapa sitokin proinflamasi dan proaterogenik seperti Lyso-PC dan OxNEFA dengan menghambat kemotaksis monosit dan sebagai perlindungan makrofag terhadap resiko kematian sel. Aktivitas inhibisi selektif Lp-PLA₂ juga dapat menghambat perkembangan lesi aterosclerosis. Pengobatan dengan darapladib telah ditemukan untuk mengurangi aterosklerosis koroner, mengurangi Lyso-PC, dan menurunkan sitokin proinflamasi pada hewan coba (Gonc, 2012).

6.3.2 Kelompok Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 diberi Darapladib 16 minggu

Pemberian darapladib terbukti dapat menurunkan ketebalan tunika intima media pada kelompok tikus model diabetes mellitus tipe 2 yang diberi darapladib dengan serial waktu 16 minggu. Seiring dengan berjalannya waktu, penurunan rata-rata ketebalan tunika intima media pada perlakuan 16 minggu lebih besar daripada perlakuan 8 minggu. Rata-Rata ketebalan tunika intima media pada kelompok tikus DM+DP 16 minggu yang diberi darapladib memiliki rata-rata ketebalan sebesar 84.562 ± 1.25315 dengan rentang nilai ketebalan intima media antara 82.23 hingga 85.62. Sedangkan pada DM+DP 8 minggu ketebalan intima media sebesar $87,821 \pm 1,39084$. Data tersebut membuktikan bahwa Darapladib lebih efektif menurunkan ketebalan tunika intima media jika diberikan selama 16 minggu dibanding dengan 8 minggu.

Hal ini dikarekan karena darapladib mampu menghambat pembentukan ketebalan intima media melalui penghambatan lipoprotein terkait fosfolipase lipase A2 sehingga akan mengurangi tingkat lipoprotein terkait fosfolipase A2

dalam plak, mengurangi nekrotik daerah inti, dan menghambat perkembangan lesi pada arteri koroner.

Didalam plak aterosklerosis, Lp-PLA₂ menghidrolisis partikel LDL teroksidasi sehingga membentuk lysophosphatidylcholine (LysoPC) dan asam lemak teroksidasi sebagai mediator kuat proinflamasi (Steen, 2013). Darapladib merupakan inhibitor Lp-PLA₂ sehingga dapat menurunkan kadar LDL dibuktikan pada kadar LDL yang menurun pada kelompok DM+DP 16 minggu yaitu 61,51 mg/dL dibandingkan dengan DM 16 minggu sebesar 88, 25 mg/dL. Jika jumlah Lp-PLA₂ mengalami penurunan maka ikatannya dengan LDL juga akan terjadi penurunan sehingga tidak akan terbentuk ox-LDL. *Atherosclerosis Risk in Communities* (ARIC) menunjukkan bahwa hubungan Lp-PLA₂ dan resiko penyakit koroner di masa depan hanya ditunjukkan oleh kadar LDL <130 mg/dL (Steen, 2013).

Study sebelumnya telah menunjukkan hasil dari Darapladib terhadap Lp-PLA₂ pada aterosklerosis secara in vivo. Efek pemberian Darapladib adalah penurunan sel inflamasi, penurunan area plak, dan peningkatan kerja antiinflamasi. Selain itu Darapladib dapat menurunkan aktivitas Lp-PLA, penurunan sel proinflamasi (Hs-CRP, IL-6, MCP-1, VCAM-1, dan TNF α) dan penurunan makrofag pada lesi aterosklerosis (Rosenson & Stafforini, 2012).

Dosis Pemberian darapladib pada kelompok 8 minggu dan 16 minggu adalah 20mg/KgBB. Pemberian Darapladib dilakukan secara oral setiap harinya dalam kurun waktu 8 minggu hingga 16 minggu. Pemberian Darapladib dilakukan setelah perlakuan HFD selama 8 minggu dan injeksi STZ untuk membuat model tikus Diabetes Mellitus tipe 2.

6.4 Perbedaan Ketebalan Tunika Intima Media Setiap Kelompok

Membedakan data hasil penelitian setiap kelompok baik 8 minggu maupun 16 minggu dengan dianalisa menggunakan oneway ANOVA dan uji *Post hoc*. Uji Anova digunakan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok dan mengetahui minimal ada dua kelompok yang signifikan. Sedangkan uji Post Hoc adalah uji untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Sebelum dilakukan uji one way ANOVA dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas sebagai penentu belaku atau tidaknya uji ANOVA. Uji normalitas adalah uji untuk mengetahui apakah sautu data memiliki sebaran yang normal atau tidak. Apabila sebaran normal maka dapat dilakukan uji parametrik. Hasil dari uji normalitas pada penelitian ini ditemukan bahwa sebaran data ketebalan tunika intima media adalah $p=0.84$ sebagaimana pada **tabel 5.6**. Uji Homogenitas adalah uji untuk mengetahui apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki variasi yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA. Pada uji homogenitas didapatkan bahwa $p=0.68$ yang berarti bahwa penelitian ini memiliki variasi yang homogen ($p>0.0$).

Hasil Uji ANOVA pada penelitian ini dapat dilihat pada bab sebelumnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan tunika intima media secara signifikan dengan pemberian Darapladib. Hal ini dikarenakan darapladib dapat menghinibisi Lp-PLA2 secara langsung sehingga mengurangi ekspansi nekrosis inti aterosklerosis yang sedang berlangsung, sehingga dapat menurunkan disfungsi vaskular. Oleh karena itu, darapladib dapat diberikan pada fase awal maupun kronis.

Slanjutnya untuk mengetahui perbedaan lebih dalam pada tiap kelompok, dilakukan uji Post Hoc. Uji Post Hoc bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Uji Post Hoc yang digunakan adalah uji Duncan dengan tingkat signifikansi 95% ($p > 0.05$). Identifikasi kelompok mana yang berbeda dapat dilihat pada hasil Post Hoc uji Duncan.

6.4 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Potensi atau manfaat darapladib dalam penghambatan perkembangan aterosklerosis melalui penurunan ketebalan intima media dapat diketahui dari penelitian ini. Dari analisis data didapatkan hasil yang signifikan pengaruh pemberian darapladib terhadap penurunan ketebalan intima media pada aorta serta rata-rata penurunan 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*.

6.6 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*. Dalam penelitian yang menggunakan dua serial waktu, pengukuran ketebalan intima media yang ideal adalah dengan menggunakan sampel dari hewan coba yang sama, namun metode pengambilan sampel jaringan aorta yang memungkinkan hewan coba tetap hidup setelahnya masih belum bisa.