

**KORELASI ANTARA PROFIL LIPID DENGAN KADAR *CIRCULATING*  
ENDOTHELIAL PROGENITOR CELL (EPC) PADA PASIEN SINDROMA  
METABOLIK**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh :**

**Rifqi Aulia Destiansyah**

**0910713031**

**JURUSAN PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2013**

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena hanya dengan rahmat dan kekuatan dari-Nya lah penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Korelasi antara Profil Lipid dan *circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) pada Pasien Sindroma Metabolik” sebagai salah satu syarat untuk menempuh gelar Sarjana Kedokteran. Dalam proses penulisan tugas akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,
2. dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD-KEMD selaku Dosen Pembimbing 1 Tugas Akhir dan Dr. dr. Maimun Zulhaidah Arthamin, M.Kes, Sp.PK selaku Dosen Pembimbing 2 Tugas Akhir serta dr. Rully Rosandi Sp.PD atas kesabaran, dukungan, serta masukan-masukan yang sangat membangun sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik,
3. Orang tua (Drs. Sjahril Samad, SE, AK, MM dan Dra. Endah Nurcahyaningati) dan Saudara (Dhanisa dan Dhimas) atas seluruh dukungan, motivasi dan kekuatan doa yang selalu mendampingi,
4. EPC Team (Brigitta, Tjok Agung, Nindy, Krissantias dan Martha Tiara) atas kerja sama, susah senang, rasa berbagi, saling membantu dan usaha yang luar biasa besar,
5. Zahrina Tresna Wahidin, atas motivasi, dorongan, semangat dan segala usaha dan upaya demi terselesaikannya tulisan ini,
6. Segenap karyawan dan analis Lab. Biomedik (Mas Yuda, Mbak Nia, Mbak Dian) dan Lab. Fisiologi (Mbak Umi, Mas Satuman, Mbak Kiki) serta Lab. Poliklinik Universitas Brawijaya atas segala bantuan yang sangat bermakna untuk penyelesaian tulisan ini,

7. Segenap karyawan Laboratorium Sentral Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang (Bu Yuyun, Pak Apri, dan karyawan lain)
8. Segenap karyawan Poli Endokrinologi Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar Malang (Pak Catur, Bu Endang dan perawat serta karyawan lain),
9. Sahabat dan teman seperjuangan (Ayik, Nanda, Harry, Harri, Surya, Muhlis, Vidi, Beny, Feru, Arif, Dana) atas segala support, motivasi dan semangat yang diberikan,
10. Kepada semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang berandil dalam penyelesaian tulisan ini baik secara langsung maupun tidak langsung,

Penulis menyadari tulisan tugas akhir masih jauh dari kesempurnaan, maka dari itu penulis membuka pintu kritik dan saran selebar-lebarnya demi lebih baiknya tulisan tugas akhir ini di masa mendatang. Penulis berharap tulisan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi diri penulis sendiri pada khususnya dan khalayak luas pada umumnya.

Malang, Februari 2013

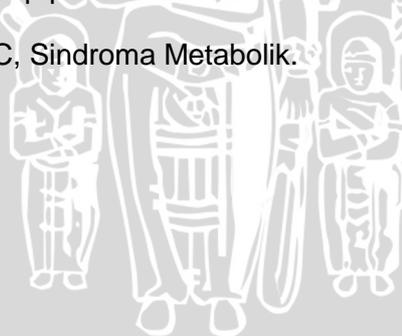
Penulis

## ABSTRAK

Destiansyah, Rifqi Aulia. 2013. *Korelasi Antara Profil Lipid dengan Kadar Circulating Endothelial Progenitor Cell (EPC) pada Pasien Sindroma Metabolik*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD-KEMD. (2) dr. Maimun Zulhaidah Arthamin, M.Kes., Sp.PK.

Prevalensi obesitas di Indonesia tergolong tinggi (10,3%) dengan kecenderungan semakin meningkat. Peningkatan prevalensi obesitas menyebabkan peningkatan prevalensi sindroma metabolik. Sindroma metabolik yang salah satu gejalanya adalah dislipidemia berhubungan langsung dengan aterosklerosis. Endothelial Progenitor Cells (EPC) yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan endotel di pembuluh darah, tidak dapat berfungsi dengan baik pada keadaan sindroma metabolik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adakah hubungan antara profil lipid dengan kadar EPC di dalam darah. Penelitian ini merupakan penelitian survey dengan pengambilan data secara cross sectional dan hasilnya ditampilkan secara deskriptif menggunakan analisis korelasi. Responden yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien rawat jalan di Poli Penyakit Dalam Divisi Endokrinologi, Rumah Sakit Dr. Saiful Anwar Malang. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah. Kadar profil lipid dan kadar EPC diukur dan dianalisis menggunakan uji korelasi Spearman's Rho. Hasil uji korelasi menunjukkan Kolesterol Total memiliki korelasi bermakna ( $r: -0,547, p < 0,05$ ) terhadap penurunan EPC sedangkan komponen profil lipid lain seperti Trigliserida, HDL dan LDL tidak memiliki korelasi bermakna terhadap kadar EPC. Mekanisme bagaimana peningkatan kolesterol total menyebabkan penurunan dari EPC masih belum diketahui. Kesimpulan penelitian ini adalah ada hubungan yang bermakna antara tingginya kadar kolesterol total terhadap penurunan kadar EPC.

Kata kunci: Profil Lipid, EPC, Sindroma Metabolik.



## ABSTRACT

Destiansyah, Rifqi Aulia. 2013. Correlation between Lipid Profile and Level of Circulating Endothelial Progenitor Cells (EPC) in Metabolic Syndrome Patients. Final Paper, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors : (1) dr. Putu Moda Arsana, Sp.PD-KEMD. (2) dr. Maimun Zulhaidah Arthamin, M.Kes., Sp.PK.

Prevalence of obesity in Indonesia is relatively high (10,3%) and tend to be increased every year. Increased prevalence of obesity associated with metabolic syndrome's prevalence. Metabolic syndrome, that one of the symptoms was dyslipidemia, directly associated with atherosclerosis. EPCs, due to the function of repair the damage of vascular endothelial, couldn't work as expected. Therefore, aim of this study was determine whether there is any correlation between lipid profile and level of circulating endothelial progenitor cell in bloodstream. This study was a survey study with cross sectional data collection. Result of this study shown descriptively using analysis of correlation. Subjects of this study were patients of Endocrinology Division, Internal Medicine Clinic at Saiful Anwar General Hospital, Malang. Blood sample was the main material of this study. Lipid profile and EPCs level were measured and analyzed by using a Spearman's Rho for correlation analysis. Correlation analysis shown that Total Cholesterol possesses a significant correlation ( $r: -0.547, p < 0.05$ ) on decreased number of EPCs, otherwise the other component of lipid profile such as Triglyceride, HDL and LDL did not show any correlation on EPCs level. Mechanism between increased levels of Cholesterol Total and decreased number of EPC remain unclear. This study came up with a conclusion that increased level of Total Cholesterol correlated with decreased number of EPCs.

Key words : Lipid profile, EPCs, Metabolic Syndrome.



DAFTAR ISI

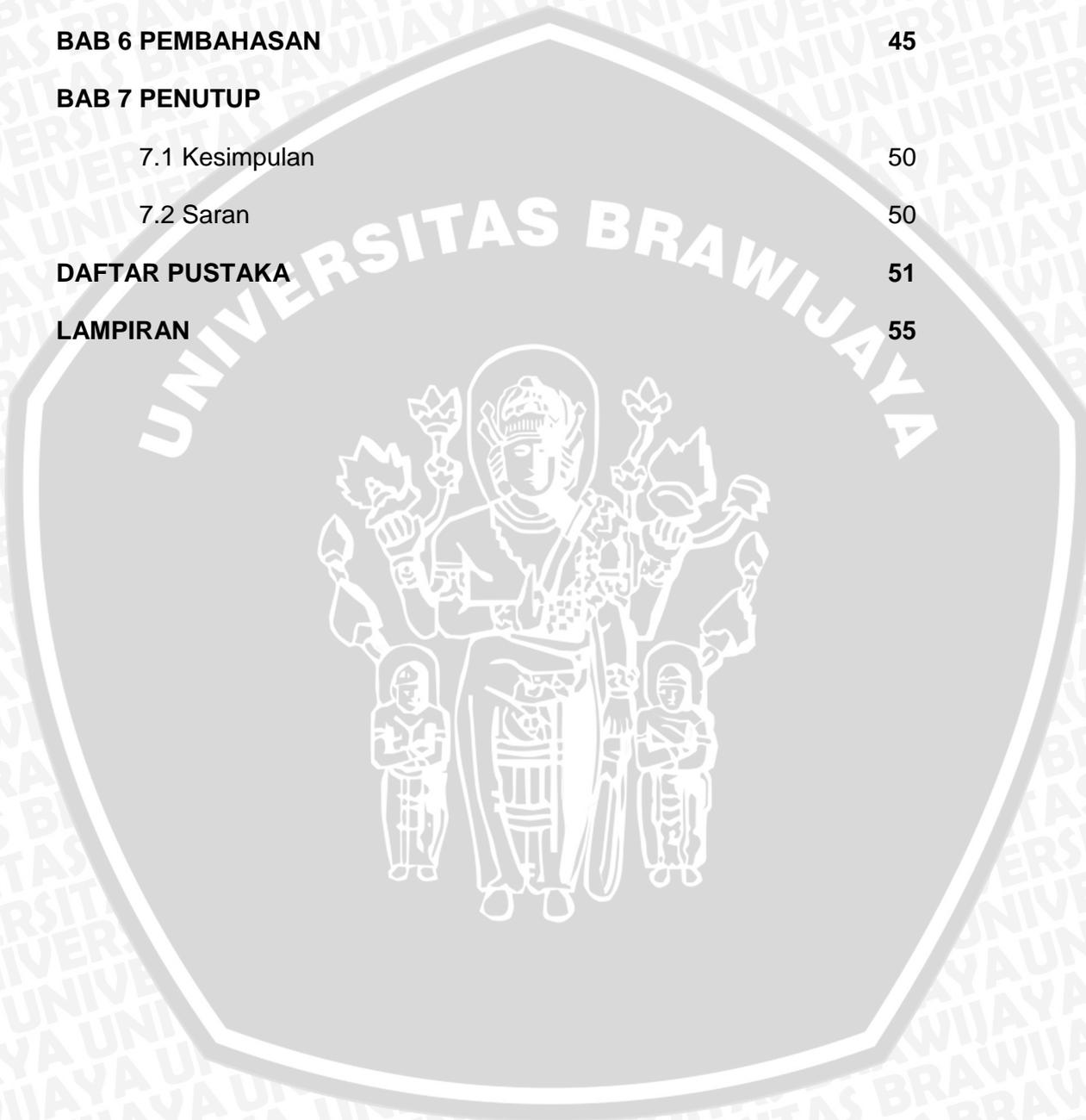
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
Daftar Singkatan	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Sindroma Metabolik	5
2.2 Aterosklerosis	10
2.2.1 Definisi	10
2.2.2 Epidemiologi	10
2.2.3 Patogenesis	11
2.2.4 Faktor yang berperan pada Aterosklerosis	13
2.3 Endothelial Progenitor Cell	20





2.3.1 Karakteristik dan Peran EPC	20
2.3.2 Jenis-jenis EPC	21
2.3.3 Circulating EPC	23
2.3.4 Peran EPC dalam Reendotelisasi dan Revaskularisasi	24
2.3.5 EPC sebagai Indikator Penyakit Gangguan Vaskular	25
2.3.6 Peran EPC dalam Penyakit Vaskular	26
2.4 Kajian Teoritis Hubungan Profil Lipid dengan EPC	27
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Penelitian	29
3.2 Hipotesis Penelitian	30
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Rancangan Penelitian	31
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	31
4.3 Variabel Penelitian	32
4.3.1 Variabel Bebas	32
4.3.2 Variabel Terikat	32
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	32
4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian	33
4.5.1 Bahan Penelitian	33
4.5.2 Instrumen Penelitian	33
4.6 Definisi Operasional	34
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data	36
4.7.1 Prosedur Penelitian	36
4.7.1.1 Prosedur Pemeriksaan Profil Lipid	38
4.7.1.2 Metode Isolasi PBMC	39
4.7.1.3 Prosedur Pemeriksaan EPC	40
4.7.2 Cara Pengumpulan Data	41

4.8 Metode Analisis Data	41
<b>BAB 5 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN</b>	
5.1 Data Hasil Penelitian	42
5.2 Analisis Penelitian	44
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>	<b>45</b>
<b>BAB 7 PENUTUP</b>	
7.1 Kesimpulan	50
7.2 Saran	50
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>55</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Penyebab Kematian Utama di AS tahun 2000



**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1	Kriteria Diagnosis Sindroma Metabolik	6
Tabel 2.2	Batas Lingkar Pinggang untuk Obesitas Sentral	9
Tabel 2.3	Perbedaan Early EPC dan EOC	22
Tabel 2.4	Faktor yang Mempengaruhi Jumlah dan Fungsi EPC	26
Tabel 5.1	Karakteristik 50 Responden Penelitian	42
Tabel 5.2	Karakteristik 45 Responden Penelitian	42
Tabel 5.3	Hasil Analisis Korelasi dan Regresi 50 Sampel	43
Tabel 5.4	Hasil Analisis Korelasi dan Regresi 45 Sampel	43



## DAFTAR SINGKATAN

AHA	: <i>American Heart Association</i>
ASCVD	: <i>Atherosclerotic Cardiovascular Diseases</i>
CD34	: <i>Cluster of Differentiation-34</i>
EPC	: <i>Endothelial Progenitor Cells</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
GDP	: <i>Gula Darah Puasa</i>
HDL	: <i>High-density Lipoprotein</i>
IDF	: <i>International Diabetes Foundation</i>
IGT	: <i>Impaired Glucose Tolerance</i>
KDR	: <i>Kinase Domain Receptor</i>
LDL	: <i>Low-density Lipoprotein</i>
NCEP-ATP	: <i>National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel</i>
NHLBI	: <i>National Heart, Lung, and Blood Institute</i>
NOS	: <i>Nitric Oxide Synthase</i>
OxLDL	: <i>Oxidized Low-density Lipoprotein</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
TG	: <i>Trigliserida</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
vWF	: <i>von Willenbrand Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

## BAB 1

## PENDAHULUAN

## 1.1 LATAR BELAKANG

Sindroma Metabolik adalah kumpulan gejala dari berbagai faktor risiko kardiometabolik antara lain obesitas sentral, resistensi insulin (RI), intoleransi glukosa, dislipidemia, *non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*, dan hipertensi. Peningkatan prevalensi obesitas di dunia menyebabkan peningkatan prevalensi sindroma metabolik (Bruce *et al*, 2009). Menurut *World Health Organization (WHO)* di beberapa negara prevalensi *overweight* dan obesitas adalah di atas 1,7 miliar dan 310 juta (Hossain, 2007). Di Amerika Serikat (AS) menurut *National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)*, dari 8.814 orang yang berumur 20-29 dan 60-69 tahun prevalensinya adalah 7% dan 40% (Ford *et al*, 2002). Di Singapore, menurut *Singapore Cardiovascular Cohort Study* dari 4.334 orang dengan kriteria *International Diabetes Federation (IDF)* dan *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA/NHLBI)* prevalensinya adalah 17,7% dan 26,2%, dimana angka pada etnik India lebih tinggi dibanding etnik Cina dan etnik Melayu (Lee *et al*, 2007). Kajian dari 500.000 orang Amerika yang berumur antara 50-71 tahun selama 10 tahun terdapat peningkatan mortalitas antara 20-40% pada laki-laki dan perempuan yang *overweight*, sedangkan pada yang obesitas 2-3 kali lipat (Adam *et al*, 2006). Di Indonesia prevalensi *overweight* dan obesitas adalah 8,8-10,3% (Risikesdas, 2007) dan di Medan dari data survei di Puskesmas adalah 51,0% (Survei Penyakit Degeneratif, 2006). Peningkatan prevalensi obesitas yang

dramatis ini merupakan masalah serius karena dapat menyebabkan peningkatan penyakit lain yang berhubungan dengan obesitas.

Sindroma metabolik merupakan faktor risiko dari *atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD)* (NCEP-ATP III, 2002). Faktor risiko metabolik yang sudah dikenal seperti dislipidemia aterogenik, peningkatan tekanan darah (TD) dan glukosa darah bisa menjadi keadaan protrombosis dan proinflamasi. Yang termasuk dislipidemia aterogenik adalah peningkatan trigliserid (TG), apolipoprotein-B (Apo-B), partikel *small Low Density Lipoprotein* (sd-LDL), dan penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL) (Grundy et al, 2005).

*Endothelial Progenitor Cells* (EPC) merupakan sel-sel yang terdapat di dalam sumsum tulang dan sirkulasi darah yang mampu membelah dan berdiferensiasi menjadi sel-sel endotel dan memperbaiki jaringan iskemik akibat rusaknya dinding pembuluh darah. *Endothelial Progenitor Cell* dapat memperbaiki kondisi-kondisi penyakit yang diawali dengan kerusakan sel-sel endotel, baik secara anatomis/struktural maupun fungsional, melalui mekanisme neovaskularisasi (Nababan dan Okki, 2010).

Salah satu diagnosis sindroma metabolik yang paling penting adalah abnormalitas kadar profil lipid. Abnormalitas profil lipid dapat jatuh dalam keadaan aterosklerosis. Aterosklerosis adalah suatu kondisi patologis pembuluh darah dimana terjadi penebalan dan pengerasan pembuluh darah karena penumpukan lemak khususnya kolesterol dan LDL pada profil lipid yang disebabkan oleh disfungsi LDL dalam reendotelisasi endotel pembuluh darah yang rusak karena adanya LDL. Peran EPC sebagai sel yang dapat berdiferensiasi menjadi endotel baru tidak berfungsi secara baik sehingga LDL

dapat masuk ke tunika intima, teroksidasi dan terbentuk *foam cells* dan lebih jauh dapat menyebabkan komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular (Moll, 2008).

Penelitian terdahulu yang sudah dilakukan adalah penelitian Werner *et al* pada tahun 2009 melakukan penelitian terhadap 519 penderita penyakit jantung koroner. Responden penelitian tersebut diobservasi selama 12 bulan untuk melihat hubungan antara EPC dengan kejadian penyakit jantung koroner. Setelah dievaluasi, di kalangan penderita dengan kadar EPC yang lebih tinggi angka kematian akibat penyakit kardiovaskuler, kejadian penyakit kardiovaskuler berat, revaskularisasi, dan hospitalisasi lebih rendah (Karundeng, 2008). Maka dari itu, peneliti tertarik untuk mengajukan proposal penelitian yang berjudul “Korelasi antara Profil Lipid dengan *circulating Endothelial Progenitor Cell* pada pasien Sindroma Metabolik”

## 1.2 RUMUSAN MASALAH

1.2.1 Adakah hubungan antara profil lipid dengan *circulating endothelial progenitor cell* pada pasien sindroma metabolik ?

## 1.3 TUJUAN PENELITIAN

### 1.3.1 Tujuan Umum

Menentukan adakah hubungan antara profil lipid terhadap kadar *circulating endothelial progenitor cell* pada pasien sindroma metabolik.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan kadar profil lipid pada pasien sindroma metabolik.
2. Menentukan kadar *circulating endothelial progenitor cell* pada pasien sindroma metabolik.
3. Menentukan hubungan antara kadar profil lipid dengan kadar *circulating endothelial progenitor cell* pada pasien sindroma metabolik.

### 1.4 MANFAAT PENELITIAN

#### 1.4.1 Manfaat Akademis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan mengenai hubungan antara Profil Lipid dengan *circulating endothelial progenitor Cell* pada pasien sindroma metabolik.

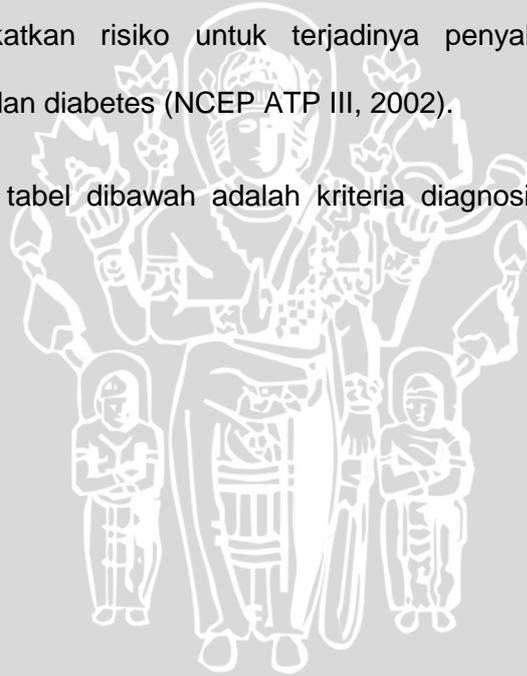
## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Sindroma Metabolik

Sindroma metabolik adalah sekumpulan faktor risiko (obesitas sentral, glukosa darah tinggi/toleransi glukosa, dislipidemia, dan hipertensi) yang saling berkaitan dan secara bersama-sama ataupun akan meningkatkan risiko untuk terjadinya penyakit kardiovaskuler aterosklerotik dan diabetes (NCEP ATP III, 2002).

Berikut tabel dibawah adalah kriteria diagnosis untuk sindroma metabolik.



**Tabel 2.1 Kriteria Diagnosis Sindroma Metabolik**

	WHO	NCEP ATP III	IDF	AHA / NHLBI
<b>KRITERIA DIAGNOSIS</b>	DM tipe 2, IGT, atau resistensi insulin + 2 kriteria lainnya.  Jika toleransi glukosa normal, minimal 3 kriteria lainnya.	Minimal 3 dari 5 kriteria	Obesitas sentral + 2 kriteria lainnya	Minimal 3 dari 5 kriteria
<b>Tekanan Darah</b>	≥ 140/90 mmHg  atau dalam pengobatan antihipertensi	≥ 130/85 mmHg  atau dalam pengobatan antihipertensi	≥ 130/85 mmHg  atau dalam pengobatan antihipertensi	≥ 130/85 mmHg  atau dalam pengobatan antihipertensi
<b>TG</b>	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL
<b>HDL-C</b>	L < 35 mg/dL  P < 40 mg/dL	L < 40 mg/dL P < 50 mg/dL	L < 40 mg/dL  P < 50 mg/dL atau dalam pengobatan dislipidemia	L < 40 mg/dL P < 50 mg/dL
<b>Obesitas Sentral</b>	Rasio pinggang-pinggul:  ♂ ≥ 0,9  ♀ ≥ 0,85  dan/atau  IMT > 30 kg/m <sup>2</sup>	Lingkar pinggang  ♂ ≥ 102 cm, ♀ ≥ 88cm	Lingkar pinggang tergantung etnis.  Asia:  ♂ ≥ 90 cm  ♀ ≥ 80 cm  atau IMT >30 kg/m <sup>2</sup>	Lingkar pinggang  ♂ ≥ 102 cm, ♀ ≥ 88cm
<b>GDP</b>	Terdiagnosis DM tipe 2 atau IGT	≥ 110 mg/dL	≥100 mg/dL atau terdiagnosis DM tipe 2	≥100 mg/dL  Atau  Penggunaan obat untuk hiperglikemi



Keterangan Tabel :

WHO	= World Health Organization
NCEP ATP III	= National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
IDF	= International Diabetes Federation
AHA/NHLBI	= American Heart Association / National Heart, Lung, and Blood Institute
TG	= Trigliserida
HDL-C	= High Density Lipoprotein Cholesterol
GDP	=Gula Darah Puasa
IGT	= Impaired Glucose Tolerance
IMT	= Indeks Massa Tubuh

Berdasarkan *Joint Interim Statement* antara *IDF*, *AHA*, *NHLBI*, *World Heart Federation (WHF)*, *International Atherosclerosis Society (IAS)*, dan *International Association for the Study of Obesity*, maka ditetapkan bahwa tidak seharusnya ada kriteria wajib. Obesitas sentral tidak seharusnya menjadi prasyarat mutlak, melainkan merupakan bagian dari kriteria, dimana diagnosis sindroma metabolik ditegakkan bila ada minimal 3 dari 5 kriteria faktor risiko sindroma metabolik (Alberti *et al*, 2009) :

- Obesitas sentral: tergantung etnis  
Untuk orang Asia: rasio perut-pinggul > 90 cm untuk pria dan > 80 cm untuk wanita.
- Peningkatan trigliserida: > 150 mg/dL (1,7 mmol/L), atau perawatan spesifik untuk kelainan lipid ini.

- Penurunan HDL kolesterol:  $< 40$  mg / dL (1,03 mmol/L) pada laki-laki,  $< 50$  mg/dL (1,29 mmol/L) pada wanita, atau perawatan spesifik untuk kelainan lipid ini
- Hipertensi: tekanan darah sistolik  $> 130$  atau diastolik  $> 85$  mm Hg, atau pengobatan hipertensi didiagnosis sebelumnya.
- Peningkatan glukosa plasma puasa (FPG):  $> 100$  mg/dL (5,6 mmol/L), atau sebelumnya didiagnosis diabetes mellitus tipe 2. Jika FPG  $> 5,6$  mmol/L atau 100 mg/dL.



Tabel 2.2 Batas Lingkar Pinggang untuk Obesitas Sentral/Abdominal

Population	Organization (Reference)	Men	Women
Europid	IDF (4)	≥ 94 cm	≥ 80 cm
Caucasian	WHO (7)	≥ 94 cm (increased risk) ≥ 102 cm (still higher risk)	≥ 80 cm (increased risk) ≥ 88 cm (still increased risk)
United States	AHA/NHLBI (ATP III)* (5)	≥ 102 cm	≥ 88 cm
Canada	Health Canada (8,9)	≥ 102 cm	≥ 88 cm
Europea	European Cardiovascular Societies (10)	≥ 102 cm	≥ 88 cm
Asian (including Japanese)	IDF (4)	≥ 90 cm	≥ 80 cm
Asian	WHO (11)	≥ 90 cm	≥ 80 cm
Japanese	Japanese Obesity Society (12)	≥ 85 cm	≥ 90 cm
China	Cooperative Task Force (13)	≥ 85 cm	≥ 80 cm
Middle East, Mediterranean	IDF (4)	≥ 94 cm	≥ 80 cm
Sub-Saharan African	IDF (4)	≥ 94 cm	≥ 80 cm
Ethnic Central and South American	IDF (4)	≥ 90 cm	≥ 80 cm

## 2.2 Aterosklerosis

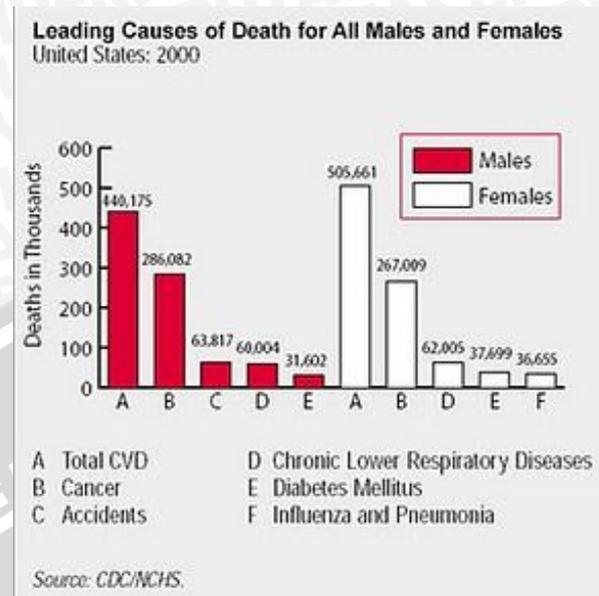
### 2.2.1 Definisi

Aterosklerosis adalah kondisi dimana adanya penebalan dinding pembuluh darah, khususnya pembuluh darah arteri sebagai hasil dari akumulasi material lipid seperti kolesterol, LDL dan sebagainya. Aterosklerosis adalah suatu bentuk inflamasi kronis di dinding pembuluh darah, dikarenakan akumulasi dari makrofag dari sel darah putih (leukosit) dan LDL tanpa pembersihan lipid dan kolesterol yang adekuat oleh HDL fungsional sehingga muncul plak atheroma di pembuluh darah. Aterosklerosis adalah patofisiologi utama terjadinya pengerasan pembuluh darah (Fauci *et al*, 2008)

### 2.2.2 Epidemiologi

Aterosklerosis merupakan penyebab utama penyakit kardiovaskuler sehingga dikatakan sebagai pembunuh terbesar utama baik di negara maju maupun negara berkembang. Di Amerika Serikat, aterosklerosis menyebabkan lebih dari setengah kematian per tahun.

Setiap 2 detik terjadi satu kematian akibat penyakit kardiovaskular. Setiap tahunnya diperkirakan 17 juta orang meninggal akibat penyakit kardiovaskular. Pada tahun 2005, angka kematian akibat penyakit kardiovaskular mencapai 17,5 juta. Sekitar 7,6 juta diantaranya terjadi karena penyakit jantung koroner dan 5,7 juta karena stroke. Diperkirakan kematian global akibat penyakit kardiovaskular mencapai sekitar 25 juta pada tahun 2020 (Fauci *et al*, 2008)



**Gambar 2.1 Penyebab Kematian Utama di AS Tahun 2000**

### 2.2.3 Patogenesis

Mekanisme awal terjadinya aterosklerosis adalah masuknya LDL dari lumen pembuluh darah ke dinding pembuluh darah. LDL dapat masuk ke pembuluh darah karena terlebih dahulu endotel pembuluh darah yang rusak atau disfungsi karena adanya LDL tersebut. EPC yang seharusnya berperan sebagai sel yang membentuk endotel baru setelah ada kerusakan dan dapat mencegah LDL masuk ke tunika intima mengalami kerusakan, sehingga LDL teroksidasi menjadi *Oxidized Low Density Lipoprotein (OxLDL)*. *Oxidized LDL* diketahui sebagai bentukan LDL yang paling aterogenik.

LDL menjadi lebih berpotensi menimbulkan suatu abnormalitas apabila teroksidasi. Oksidasi dari LDL terjadi ketika LDL bereaksi dengan radikal bebas dan disebut *Oxidized LDL*. *Oxidized LDL* menjadi lebih reaktif terhadap jaringan di sekitar dan merusaknya. *Oxidized LDL* melepaskan stimulasi sinyal inflamasi

sel endotel dengan cara melepaskan protein kemotaktik seperti MCP1 (*monocyte chemoattractant protein-1*) dan faktor pertumbuhan seperti mCSF (monocyte colony stimulating factor), yang berperan dalam proses masuknya monosit menuju dinding pembuluh darah (Catapano *et al*, 2000)

Selanjutnya monosit akan berubah menjadi makrofag dan memfagosit *Oxidized* LDL sehingga terbentuk *foam cell*, sel utama penginduksi aterosklerosis. Selain dari itu, *Oxidized* LDL berperan dalam menghambat produksi NO, agen vasodilatasi dan ekspresi adhesi leukosit endotel. Partikel *Oxidized* LDL dikenali oleh Scavenger Receptor-A (SR-A), antigen CD36 dan antigen makrofag CD68. *Foam cell* menjadi membesar dan penuh dengan lipid. Sel ini berakumulasi di jaringan, lalu mati dan membentuk plak atheroma (Meydani, 2001)

Makrofag yang teraktivasi mengekspresikan sitokin seperti TNF-alfa, IL-1 beta, MIP1-alfa dan sebagainya yang menstimulasi sel endotel pembuluh darah mengekspresikan protein adhesi seperti VCAM1, ICAM1 dan sebagainya. Hal ini memfasilitasi proses penggabungan antara monosit di endotel dan monosit yang sudah ada di dalam tunikaintima. Sitokin yang dilepaskan dari makrofag dan *foam cell* juga menstimulasi otot polos pembuluh darah migrasi menuju tunika intima lalu berproliferasi dan mensekresikan kolagen, elastin dan proteoglikan untuk membentuk matriks fibrosa. Hasilnya adalah bentukan plak atheroma dengan kapsul fibrosa.

Plak aterosklerosis yang matur memiliki kapsul fibrosa, yang meliputi otot polos, makrofag, limfosit, matriks ekstraselular yang berbentuk *foam cell*, dan mediator inflamasi, yang membentuk kapsul aselular dan bentukan nekrosis kaya

lipid derivat foam cell yang telah mati. Plak yang matur ini akhirnya menonjol ke lumen pembuluh darah dan menyebabkan obstruksi pembuluh darah. (Upston et al, 2003).

## 2.2.4 Faktor yang berperan pada aterosklerosis

### 2.2.4.1 Faktor yang mempercepat aterosklerosis

#### a. Major Risk Factor

Major Risk Factor terbagi menjadi Non-Modifiable dan Modifiable factor.

#### 1. Non-Modifiable Risk Factor

##### - Usia

Usia lebih tua memiliki resiko lebih besar daripada usia lebih muda.

##### - Jenis Kelamin

Pria memiliki resiko lebih besar daripada wanita.

##### - Herediter

Seseorang yang memiliki hubungan darah dengan orang yang menderita atherosklerosis memiliki resiko lebih besar daripada yang tidak.

## 2. Modifiable factor

### - Diabetes

Diabetes adalah faktor risiko utama dari atherosklerosis yang berhubungan dengan kelainan endotel secara anatomis dan fungsional, agregasi platelet, meningkatnya stress oksidatif dan lain-lain.

### - Obesitas

Resistensi insulin pada obesitas diduga penyebab sindroma metabolik. Resistensi insulin mengganggu proses penyimpanan dan sintesis lemak. Efek anabolik insulin berhubungan dengan penyakit jantung, salah satunya infark miokard akut. Insulin merangsang lipogenesis sehingga konsentrasi TG meningkat diimbangi dengan penurunan HDL karena peningkatan efek *Cholesteryl Esterase* yang merubah HDL menjadi VLDL.

### - Merokok

Individu yang merokok memiliki risiko 2 kali lebih besar menderita atherosklerosis daripada individu yang tidak merokok

## - Dislipidemia

### a. Definisi

Dislipidemia adalah jumlah lipid yang abnormal dan ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total ( $>200\text{mg/dl}$ ), kolesterol LDL ( $>150\text{ mg/dl}$ ), kenaikan kadar trigliserida ( $>150\text{ mg/dl}$ ) serta penurunan kadar HDL ( $<40\text{ mg/dl}$  pada laki-laki dan  $<50\text{ mg/dl}$  untuk wanita). Dalam proses terjadinya aterosklerosis semuanya mempunyai peran yang penting dan sangat kaitannya satu dengan yang lain, sehingga tidak mungkin dibicarakan sendiri-sendiri.

### b. Epidemiologi Dislipidemia

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sudijanto Kamso dkk. (2004) terhadap 656 responden di 4 kota besar di Indonesia (Jakarta, Bandung, Yogyakarta, dan Padang) didapatkan keadaan dislipidemia berat (total kolesterol  $>240\text{ mg/dL}$ ) pada orang berusia diatas 55 tahun didapatkan paling banyak di Padang dan Jakarta ( $>56\%$ ), diikuti oleh mereka yang tinggal di Bandung (52,2%) dan Yogyakarta (27,7%). Pada penelitian ini juga didapatkan bahwa prevalensi dislipidemia lebih banyak didapatkan pada wanita (56,2%) dibandingkan pada pria (47%). Dari keseluruhan wanita yang mengidap dislipidemia tersebut

ditemukan prevalensi dislipidemia terbesar pada rentang usia 55-59 tahun (62,1%) dibandingkan yang berada pada rentang usia 60-69 tahun (52,3%) dan berusia diatas 70 tahun (52,6%).

### c. Komplikasi Dislipidemia

Apabila dislipidemia tidak segera diatasi, maka dapat terjadi berbagai macam komplikasi, antara lain:

- Atherosklerosis
- Penyakit jantung koroner
- Penyakit serebrovaskular seperti stroke
- Kelainan pembuluh darah tubuh lainnya
- Infark Miokard Akut
- Trigliserida

Trigliserida (Triasil Gliserol) adalah bentukan ester derivat dari gliserol dan 3 asam lemak. Banyak jenis dari trigliserida, tergantung dari sumber minyak, beberapa memiliki tingkat ketidakjenuhan yang tinggi dan beberapa yang lain lebih rendah. Senyawa trigliserida tersaturasi (jenuh) disaturasi oleh ion hidrogen (Meydani, 2001).

- HDL yang rendah

Partikel HDL dapat menghilangkan kolesterol di dalam arteri dan mentranspornya kembali ke hepar untuk dieksresi atau digunakan kembali, sehingga HDL seringkali disebut kolesterol baik. Individu yang memiliki level HDL-C yang lebih tinggi memiliki probabilitas dan masalah kardiovaskular yang lebih rendah, sedangkan individu yang memiliki level HDL-C lebih rendah memiliki risiko penyakit kardiovaskular yang lebih tinggi (Meydani, 2001).

- LDL yang tinggi

LDL mentransportasi molekul-molekul lemak yang berbeda termasuk kolesterol di dalam air sekitar sel dan di dalam aliran darah. Penelitian telah memperlihatkan bahwa LDL tipe B meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular, sehingga LDL seringkali disebut kolesterol jahat (Meydani, 2001).

- Oxidized LDL

LDL menjadi lebih berpotensi menimbulkan suatu abnormalitas apabila teroksidasi. Oksidasi dari LDL terjadi ketika LDL bereaksi dengan radikal bebas dan disebut oxidized LDL. Oxidized LDL menjadi lebih reaktif terhadap jaringan di sekitar dan merusaknya. Oxidized LDL

melepaskan stimulasi sinyal inflamasi sel endotel dengan cara melepaskan protein kemotaktik seperti MCP1 (Monocyte Chemotactic Protein-1) dan faktor pertumbuhan seperti mCSF (Monocyte Colony Stimulating Factor), yang berperan dalam proses masuknya monosit menuju dinding pembuluh darah (Catapano et al, 2000). Selanjutnya monosit akan berubah menjadi makrofag dan memfagosit Oxidized LDL sehingga terbentuk Foam Cell, sel utama penginduksi aterosklerosis. Foam Cell menjadi membesar dan penuh dengan lipid. Sel ini berakumulasi di jaringan, lalu mati dan membentuk plak atherogenous atau atheroma (Meydani, 2001).

b. Emerging Risk Factor

- C-reactive protein

CRP adalah salah satu indikator sekaligus inisiator uptake LDL oleh makrofag sehingga CRP berperan langsung pada patogenesis aterosklerosis (Torzewski et al, 2000).

- Homosistein

Peran homosistein dalam aterosklerosis adalah menginduksi aktivasi platelet, stress oksidatif, proliferasi otot polos pembuluh darah, disfungsi endotel, hiperkoagulasi, dan stress retikulum endoplasma (De Bree et al, 2002).

- Fibrinogen

Fibrinogen dapat berperan secara langsung pada atherosklerosis maupun kerusakan pembuluh darah dengan fungsinya seperti regulasi adhesi sel, kemotaksis, proliferasi, vasokonstriksi pembuluh darah yang cedera, stimulasi agregasi platelet, dan deteminan viskositas darah.

- Lipoprotein (a)

Lipoprotein berikatan dengan sel endotel, makrofag, trombosit, dan matriks subendotel yang menyebabkan proliferasi otot polos pembuluh darah dan kemotaksis monosit (Pillariseti et al, 2001).

#### 2.2.4.2 Faktor yang memperlambat atherosklerosis

a. Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu enzim yang dapat memperlambat, mencegah, atau menangkal interaksi oksidan dengan target molekulnya. Antioksidan terdiri dari dua macam, yaitu antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh seperti *Superoxide dismutase (SOD)*, *katalase*, dan *glutathione peroxidase (Gpx)*. Adapula antioksidan yang didapat dari luar tubuh, yaitu vitamin E, vitamin C, vitamin A, karotenoid, dan betakaroten.

b. Endothelial Progenitor Cell

Karena pentingnya faktor EPC ini, penulis akan mengulas EPC dalam subbab tersendiri

### 2.3 Endothelial Progenitor Cell (EPC)

Endothelial Progenitor Cell (EPC) belum banyak dibicarakan seperti antioksidan, namun diyakini berperan penting dalam memperlambat aterosklerosis, yaitu melalui reendotelisasi dan neovaskularisasi. (Nakamura, 2009)

#### 2.3.1 Karakteristik dan Peran EPC

EPC merupakan sel yang memiliki karakteristik sel punca (*stem cell*) unipoten sehingga memiliki kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang lebih terbatas yaitu dapat berdiferensiasi menjadi sel endotel matang. EPC memiliki peran penting dalam pembentukan pembuluh darah dan remodelisasi sel endotelial pada pembuluh darah yang mengalami kerusakan (Frisca dkk, 2008).

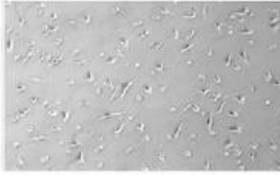
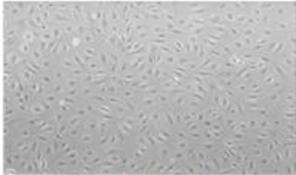
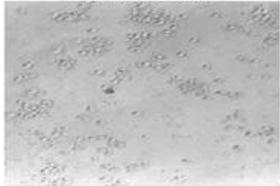
EPC didefinisikan sebagai bagian dari sel berinti tunggal (*mononuclear cell* atau MNC) yang memiliki molekul penanda sel punca hematopoietik, yaitu CD34, suatu glikoprotein yang memediasi pelekatan sel punca pada matriks ekstraseluler sumsum tulang dan CD133, suatu glikoprotein yang dilaporkan merupakan molekul penanda untuk sel punca yang lebih primitif dibandingkan CD34, sampai saat ini fungsi dari molekul CD 133 masih belum diketahui dengan pasti. EPC yang telah mengalami diferensiasi menjadi sel yang lebih matang secara berangsur-angsur akan kehilangan ekspresi CD34. EPC juga memiliki

molekul penanda sel endotelial, yaitu Kinase *Insert Domain Receptor* (KDR), suatu protein yang berperan penting dalam menstimulasi proliferasi, perkembangan pembuluh darah baru (*sprouting*), dan angiogenesis. EPC juga berperan dalam pelekatan dan interaksi antar sel.. Beberapa molekul penanda sel endotelial matang lainnya yang dapat dimiliki oleh EPC antara lain sebagai berikut: *Platelet endothelial cell adhesion molecule-1* (CD31), berperan dalam pelekatan sel endotel dan merupakan molekul yang berperan dalam proses migrasi leukosit melalui jaringan interseluler sel-sel endotel; CD146 (P1H12), berperan dalam memediasi pelekatan antar sel endotel; *Von Willebrand factor* (vWF), berperan dalam proses koagulasi darah; Tie-2 berperan dalam pematangan jaringan sel endotel selama vaskulogenesis atau angiogenesis; dan *Endothelial nitric oxide synthase* (NOS), berperan dalam pengaturan fungsi pembuluh darah (Frisca dkk, 2008).

### 2.3.2 Jenis-jenis EPC

Ada 2 jenis *Endothelial Progenitor Cell*, diantaranya adalah *Early EPC* dan *Late EPC/Endothelial Outgrowth Cell* (EOC). Perbedaan antara *Early EPC* dan *Late EPC/Endothelial Outgrowth Cell* (EOC) dijelaskan dalam tabel berikut.

Tabel 2.3 Perbedaan *Early EPC* dan *EOC*

Karakteristik	<i>Early EPCs</i>	<i>EOCs</i>
Waktu ditemukannya dalam kultur	4-7 hari	10-20 hari
Morfologi sel	 <i>Spindle</i>	 <i>Cobblestone</i>
Kecepatan proliferasi setelah waktu optimal tercapai	Rendah	Tinggi
Jumlah mediator yang disekresi (VEGF dan IL-8)	Tinggi	Rendah
Molekul penanda	CD34, CD14, CD11b, CD11c, CD45, KDR, VE-cadherin, CD31, Tie-2, vWF	KDR, VE-cadherin, CD31, Tie-2, vWF, eNOS
Pembentukan struktur vaskular dalam matriks dimensi	Tidak terbentuk 	Terbentuk 

Keterangan tabel :

VEGF : *Vascular endothelial growth factor*,

IL-8 : Interleukin-8;

CD : *Cluster of differentiation*,

KDR : *Kinase Domain Receptor*,

Tie-2 : protein reseptor tirosin kinase, spesifik epitel,

vWF : *Von Willebrand factor*,

eNOS : *endothelial nitric oxide sintase*.

### 2.3.3 *Circulating EPC*

EPC yang bersirkulasi dalam peredaran darah, seringkali disebut sebagai *Circulating Endothelial Progenitor Cell*. *Circulating EPC* dapat berasal dari hasil mobilisasi EPC dari sumsum tulang atau dari daerah-daerah tertentu tempat EPC berada, seperti organ jantung, otot, saluran pencernaan, dan peredaran darah. *Circulating EPC* selanjutnya dapat bersirkulasi dalam peredaran darah dan dapat bermigrasi ke daerah yang mengalami iskemi dan daerah dengan pertumbuhan tumor akibat stimulasi mediator pertumbuhan yang turut berperan dalam terjadinya pembentukan pembuluh darah baru (Frisca dkk, 2008).

Peningkatan jumlah *circulating EPC* dapat dideteksi segera setelah terjadinya luka. Dilaporkan bahwa dalam waktu 6 jam setelah terjadi luka, peningkatan *circulating EPC* dapat segera terdeteksi dalam peredaran darah. Selama berada dalam peredaran darah, *circulating EPC* sudah mulai mengalami diferensiasi sehingga saat berada pada tempat terjadinya luka, *circulating EPC* telah siap berperan dalam penyembuhan luka. Proses diferensiasi EPC diduga diawali dengan migrasi EPC dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah yang kemudian melekat atau menyusup ke dalam lingkungan tempat sel endotel matang berada. Namun, sampai saat ini belum ada definisi yang jelas mengenai kapan diferensiasi EPC menjadi sel endotel matang. Sel endotel matang tidak mengekspresikan molekul CD133, CD34, dan ekspresi paralel

lanjutan untuk molekul penanda spesifik sel endotel seperti vWF (Frisca *dkk*, 2008).

### 2.3.4 Peran EPC pada Reendotelisasi dan Neovaskularisasi

Reendotelisasi dan neovaskularisasi tergantung pada mobilisasi, homing, diferensiasi, adhesi, migrasi transendotel, kemotaksis, migrasi dan invasi EPC (Karundeng, 2008).

#### 2.3.4.1 Reendotelisasi

Penelitian saat ini menunjukkan reendotelisasi berasal dari EPC. Pada cedera endotel yang dibuat dengan implant Dacron pada anjing, beberapa saat kemudian permukaan daerah implant akan ditutupi oleh sel-sel CD34+. Walter *dkk* memperlihatkan EPC dapat homing ke bagian endotel yang dicerai dengan balon kateter. Transplantasi sel-sel turunan sumsum tulang dapat menyebabkan reendotelisasi pada endotel yang dibuat cedera (Karundeng, 2008).

Reendotelisasi dapat mengurangi restenosis dan penipisan miointimal dinding arteri secara bermakna, karena endotel tersebut telah dapat mensintesis kembali bahan antiproliferasi terutama nitrik oksida (NO). Hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa EPC dapat memperbaiki integritas endotel yang monolayer dengan menempati bagian-bagian endotel yang cedera atau disfungsi (Karundeng, 2008).

#### 2.3.4.2 Neovaskularisasi

Neovaskularisasi merupakan langkah penting dalam menyelamatkan jaringan iskemi, sebaliknya neovaskularisasi akan

mempercepat pertumbuhan tumor. Infus sel-sel yang diambil dari sumsum tulang atau sel-sel sumsum tulang yang dibiakkan *ex vivo* akan meningkatkan densitas kapiler dan neovaskularisasi di jaringan iskemik. Pada model miokard infark hewan coba, infus EPC atau sel punca sumsum tulang, memajukan vaskularisasi darah dan fungsi jantung serta mengurangi pembentukan jaringan ikat ventrikel kiri secara bermakna (Karundeng,2008).

### **2.3.5 EPC Sebagai Indikator Terdapatnya Risiko Penyakit Gangguan Vaskuler**

Jumlah EPC yang bersirkulasi akan menentukan daya reendotelisasi dan neovaskularisasi, sehingga peningkatan EPC akan menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler iskemik. Peningkatan EPC dalam sirkulasi tergantung dari daya mobilisasi sel stem sumsum tulang masuk ke sirkulasi darah (Karundeng, 2008).

Penelitian Werner *dkk* dari Maret 2003-Januari 2004 terhadap 519 penderita penyakit jantung koroner yang semuanya dibuktikan angiografi koroner, mereka diobservasi selama 12 bulan untuk melihat hubungan antara EPC dengan kejadian penyakit jantung koroner. Ternyata di kalangan penderita dengan kadar EPC yang lebih tinggi, angka kematian akibat penyakit kardiovaskuler, kejadian penyakit kardiovaskuler berat, revaskularisasi, dan hospitalisasi lebih rendah (Karundeng, 2008).

Tabel berikut menunjukkan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi jumlah dan fungsi *Endothelial Progenitor Cells* (EPC).

Tabel 2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Jumlah dan Fungsi EPC

Faktor yang Berpengaruh	Efek pada Jumlah EPC
<b>Fisiologis</b>	
Olahraga teratur	↑
Penuaan	↓
<b>Patologi</b>	
Infark miokard akut, trauma vaskuler, Gagal jantung (fase awal)	↑
Gagal jantung (fase lanjut), diabetes melitus, hiperkolesterolemia	↓
<b>Obat-obatan</b>	
Statin, puerarin	↑
<b>Mediator pertumbuhan, hormon, dan bahan kimia lainnya</b>	
VEGF2, SDF-1, eritropoietin, bFGF, GCSF	↑
Nikotin	↓

### 2.3.6. Peran EPC dalam Terapi Berbagai Penyakit Vaskuler

Perbedaan karakteristik *Early* EPC dan EOC dalam menghasilkan mediator dan pembentukan struktur vaskuler pada studi *in vitro* dan *in vivo* diduga dapat memberi kontribusi sinergis dalam terapi penyakit vaskuler. Beberapa penelitian telah melaporkan potensi dari *Early* EPC dan EOC dalam terapi penyakit gangguan vaskuler seperti terdapat pada jaringan yang

mengalami iskemia, pada proses penyembuhan luka, infark miokard, arterosklerosis, diabetes melitus, dan penyakit akibat disfungsi vaskuler lainnya. Melalui uji *in vitro*, *Early EPC* diketahui dapat meningkatkan proliferasi, migrasi, dan pembentukan struktur vaskuler dalam sistem parakrin, yaitu menghasilkan mediator yang menginduksi sel-sel endotel di sekitarnya untuk terjadinya pembentukan pembuluh darah baru. Sedangkan EOC lebih bertindak sebagai sel yang berinkorporasi dengan sel endotel matang lain untuk membentuk pembuluh darah. Sinergisme EPC dan EOC ditunjukkan dalam studi *in vivo* dengan mentransplantasikan 2 populasi EPC tersebut pada tikus yang menderita iskemia tungkai. Dengan ditransplantasikan secara bersamaan, EPC dan EOC meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru dibandingkan dengan bila ditransplantasikan secara terpisah. Oleh karena itu, diduga penggunaan 2 populasi EPC ini dibutuhkan secara bersama-sama sebagai terapi sel berbagai penyakit gangguan vaskuler (Frisca, 2008).

#### **2.4 Kajian Teoritis Hubungan Antara Profil Lipid dan EPC**

Pada sindroma metabolik, kadar LDL meningkat sehingga berpotensi merusak endotel pembuluh darah. Ketika terjadi kerusakan endotel pembuluh darah, seharusnya ada sel yang memperbaiki kerusakan tersebut, yaitu EPC. Apabila EPC dapat berfungsi secara maksimal, maka LDL tidak akan masuk ke tunika intima pembuluh darah sehingga aterosklerosis tidak terjadi. Namun EPC tidak berfungsi sebagaimana mestinya, sehingga kerusakan tetap ada dan LDL dapat masuk ke tunika intima dan teroksidasi yang membentuk LDL teroksidasi.

LDL menjadi lebih berpotensi menimbulkan suatu abnormalitas apabila teroksidasi. Oksidasi dari LDL terjadi ketika LDL bereaksi dengan radikal bebas

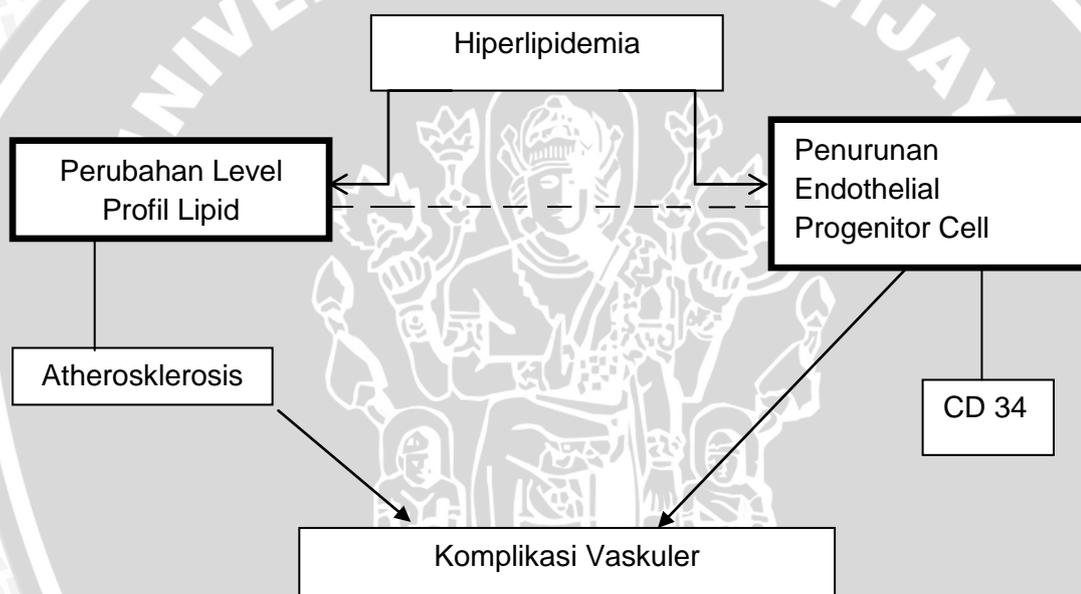
dan disebut oxidized LDL. Oxidized LDL menjadi lebih reaktif terhadap jaringan di sekitar dan merusaknya. Oxidized LDL melepaskan stimulasi sinyal inflamasi sel endotel dengan cara melepaskan protein kemotaktik yang berperan dalam proses masuknya monosit menuju dinding pembuluh darah (Catapano et al, 2000). Selanjutnya monosit akan berubah menjadi makrofag dan memfagosit Oxidized LDL sehingga terbentuk Foam Cell, terus membesar dan penuh dengan lipid. Sel ini berakumulasi di jaringan, lalu mati dan membentuk plak atherogenous (Meydani, 2001). Makrofag yang teraktivasi mengekspresikan sitokin seperti TNF-alfa, IL-1 beta, MIP1-alfa dan sebagainya yang menstimulasi sel endotel pembuluh darah mengekspresikan protein adhesi seperti VCAM1, ICAM1 dan sebagainya. Hal ini memfasilitasi proses penggabungan antara monosit di endotel dan monosit yang sudah ada di dalam tunika intima. Sitokin yang dilepaskan dari makrofag dan foam cell juga menstimulasi otot polos pembuluh darah migrasi menuju tunika intima lalu berproliferasi dan mensekresikan kolagen, elastin dan proteoglikan untuk membentuk matriks fibrosa. Hasilnya adalah bentukan plak atheroma dengan kapsul fibrosa.

Plak aterosklerosis yang matur memiliki kapsul fibrosa, yang meliputi otot polos, makrofag, limfosit, matriks ekstraselular yang berbentuk foam cell, dan mediator inflamasi, yang membentuk kapsul aselular dan bentukan nekrosis kaya lipid derivat foam cell yang telah mati. Plak yang matur ini akhirnya menonjol ke lumen pembuluh darah dan menyebabkan obstruksi pembuluh darah (Upston et al, 2003).

BAB 3

KERANGKA PENELITIAN DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Penelitian



Keterangan :

————— : Parameter yang diteliti

—————> : Diketahui menyebabkan

----- : Diketahui hubungannya tapi data masih sedikit



### Uraian Kerangka Penelitian :

Dislipidemia adalah abnormalitas jumlah lipid di dalam darah. EPC yang seharusnya berperan dalam angiogenesis, tidak bekerja secara maksimal atau disfungsi karena penurunan jumlahnya. Maka peneliti akan membuktikan apakah perubahan kadar profil lipid berhubungan dengan penurunan kadar EPC.

### 3.2 HIPOTESIS PENELITIAN

Terdapat korelasi antara perubahan kadar profil lipid pada pasien sindroma metabolik dengan penurunan kadar *circulating EPC*.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian survey. Data yang diambil menggunakan metode cross sectional. Hasilnya ditampilkan secara deskriptif dan dianalisis menggunakan analisis korelasi.

#### 4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah semua pasien sindroma metabolik di Poli Endokrinologi Penyakit Dalam RSUD dr. Saiful Anwar Malang. Sampel yang diambil adalah pasien sindroma metabolik yang bersedia menjadi responden penelitian di Poli Endokrinologi Penyakit Dalam RSUD dr. Saiful Anwar Malang. Teknik pengambilan sampel adalah dengan metode *Non Probability Sampling* yaitu dengan *Consecutive Sampling* karena sampel yang diambil berdasarkan pasien yang ada pada saat itu dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Kriteria inklusi :

- Penderita sindroma metabolik yang berusia antara 40 sampai 70 tahun dan bersedia untuk menjadi responden penelitian.
- Menderita diabetes mellitus

- Menderita dislipidemia (diutamakan Trigliserida dan HDL)
- Menderita hipertensi

Kriteria eksklusi :

- Pasien yang mengkonsumsi makan (tidak puasa) 10-12 jam sebelum pengambilan sampel.
- Pasien yang mengkonsumsi daging merah 3 hari sebelum pengambilan sampel.
- Riwayat penyakit jantung dan penyakit vaskular pada otak
- Riwayat trauma dan/atau pembedahan selama 2 bulan sebelum pengambilan sampel (Chen, 2010)

#### **4.3 Variabel Penelitian**

##### **4.3.1. Variabel Bebas**

- Kadar profil lipid

##### **4.3.2. Variabel Terikat**

- Kadar *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC)

#### **4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember tahun 2012-Februari tahun 2013 di Poli Endokrinologi Penyakit Dalam RSUD dr. Saiful Anwar, Laboratorium Ilmu Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

## 4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian

### 4.5.1 Bahan

- Darah 9cc untuk mengukur kadar *circulating* EPC dan kadar profil lipid
- *Lymphocyte Separation Medium* (LSM)
- Marker EPC
  - PerCp / Cy55 anti-human VEGFR2 antibody
  - FITC anti-human CD34 antibody
- Ficoll Hypaque 50 ml

### 4.5.2 Instrumen Penelitian

#### 4.5.2.1 Pengambilan Sampel

- Form surat pernyataan kesediaan menjadi responden penelitian
- Lembar pemeriksaan fisik
- Rekam Medis
- Sphygmomanometer dan stetoskop
- Vacutainer EDTA
- Vacutainer Plain
- Flashback Vacutainer
- Ice box
- Timbangan berat badan
- Pengukur tinggi badan
- Pita pengukur lingkar pinggang

#### 4.5.2.2 Pemeriksaan Profil Lipid

- Spektrofotometer
- Sentrifugator

#### 4.5.2.3 Identifikasi EPC

- Falcon
- Blue Tip
- Yellow Tip
- White Tip
- Micropipet
- Tabung 1,5 ml
- Sentrifugasi
- Flowcytometry FACSCalibur

#### 4.6 Definisi Operasional

##### 1. Sindroma Metabolik

Memenuhi kriteria sindroma metabolik yaitu kenaikan kadar Triglicerida ( $>150$  mg/dl), penurunan kadar HDL ( $<40$  mg/dl untuk wanita dan  $<50$  mg/dl untuk laki-laki) dengan tekanan darah diatas  $>130/85$  mmHg serta Diabetes Mellitus tipe 2 dan obesitas sentral.

Skala: Numerik

##### 2. Profil Lipid

Profil Lipid terdiri dari kadar *High-density Lipoprotein* (HDL), kadar *Low-density Lipoprotein* (LDL), kadar kolesterol total, dan kadar trigliserida. Kadar normal dari HDL adalah  $>40$  mg/dl

untuk pria dan >50 mg/dl untuk wanita. Sedangkan untuk LDL normal atau optimal <100 mg/dl dan dikatakan tinggi apabila >160 mg/dl. Kolesterol total yang normal adalah <200 mg/dl dan trigliserida normal <150 mg/dl. Kadar profil lipid dapat diketahui dengan memeriksa serum darah dari responden.

Skala: Numerik

3. *Endothelial Progenitor Cell (EPC)*

EPC merupakan sel yang memiliki karakteristik sel punca (*stem cell*) unipoten sehingga memiliki kemampuan proliferasi dan diferensiasi yang lebih terbatas. EPC memiliki peran penting dalam pembentukan pembuluh darah dan remodelisasi sel endotelial pada pembuluh darah yang mengalami kerusakan

Skala : Numerik

Banyaknya sampel yang dibutuhkan adalah sesuai dengan perhitungan menggunakan rumus berikut :

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2}{0,5 \ln [(1+r)/(1-r)]} + 3$$

Keterangan :

n : besar sampel minimum

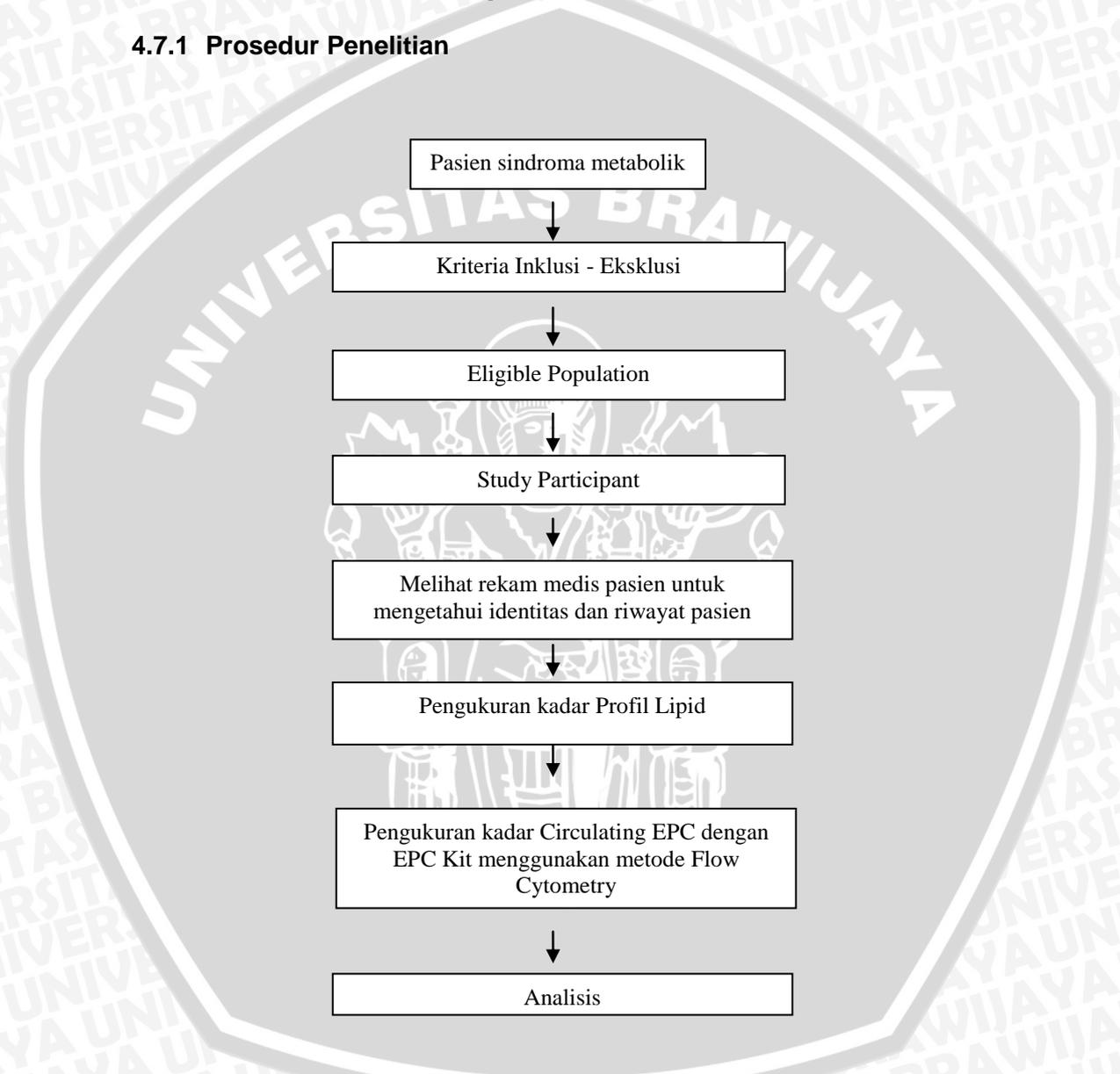
$Z_{\alpha}$  : nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada  $\alpha$  tertentu

$Z_{\beta}$  : nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada  $\beta$  tertentu

Dari hasil perhitungan di atas menunjukkan bahwa sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah 50 sampel.

#### 4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Prosedur Penelitian



Sebelum dilakukan penelitian terlebih dahulu dilakukan identifikasi untuk menentukan subyek penelitian (responden). Sampel yang diambil adalah pasien sindrom metabolik yang menjalani rawat jalan di Poli Penyakit Dalam Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang. Responden

adalah mereka yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan, serta bersedia menjadi responden. Penentuan kriteria inklusi dan eksklusi untuk responden dilihat dari rekam medis pasien rawat jalan di Poli Penyakit Dalam – Bagian Endokrinologi Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang.

Setelah mendapatkan responden berdasarkan penentuan kriteria inklusi dan eksklusinya, responden diberikan penjelasan mengenai proses penelitian dan prosedur yang akan dilaksanakan oleh peneliti. Responden berhak menentukan pilihan, apabila responden tersebut setuju dengan prosedur yang diajukan selanjutnya mengisi *informed consent*. Kemudian dilakukan kontrak tempat dan waktu penelitian antara peneliti dengan responden.

Proses penelitian akan berlangsung selama  $\pm$  30 menit untuk masing-masing responden. Penelitian ini meliputi pemeriksaan fisik (tekanan darah, berat badan, tinggi badan, lingkar pinggang) dan pengambilan sampel darah sebanyak 9 cc oleh tenaga medis profesional. Tempat penelitian di Poli Penyakit Dalam RS dr.Saiful Anwar Malang.

Setelah itu sampel darah akan dibawa ke Laboratorium Ilmu Fisiologi dan Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk dilakukan pemeriksaan kadar profil lipid dan *circulating* EPC selama 1 hari.

#### 4.7.1.1 Prosedur Pemeriksaan Profil Lipid

##### a. Kolesterol Total

Analisis untuk mengukur kadar kolesterol dilakukan menggunakan Cholesterol Analysis Kit metode CHOD-PAP. Kadar kolesterol ditentukan setelah reaksi hidrolisis enzimatis dan oksidasi. Indikator yang digunakan adalah quinoneimin yang terbentuk dari hidrogen peroksida dan 4-aminofenazon akibat adanya fenol dan peroksidase.

Prinsip reaksi adalah sebagai berikut.



Sampel serum dan standar diambil sebanyak 10  $\mu\text{l}$  dan 1000  $\mu\text{l}$  kit pereaksi di pipet ke dalam tabung reaksi, dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm

##### b. HDL dan LDL

Pengukuran kada HDL dan LDL pada prinsipnya adalah sama, dilakukan menggunakan Cholesterol HDL and LDL Analysis Kit. Ada 2 langkah dalam pengukuran, yaitu Presipitasi dan Penentuan Kadar. Sebanyak 200  $\mu\text{l}$  serum dan 500  $\mu\text{l}$  pereaksi presipitasi yang telah diencerkan dengan akuabides dengan rasio 4:1, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar. Setelahnya campuran disentrifus pada 4000rpm selama 10 menit sehingga diperoleh supernatanyang siap dianalisis. Sebanyak 100  $\mu\text{l}$  supernatan dipipet ke dalam tabung reaksi dan 1000  $\mu\text{l}$  pereaksi kolesterol, dihomogenkan dan diinkubasi

selama 5 menit pada suhu 37° C kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm

#### c. Triglicerida

Analisis untuk mengukur kadar triglicerida dilakukan menggunakan *Triglyceride Analysis Kit*. Kadar triglicerida ditentukan setelah reaksi hidrolisis enzimatis dengan lipase. Indikator yang digunakan adalah quinoneimin yang terbentuk dari hidrogen peroksida, 4-amino-antipirin dan 4-klorofenol dengan pengaruh katalitik dari peroksidase. Prinsip reaksi adalah sebagai berikut.



Sampel serum dan standar diambil sebanyak 10 µl dan 1000 µl kit pereaksi di pipet ke dalam tabung reaksi, dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37° C kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm.

#### 4.7.1.2 Metode Isolasi PBMC

1. Mencampur 2,5 cc *Phosfat Buffer Salin* (PBS) dengan 2,5 cc darah (1:1) pada tabung sentrifuge 15 mL dengan tujuan untuk mempertahankan pH. Setelah itu dihomogenkan.
2. Campuran sampel darah dengan PBS kemudian dilapiskan secara hati-hati (lewat dinding tabung) ke dalam tabung sentrifuge 15 mL yang telah berisi *Lymphocyte Separation Medium (LSM)* sebanyak 2,5 cc.

3. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 1600 rpm selama 30 menit dengan posisi *brake off*.
4. Setelah disentrifugasi akan terbentuk 4 lapisan yaitu berturut-turut eritrosit, granulosit (PMN), *ficoll hypaque*, cincin *buffy coat* (limfosit dan monosit), plasma, dan PBS.
5. Mengambil cincin *buffy coat* dengan hati-hati lalu memindahkannya ke dalam tabung baru.
6. Sel dicuci dengan PBS dan disentrifugasi dengan kecepatan 1300 rpm selama 10 menit.
7. Proses pencucian diulang 2-3 kali.
8. Membuang supernatan dan mengambil pelletnya yang merupakan PBMC terisolasi.

#### 4.7.1.3 Prosedur Pemeriksaan EPC

1. Membuat *Cell Staining Buffer*, yang isinya adalah *Fetal Bufine Serum* (FBS) 2% didalam PBS dan mencampurnya dengan antibodi CD34 (1:10) dan VEGFR (1:100).
2. Enceran antibodi diatas (nomor 1) dimasukkan dalam pipet sebanyak 50  $\mu$ L, dicampurkan ke dalam palate PBMC. Setelah itu diinkubasi selama 20-30 menit dalam gelap dan suhu 4°C.
3. Setelah inkubasi, lalu menambahkan *Cell Staining Buffer* sebanyak 300-400  $\mu$ L dan memindahkannya ke dalam tube 5 mL.
4. Melakukan pembacaan EPC pada *flowcytometry* dengan menggunakan program software *Cell QuestPro*.

#### 4.7.2 Cara Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan adalah data primer dan data sekunder.

- a. Data Primer berupa data kadar profil lipid dan *circulating endothelial progenitor cell* (EPC)
- b. Data Sekunder berupa data identitas, riwayat penyakit dan pengobatan responden diperoleh dengan cara melihat rekam medis pasien.

#### 4.8 Analisis Data

Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) versi 20.0

1. Data Kadar Profil Lipid dan *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC)

Data ini akan disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis menggunakan uji statistik. Untuk mengetahui hubungan antara peningkatan kadar profil lipid terhadap penurunan *Circulating Endothelial Progenitor Cell* (EPC) maka akan digunakan uji statistik korelasi *Spearman's Rho*.

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Data Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada 50 responden yang memenuhi kriteria inklusi yang telah ditentukan dan bersedia mengikuti penelitian. Seluruh responden diambil sampel darahnya masing-masing sebanyak 9 cc untuk pengukuran kadar profil lipid dan kadar *circulating endothelial progenitor cells*. Namun setelah didapatkan hasil, ternyata ada 5 responden yang menunjukkan nilai ekstrim baik EPC maupun profil lipid yang sangat berbeda dengan 45 responden lainnya. Sehingga untuk melihat uji korelasi dan regresi dilakukan cleaning data dan menyingkirkan 5 responden tersebut. Hasil karakteristik responden dan uji korelasi serta regresi dapat dilihat pada Tabel 5.1 sampai 5.4.

Tabel 5.1 Karakteristik 50 Responden Penelitian

Karakteristik Responden Penelitian (n=50)	
Variabel	Rerata (SD)
Usia (tahun)	56,24 (7,34)
Jenis kelamin (%)	
• Laki-laki	52 %
• perempuan	48 %
Profil lipid	
• Trigliserida	207,10 (78,80)
• HDL	38,50 (12,20)
• Kolesterol total	206,60 (48,02)
• LDL	122,78 (48,55)
EPC	0,03 (0,04)

Tabel 5.2 Karakteristik 45 Responden Penelitian

Karakteristik Responden Penelitian (n=45)	
Variabel	Rerata (SD)
Usia (tahun)	55,02 (7,24)
Jenis kelamin (%)	(dalam persentase)
• Laki-laki	51,1 %
• perempuan	48,9 %
Profil lipid	
• <i>Trigliserida</i>	210,0 (81,95)
• <i>HDL</i>	39,30 (12,42)
• <i>Kolesterol total</i>	206,09 (44,14)
• <i>LDL</i>	122,33 (44,29)
EPC	0,02 (0,02)

Tabel 5.3 Hasil Uji Analisis dan Regresi (n=50)

Variabel (Profil Lipid)	r	p	R <sup>2</sup>
<b>Trigliserida</b>	- 0,106	0,463	0,011
<b>HDL</b>	0,055	0,703	0,003
<b>Kolesterol Total</b>	- 0,255	0,074	0,065
<b>LDL</b>	- 0,227	0,113	0,051

Tabel 5.4 Hasil Uji Analisis dan Regresi (n=45)

Variabel (Profil Lipid)	r	p	R <sup>2</sup>
<b>Trigliserida</b>	- 0,327	0,028	0,075
<b>HDL</b>	0,227	0,134	0,136
<b>Kolesterol Total</b>	- 0,547	0,000	0,225
<b>LDL</b>	- 0,437	0,003	0,181

## 5.2 Analisis Data Penelitian

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini adalah Uji Korelasi dan Uji Regresi Linier. Uji korelasi bertujuan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara kadar profil lipid dan kadar *circulating endothelial progenitor cells* (EPC). Uji korelasi yang digunakan adalah metode *Spearman's-Rho Test*. Analisis data dengan uji regresi linier bertujuan untuk menganalisis seberapa besar pengaruh dari variabel bebas terhadap variabel terikat.

Uji *Spearman's-Rho* tidak menunjukkan hasil korelasi bermakna pada semua variabel bebas terhadap variabel terikat (Tabel 5.3). Maka dari itu dilakukan *cleaning* data untuk menyingkirkan data-data yang menyimpang yang dilihat pada persebaran data di *scatter chart*. Hal tersebut dilakukan untuk melihat hasil uji korelasi dan regresi dari data yang lebih homogen. Pada *cleaning* data, disingkirkan 5 data responden sehingga jumlah responden menjadi 45 responden penelitian. Setelah dilakukan *cleaning* data dan dilakukan analisis ulang, menunjukkan bahwa Kolesterol Total memiliki korelasi yang bermakna ( $r = -0,547; p < 0,05$ ) terhadap kadar EPC sedangkan variabel lain seperti Triglicerida ( $r = -0,327; p < 0,05$ ), HDL ( $r = 0,227; p > 0,05$ ) dan LDL ( $r = -0,437; p < 0,05$ ) tetap tidak menunjukkan hasil korelasi yang bermakna terhadap kadar EPC.

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dimaksudkan untuk menentukan korelasi antara kadar profil lipid yang terdiri dari Kolesterol Total, HDL, LDL dan Triglicerida terhadap kadar *circulating Endothelial Progenitor Cells* (EPC). Responden dalam penelitian ini adalah pasien rawat jalan di Poli Endokrinologi-RSUD Dr. Saiful Anwar Malang yang memenuhi kriteria sindroma metabolik berdasarkan *International Diabetes Foundation* (IDF) yaitu obesitas sentral, dislipidemia meliputi TG dan HDL, menderita Diabetes Mellitus Tipe 2 dan hipertensi (Alberti *et al*, 2009)

Bahan yang digunakan adalah sampel darah. Bahan-bahan untuk identifikasi kadar EPC meliputi antibodi *Cluster of Differentiation 34* (CD34) sebagai penanda *hematopoietic stem cell* dan *Vascular Endothelial Growth Factor-2* (VEGFR2) sebagai penanda endotel. CD34 dipilih karena EPC yang masih merupakan sel pra-endotel dapat mengekspresikan CD34 dengan baik dan VEGFR2 dipilih karena merupakan mediator pertumbuhan dari endotel sehingga dapat digunakan sebagai penanda sel endotel (Frisca, 2008)

Dalam prosesnya, penelitian ini dilakukan dalam 5 tahap, tahap yang pertama adalah penelusuran responden yang dilakukan dengan cara melihat rekam medis pasien di Poli Endokrinologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Apabila pasien tersebut memenuhi kategori responden berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi serta bersedia mengikuti penelitian, maka pasien tersebut menjadi responden penelitian ini. Tahap yang kedua adalah melakukan pemeriksaan fisik kepada responden meliputi tinggi badan, berat badan, lingkar pinggang dan tensi serta melakukan pengambilan darah responden yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Tahap yang ketiga adalah identifikasi kadar profil lipid responden dengan mengirimkan sampel darah yang telah diserumkan



ke Laboratorium Poliklinik Universitas Brawijaya untuk selanjutnya diproses sehingga kadar profil lipid responden dapat diketahui. Tahap yang keempat adalah identifikasi kadar EPC responden dengan metode sentrifugasi lalu dihitung berdasarkan fenotipnya dengan metode *flowcytometry*. Tahap yang kelima adalah analisis data dari hasil identifikasi profil lipid dan EPC dan *cleaning data* serta analisis ulang.

Pada penelitian ini hasil pengukuran kadar profil lipid dan EPC dianalisis dengan uji statistik Kolmogorov-Smirnov, uji statistik Korelasi dan Regresi Linier menggunakan SPSS 20. Uji Kolmogorov-Smirnov dilakukan untuk melihat sifat persebaran data. Berdasarkan uji tersebut, didapatkan persebaran data yang tidak normal, maka uji korelasi yang dipilih adalah *Spearman's Rho Test*.

Uji korelasi menunjukkan dari empat komponen profil lipid, hanya variabel kolesterol total memiliki korelasi yang bermakna ( $r: -0,547$ ) terhadap kadar EPC sedangkan Trigliserida, HDL dan LDL tidak memiliki korelasi yang bermakna terhadap kadar EPC sedangkan uji regresi menunjukkan hubungan sebab-akibat yang tidak bermakna antara profil lipid dan kadar EPC.

Penelitian terdahulu yang serupa dengan penelitian ini yaitu penelitian yang dilakukan Walter pada tahun 2008 memperlihatkan EPC dapat *homing* ke bagian endotel metode implan Dacron anjing yang dcederai menggunakan balon kateter, kemudian permukaan daerah implant akan ditutupi oleh EPC yang ditunjukkan dengan terdeteksinya sel-sel CD34+ (Karundeng, 2008).

Pada penelitian ini tidak didapatkan korelasi yang bermakna pada sebagian besar variabel profil lipid selain kolesterol total, dan EPC. Hasil ini sesuai dengan penelitian dari Chen *et al* pada tahun 2010. Penelitian ini menggunakan 100 responden yang mengikuti *Health Screening Program* di Kaohsiung Memorial Hospital. Penelitian ini menggunakan metode yang hampir sama dengan *blood sampling* dan menganalisis jumlah EPC yang bersirkulasi

dalam darah. Hasil dari penelitian ini adalah tidak adanya korelasi yang bermakna antara profil lipid dan kadar EPC di dalam darah. Perbedaan karakteristik dari responden penelitian yang digunakan mungkin menyebabkan perbedaan hasil antara penelitian ini dengan penelitian dari Chen *et al* (Chen *et al*, 2010).

Pada pasien sindroma metabolik yang mengalami peningkatan kolesterol total, didapatkan korelasi yang bermakna dengan penurunan jumlah EPC (Tabel 5.4). Hal ini sesuai dengan penelitian dari Chen *et al* pada tahun 2005. Penelitian ini menggunakan 20 responden yang menderita hiperkolesterolemia dan 20 responden kontrol. Hasil yang didapatkan adalah menurunnya jumlah EPC pada pasien hiperkolesterolemia dan begitu pula dengan aktivitas proliferasi, migrasi dan adhesi dari EPC. (Chen *et al*, 2006). Mekanisme bagaimana hiperkolesterolemia menyebabkan penurunan EPC masih belum diketahui secara jelas. Namun terdapat beberapa kemungkinan mekanisme yang masih harus dibuktikan pada penelitian lanjutan untuk membuktikan hipotesis tentang mekanisme hiperkolesterolemia menyebabkan penurunan EPC. Kemungkinan mekanisme yang pertama adalah meningkatnya apoptosis pada *premature progenitor cells* karena EPC CD34 positif sangat sensitif terhadap apoptosis yang diinduksi oleh LDL teroksidasi atau oxLDL (Ito *et al*, 2004). Kemungkinan yang kedua adalah hiperkolesterolemia mengganggu jalur yang meregulasi diferensiasi atau mobilisasi dari EPC. Kemungkinan yang ketiga adalah kerusakan endotel yang terus menerus akhirnya menyebabkan deplesi atau kelelahan sel sehingga suplai EPC terus menurun. (Li *et al*, 2005).

Korelasi yang tidak bermakna pada sebagian besar variabel selain kolesterol total yang didapatkan dari penelitian ini disebabkan masih banyaknya faktor-faktor perancu yang menjadi kelemahan dalam penelitian ini. Beberapa diantaranya adalah rentang umur yang terlalu jauh dan konsumsi obat-obatan.

Pada umur yang lebih tua, EPC mengalami penurunan baik secara kuantitas maupun kualitas (Hristov *et al* dalam Christian *et al*, 2005). Tingkat fungsionalitas EPC dianalisis berdasarkan kapasitas migrasi dan proliferasinya. Aktivitas proliferasi pada responden dengan umur yang tua menurun bermakna ( $p < 0.05$ ) dan pada sisi lain respons EPC untuk bermigrasi berdasarkan deteksi VEGF turun bermakna dibandingkan dengan responden usia muda ( $p < 0.01$ ). Lebih jauh, perbedaan ini tidak berhubungan dengan penurunan reseptor VEGF dan KDR pada EPC. Pada sisi kuantitas, EPC yang dideteksi jumlahnya oleh ekspresinya terhadap CD34 dan KDR, didapatkan penurunan kuantitas pada responden dengan usia tua dibandingkan dengan usia muda. (Christian *et al*, 2005).

Faktor lain yang menyebabkan hasil penelitian ini tidak menunjukkan korelasi yang bermakna selain kolesterol total adalah konsumsi obat-obatan yang menjadi faktor perancu yang tidak disingkirkan oleh peneliti. Pada penelitian Fadini *et al* pada tahun 2010 dilakukan observasi dan pendeteksian kadar EPC pada pasien diabetes mellitus tipe 2 yang diberikan obat tambahan DPP-4 Inhibitor (Sitagliptin) dibandingkan yang hanya diberikan metformin dan/atau segregator insulin selama 4 minggu. EPC diyakini diregulasi oleh SDF-1 $\alpha$  (masih dalam penelitian) dan menurun jumlahnya pada pasien DM tipe 2 dan SDF-1 $\alpha$  adalah substrat dari DPP-4 sehingga dengan pemberian DPP-4 Inhibitor diharapkan level SDF-1 $\alpha$  dapat meningkat dan EPC meningkat. Hasil dari penelitian ini menunjukkan pada pasien DM tipe 2 yang mendapatkan tambahan obat DPP-4 Inhibitor mengalami peningkatan kadar EPC yang bermakna dibandingkan dengan yang hanya menggunakan metformin dan/atau segregator insulin. (Fadini *et al*, 2010)

Berdasarkan hasil penelitian, perbandingan dengan penelitian terdahulu dan analisa data diatas dapat disimpulkan bahwa kolesterol total memiliki

korelasi yang bermakna terhadap penurunan kadar EPC pada pasien sindroma metabolik, sedangkan variabel profil lipid lain seperti trigliserida, HDL dan LDL tidak memiliki korelasi yang bermakna terhadap kadar EPC pada pasien sindroma metabolik. Beberapa hal seperti pengaruh umur responden dan pengaruh konsumsi obat-obatan lain yang dikonsumsi responden masih menjadi faktor perancu yang menjadi kelemahan dari penelitian ini dan terdapat beberapa hipotesis mekanisme dari hiperkolesterolemia dapat menyebabkan penurunan jumlah dari EPC sehingga penelitian yang menitikberatkan kepada hal-hal tersebut diatas diperlukan agar dapat diketahui faktor-faktor yang berperan terhadap menurunnya kadar EPC di dalam darah.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa kolesterol total memiliki korelasi yang bermakna terhadap penurunan kadar EPC pada pasien sindroma metabolik, sedangkan variabel profil lipid lain seperti trigliserida, HDL dan LDL tidak memiliki korelasi yang bermakna terhadap kadar EPC.

#### 7.2 Saran

Adapun saran yang peneliti berikan sebagai bahan evaluasi dari penelitian ini dan untuk kepentingan penelitian selanjutnya adalah :

- Perlu penelitian lebih lanjut yang menggunakan variabel rentang umur pada pasien sindroma metabolik terhadap kadar EPC pada responden.
- Perlu penelitian lebih lanjut yang menggunakan variabel konsumsi obat-obatan responden pada pasien sindroma metabolik terhadap kadar EPC pada responden.
- Perlu penelitian lebih lanjut untuk membuktikan hipotesis mekanisme dari hiperkolesterolemia dapat menyebabkan penurunan jumlah dari EPC.

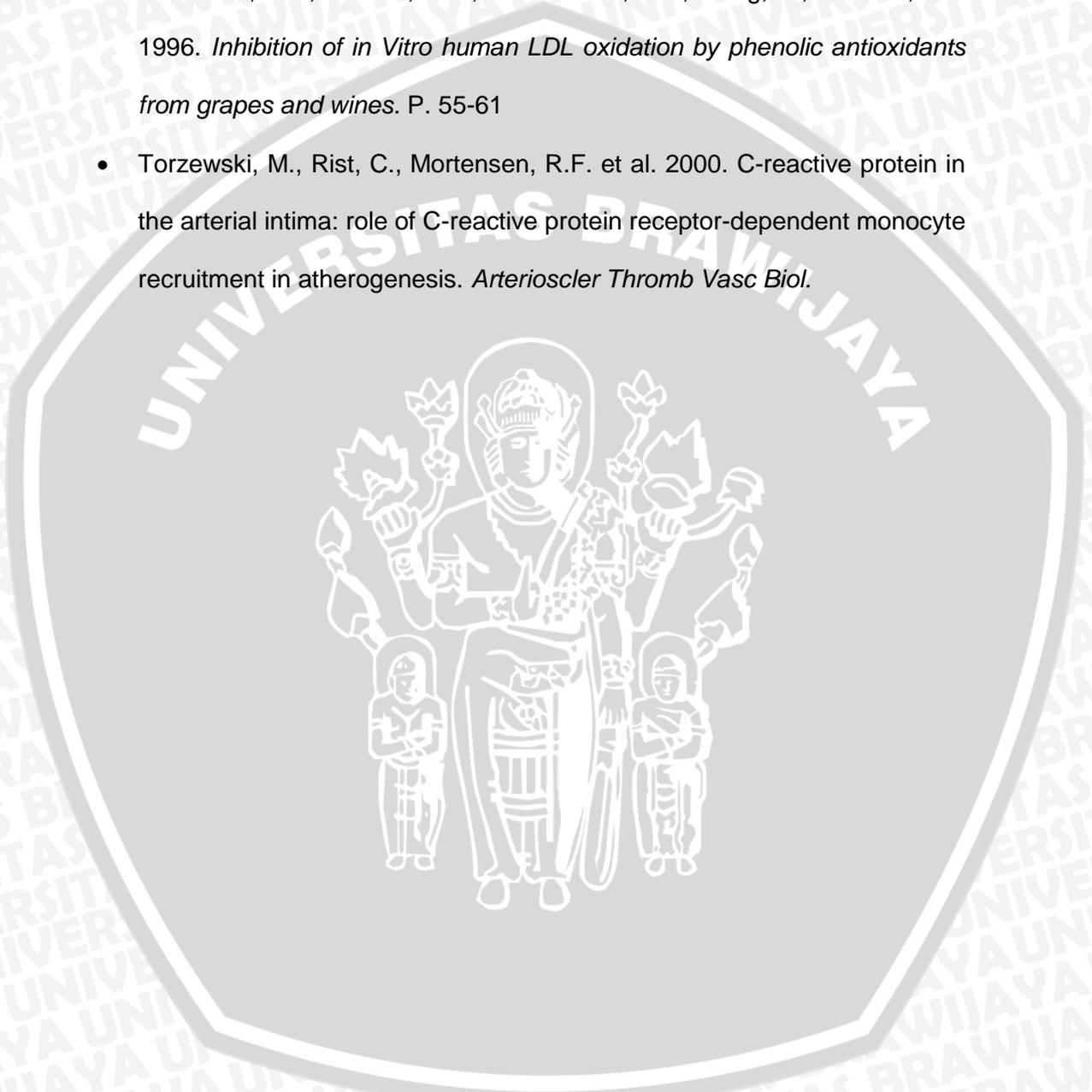
## DAFTAR PUSTAKA

- Alberti, K.G., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., Fruchart, J-C., James, W.P.T., Loria, C.M., Smith, S.C. Jr. 2009. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. P. 1640 –1645.
- Alberti, K.G., Zimmet, P.Z. 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. P. 539 –553.
- Alberti, K.G., Zimmet, P.Z., Shaw J. 2005. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome: a new worldwide definition. *Lancet*. P. 1059 –1062.
- Bethene, Ervin. 2009. Prevalence of Metabolic Syndrome Among Adults 20 Years of Age and Over, by Sex, Age, Race and Ethnicity, and Body Mass Index: United States 2003–2006. Division of Health and Nutrition Examination Surveys.
- Cameron, A.J., Shaw, J.E., Zimmet, P.Z. 2004. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin N Am*. P. 351-375.

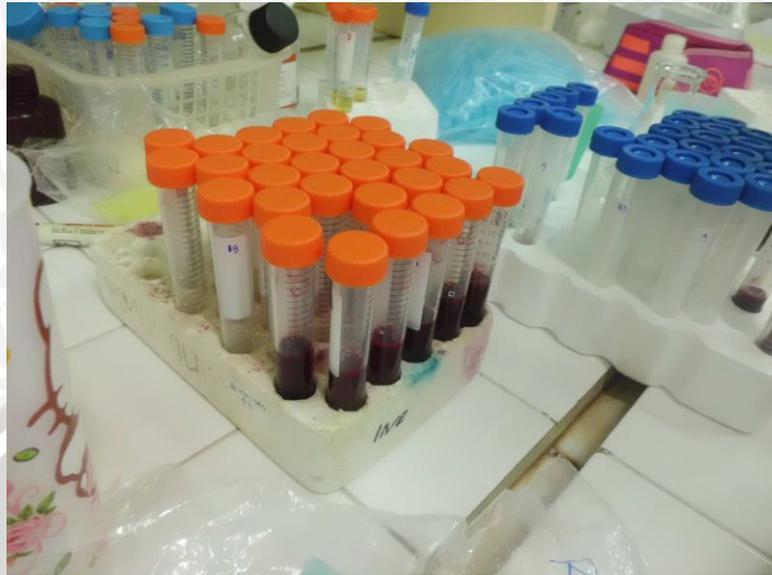
- Chen, C., Cheng, B., Lau, S., Sun, C., Chua, S. 2010. Circulating Level of Endothelial Progenitor Cells in Healthy Taiwanese: Taiwan, 2010. Departement of Cell Biology.
- Chen, J., Zhang, F., Tao, Q., Wang, X., Zhu, J. 2005. Number and activity of Endothelial Progenitor Cells from Peripheral Blood in Patients with Hypercholesterolaemia. *Clinical Science Journal*.
- De Bree, A., Verschuren, W.M., Kromhout, D., Kluijtmans, L.A., Blom, H.J. 2002. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev.* P. 599-618.
- Fadini, G.P., Boscaro, E., Albiero, M., Menegazzo L, Frison, V., Kreutzenberg, Agostini, C., Tiengo, A., Avogaro, A. 2010. The Oral Dipeptidyl Peptidase 4-Inhibitor Sitagliptin Increases Circulating Endothelial Progenitor Cells in Patients with Ttpe 2 Diabetes. *Journal of American Diabetes Association*.
- Frisca, Sardjono, C., Sandra, F. 2008. Berbagai Paradigma Pendefinisian Endothelial Progenitor Cells. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. P. 78-83
- Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Franklin, B.A., Gordon, D.J., Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C. Jr, Spertus, J.A., Costa, F. 2005. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement American Heart Association. National Heart, Lung, and Blood Institute.

- Heiss, C., Keymel, S., Niesler, U., Ziemann, J., Kelm, M., Kalka, C. 2005. Impaired Progenitor Cell Activity in Age-Related Endothelial Dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*.
- Ito, H., Rovira, I., Bloom, M.L. *et al.* 2005. Endothelial Progenitor Cells as Putative Targets for Angiostatin. *Cancer Res.* P. 5875-5877
- Jhon, M.F. Dislipidemia dalam Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam edisi 4 editor oleh: Aru W.Sudoyo dkk. 2005. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. P. 1948- 1954
- Li, D., Yang, B., Mebita, J.L. 2005. OxLDL Induces Apoptosis in Human Coronary Artery endothelial Cells: Role of PKC, PTK, bcl-2 nd Fas. *Am. J. Physiol.* P. 568-576.
- Moll, Jennifer. 2008. *What is Atherosclerosis ? – High Cholesterol Could Lead Athersclerosis.* diakses tanggal 11 Januari 2012 <http://cholesterol.about.com/sitesearch.htm?q=atherosclerosis&SUName=cholesterol>
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 2002. Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) Final Report. *Circulation.* P. 3143-3421.
- Pillarisetti, S., Paka, L., Obunike, J.C., Berglund, L., Goldberg, I.J. 2001. Subendothelial retention of lipoprotein(a): evidence that reduced heparin sulfate promotes lipoprotein binding to subendothelial matrix. *J Clin Invest.*

- Sugondo, S. 2006 Sindrom Metabolik dalam Buku Ajar Penyakit Dalam. P. 1871-1872
- Teissedre, P.L., Frankel, E.N., Waterhouse, A.L., Peleg, H., German, J.B. 1996. *Inhibition of in Vitro human LDL oxidation by phenolic antioxidants from grapes and wines*. P. 55-61
- Torzewski, M., Rist, C., Mortensen, R.F. et al. 2000. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*.



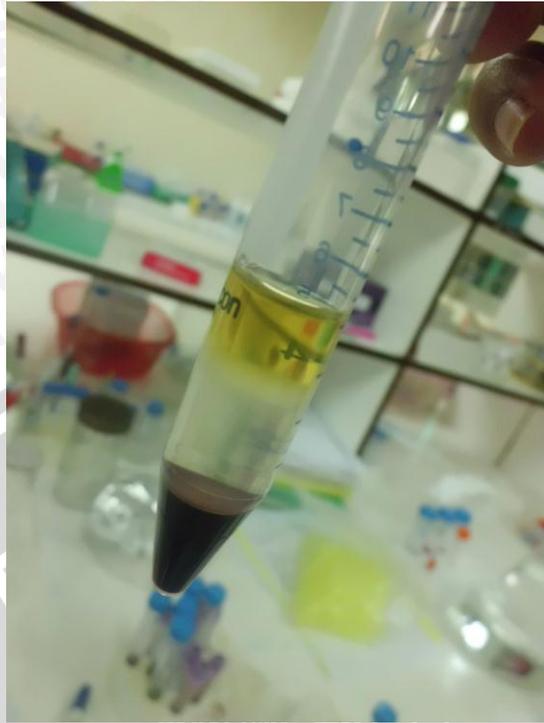
Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian



Gambar 1 Sampel darah yang telah dipindah ke Falcon 15 ml



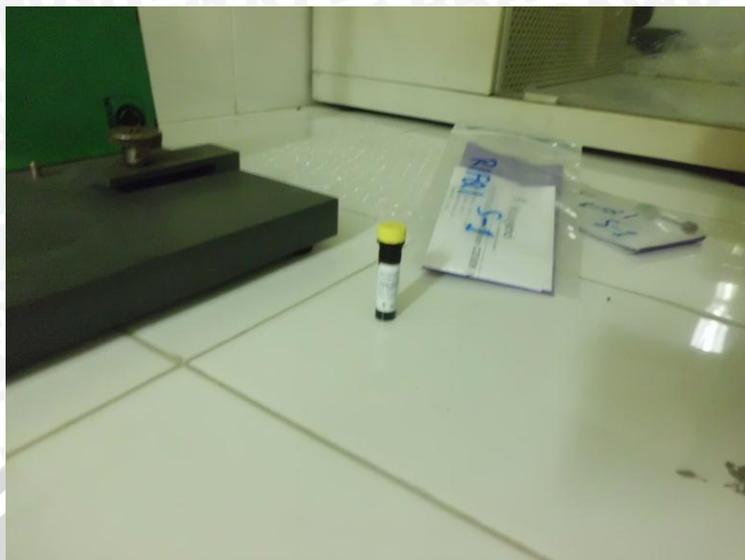
Gambar 2 Proses Sentrifugasi



Gambar 3 Hasil sentrifugasi



Gambar 4 Pengambilan cincin Buffy Coat

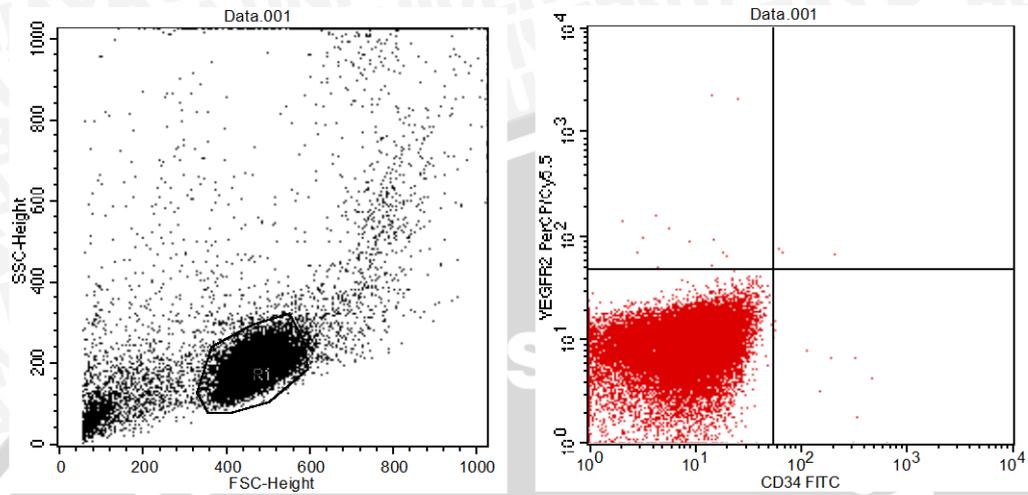


Gambar 5 Antibodi CD34



Gambar 6 Flowcytometry FACSCalibur

Lampiran 2 Hasil Flowcytometry



Quadrant Statistics

Sample ID	Events	% Gated	% Total
UL	13	0.05	0.04
UR	3	0.01	0.01
LL	24673	99.89	73.87
LR	10	0.04	0.03



## Lampiran 3 Hasil Analisis Statistik

## Hasil Uji Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test						
		Trigliserida	HDL-c	Kolesterol	LDL-c	EPC
N		45	45	45	45	45
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	210.00	38.649	206.09	122.333	.0209
	Std. Deviation	81.958	12.7437	44.147	44.2956	.02119
Most Extreme Differences	Absolute	.124	.131	.081	.076	.319
	Positive	.124	.131	.081	.076	.319
	Negative	-.092	-.055	-.080	-.056	-.162
Kolmogorov-Smirnov Z		.833	.880	.545	.508	2.137
Asymp. Sig. (2-tailed)		.491	.421	.928	.959	.000
a. Test distribution is Normal.						
b. Calculated from data.						

## Hasil Uji Korelasi Pearson's

## a. Triglicerida dengan EPC

Correlations			
		Trigliserida	EPC
Trigliserida	Pearson Correlation	1	-.327
	Sig. (2-tailed)		.028
	N	45	45
EPC	Pearson Correlation	-.273	1
	Sig. (2-tailed)	.069	
	N	45	45

## b. HDL dengan EPC

Correlations			
		EPC	HDL-c
EPC	Pearson Correlation	1	.227*
	Sig. (2-tailed)		.134
	N	45	45
HDL-c	Pearson Correlation	.368*	1
	Sig. (2-tailed)	.013	
	N	45	45

\*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

c. Kolesterol total dengan EPC

		EPC	Kolesterol
EPC	Pearson Correlation	1	-.547**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	45	45
Kolesterol	Pearson Correlation	-.474**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	45	45

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

d. LDL dengan EPC

		EPC	LDL-c
EPC	Pearson Correlation	1	-.437**
	Sig. (2-tailed)		.003
	N	45	45
LDL-c	Pearson Correlation	-.426**	1
	Sig. (2-tailed)	.004	
	N	45	45

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

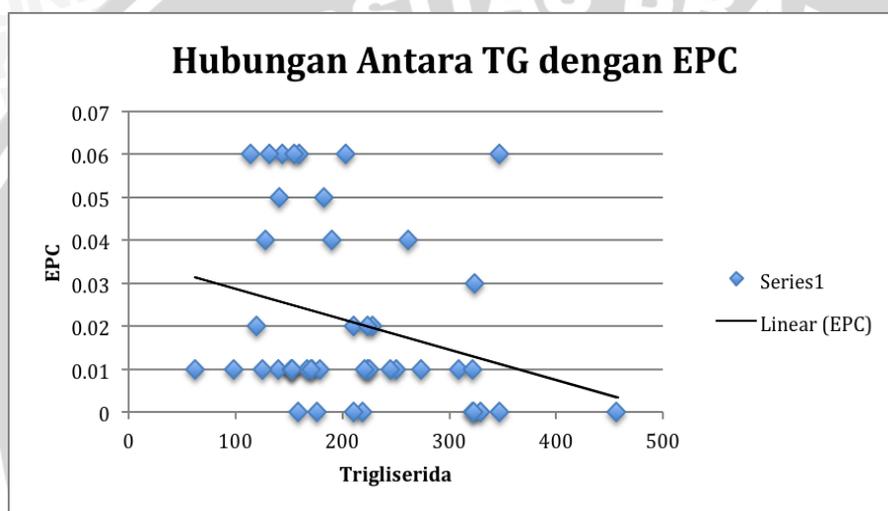
Hasil Uji Regresi Linier

a. Trigliserida dengan EPC

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.273 <sup>a</sup>	.075	.053	.02062

a. Predictors: (Constant), Trigliserida



b. HDL dengan EPC

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.368 <sup>a</sup>	.136	.116	.01993

a. Predictors: (Constant), HDL-c

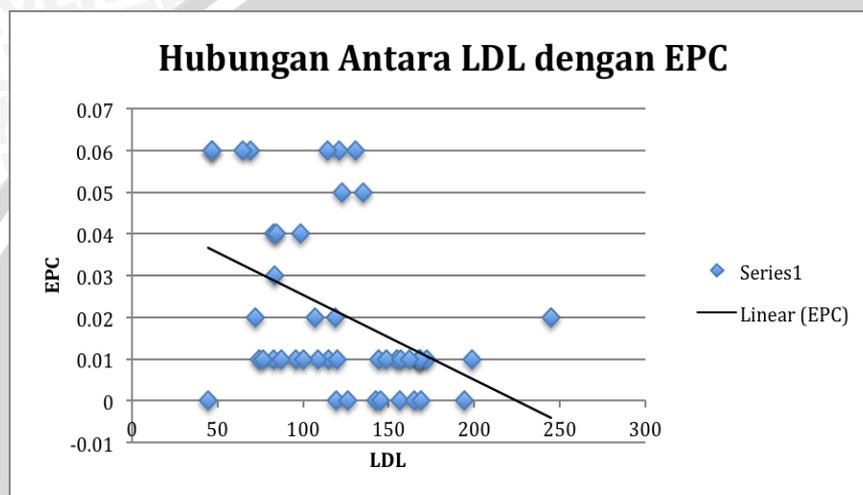


d. LDL dengan EPC

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.426 <sup>a</sup>	.181	.162	.01940

a. Predictors: (Constant), LDL-c



## Lampiran 4 Hasil Penelitian

RESPONDEN	Trigliserida	HDL-c	Kolesterol	LDL-c	EPC
R1	224	40	160	74.5	0.01
R2	322	48	255	142.5	0
R3	250	35.3	259	172.1	0.01
R4	140	52.4	237	154.6	0.01
R5	225	40	200	114.8	0.01
R6	141	58.9	186	122.5	0.05
R7	172	17.1	287	198.8	0.01
R8	179	33.8	178	108.4	0.01
R9	159	32.7	220	156.5	0
R10	167	34.6	188	120	0.01
R11	219	46.1	255	165.1	0
R12	456	31.9	292	168.9	0
R13	176	37.5	192	119.3	0
R14	245	40.5	258	168.5	0.01
R15	152	39.7	214	143.9	0.01
R16	171	27.9	230	167.9	0.01
R17	329	27.2	212	126.2	0
R18	221	27.2	220	148.6	0.01
R19	160	18.2	171	120.8	0.06
R20	262	53.8	152	82.5	0.04
R21	183	24.2	196	135.2	0.05
R22	211	20.9	182	118.9	0.02
R23	323	26.2	236	145.2	0
R24	211	27.9	264	193.9	0
R25	274	21.6	159	82.6	0.01
R26	309	26.4	245	156.8	0.01
R27	190	31.4	168	98.6	0.04
R28	228	37.7	328	244.7	0.02
R29	153	45.3	244	168.1	0.01
R30	153	27.8	135	76.6	0.01
R31	144	39	155	46.6	0.06
R32	125	32.7	220	162.3	0.01
R33	324	39	187	83.2	0.03
R34	224	38	155	72.2	0.02
R35	322	42	202	95.6	0.01
R36	203	39	210	130.4	0.06
R37	347	39	155	46.6	0.06
R38	155	60	205	114	0.06
R39	114	74.2	155	69.2	0.06

<b>R40</b>	128	62	183	84.4	0.04
<b>R41</b>	132	65	156	64.6	0.06
<b>R42</b>	347	44.6	244	44.6	0
<b>R43</b>	98	49	169	100.4	0.01
<b>R44</b>	62	50.5	150	87.1	0.01
<b>R45</b>	120	33	205	106.8	0.02



## PENYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rifqi Aulia Destiansyah

NIM : 0910713031

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter (PSPD)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 20 Februari 2013

Rifqi Aulia Destiansyah

NIM. 0910713031