

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini lebih lanjut menjelaskan tentang aterosklerosis, manggis (*Garcinia mangostana Linn.*) dan pembuatan model aterosklerosis. Hal-hal yang dijelaskan dalam subbab aterosklerosis di antaranya epidemiologi, definisi, etiologi dan faktor resiko, patofisiologi dan patogenesis, komplikasi, oksidan, antioksidan, stress oksidatif pada aterosklerosis, terutama pada dua penanda stress oksidatif pada aterosklerosis yaitu superoksida dismutase (SOD) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hal-hal yang dijelaskan dalam subbab manggis adalah gambaran umum tentang manggis, kandungan manggis, penggunaan kulit manggis, dan efek kulit manggis terhadap aktivitas SOD dan kadar  $H_2O_2$ . Hal-hal yang dijelaskan dalam subbab pembuatan model aterosklerosis antara lain penggunaan *Rattus norvegicus* galur Wistar sebagai model in vivo aterosklerosis dan pemberian diet tinggi lemak sebagai penginduksi stres oksidatif pada aterosklerosis.

#### 2.1 Aterosklerosis

##### 2.1.1 Epidemiologi

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit tidak menular yang paling sering menyebabkan kematian. Pada tahun 2008 diperkirakan 17,3 juta jiwa meninggal akibat penyakit kardiovaskular di seluruh dunia atau sekitar 30% dari kematian di seluruh dunia. Dari angka tersebut, sekitar 7,3 juta disebabkan karena penyakit jantung koroner dan 6,2 juta disebabkan karena penyakit stroke. Menurut data WHO (2011), penyakit jantung iskemik dan stroke menempati urutan pertama dan kedua tersering yang menyebabkan kematian di seluruh dunia dengan presentasi 12,9% dan 11,4% dengan total kematian yang diakibatkannya sebesar 13,2 juta jiwa. Prevalensi penyakit kardiovaskular

cenderung meningkat seiring bertambahnya umur. Secara umum tidak ada perbedaan prevalensi dan mortalitas pada pria dan wanita. Diperkirakan mulai tahun 2030 penyakit kardiovaskular akan menyebabkan kematian lebih dari 23 juta jiwa per tahun (WHO, 2013).

Di Amerika penyakit pada jantung menempati urutan pertama penyebab kematian pada tahun 2008 dengan total kematian sekitar 616 ribu jiwa. Penyakit stroke (serebrovaskular) menempati urutan keempat dengan total kematian 141 ribu jiwa (*National Vital Statistics Report*, 2012). Di Eropa penyakit kardiovaskular setiap tahun menyebabkan kematian 4 juta jiwa, hampir setengah (47%) dari seluruh kematian per tahun. Penyakit yang paling sering adalah penyakit jantung koroner dan stroke. Penyakit jantung koroner merupakan penyebab kematian yang paling sering di Eropa dengan jumlah kematian per tahun sekitar 1,8 juta jiwa. Satu dari lima wanita dan satu dari lima pria meninggal akibat penyakit ini. Sedangkan stroke merupakan penyebab kematian kedua terbanyak di Eropa, dengan jumlah kematian pertahun sekitar 1,1 juta jiwa. Satu dari tujuh wanita dan satu dari sepuluh pria meninggal akibat penyakit ini (*European Heart Network*, 2012). Di Asia dan Kepulauan Pasifik kematian akibat penyakit kardiovaskular dan penyakit kardiovaskular kongenital mencapai 33% dari total seluruh kematian yang terjadi (*American Heart Association*, 2013).

Di Indonesia, menurut Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2007, penyakit kardiovaskular yang tersering adalah stroke dengan persentasi 26,9%. Hipertensi menempati nomor dua dengan persentasi 12,3%. Penyakit jantung iskemik di urutan kelima dengan persentasi 9,3%. Penyakit jantung lain berada pada urutan ketujuh dengan persentasi 7,5%. Dalam riset yang sama, diketahui bahwa 8,3 dari 1000 penduduk Indonesia mengalami stroke, dengan yang telah didiagnosis oleh tenaga kesehatan sebesar 6 dari 1000 penduduk. Prevalensi penyakit stroke dan penyakit jantung tertinggi ditemui pada provinsi Nanggoroe Aceh

Darussalam dengan presentasi masing-masing 1,6% dan 12,6%. Di Provinsi Jawa Timur angka kejadian stroke yang telah terdiagnosa atau mempunyai gejala stroke sebesar 7,7%, sedangkan angka kejadian penyakit jantung iskemik yang telah terdiagnosa maupun yang mempunyai gejala adalah 5,6% (Balitbangkes, 2008).

### 2.1.2 Definisi

Aterosklerosis berasal dari bahasa Yunani '*athero*' yang berarti bubur atau pasta, dan '*sclerosis*' yang berarti pengerasan (Ladich et al, 2012). Aterosklerosis merupakan salah satu jenis arteriosklerosis, yaitu penyakit yang ditandai dengan penebalan dan hilangnya sifat elastisitas dinding pembuluh darah arteri. Kelainan pada aterosklerosis ini disebabkan karena adanya penumpukan plak kekuningan, disebut ateroma, yang mengandung kolesterol dan kolesterol ester dari lipoprotein plasma, serta material lipoid. Ateroma adalah massa abnormal yang terbentuk dari lemak yang ditutup jaringan fibrosa yang terpisah dan membentuk plak di dalam lapisan intima arteri lainnya (Dorland, 1998; Murray et al, 2003).

### 2.1.3 Etiologi dan Faktor Resiko

Penyebab utama aterosklerosis masih tidak dapat ditentukan dengan pasti (Porth dan Gaspard, 2003). Namun, beberapa faktor resiko yang mempengaruhi perkembangan penyakit ini. Berdasarkan berbagai penelitian epidemiologis yang telah dilakukan, Yusuf et al (2001) menyimpulkan terdapat 2 jenis faktor resiko aterosklerosis, yaitu faktor resiko yang telah terbukti sebagai kausa dan faktor yang berhubungan dengan aterosklerosis namun hubungan kausa efeknya masih belum terbukti, disebut juga faktor predisposisi.



Tabel 2.1 Faktor resiko aterosklerosis (Yusuf, 2001)

<p><b><u>Faktor resiko kausal:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Konsumsi rokok</li> <li>- Peningkatan kadar low density lipoprotein (LDL)</li> <li>- Rendahnya kadar high density lipoprotein (HDL)</li> <li>- Hipertensi</li> <li>- Peningkatan glukosa</li> <li>- Kurangnya aktivitas fisik*</li> <li>- Obesitas*</li> <li>- Diet (tinggi lemak)*</li> </ul>
<p><b><u>Faktor yang berhubungan:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Rendahnya status sosioekonomi*</li> <li>- Peningkatan faktor protrombotik, yaitu fibrinogen dan Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1)</li> <li>- Penanda inflamasi atau infeksi</li> <li>- Peningkatan homosistein</li> <li>- Peningkatan lipoprotein(a)</li> <li>- Faktor psikologis (depresi, mudah marah, permusuhan, stress, peristiwa hidup akut) dan kerusakan struktur sosial (hilangnya dukungan dan kepaduan sosial)*</li> </ul>

\*Faktor resiko predisposisi

Rokok mengandung banyak radikal bebas yang memicu terjadinya stress oksidatif, juga menurunkan kadar antioksidan endogen dan eksogen seperti vitamin C (asam askorbat), karoten, glutathion peroksidase (GPx), dan SOD (Hulea et al, 1995; Burke dan Fitzgerald, 2003). Merokok juga mampu memicu terjadinya disfungsi endotel, monosit, dan sel otot polos pembuluh darah (Barnoya dan Glantz, 2005). Berdasarkan British Heart Foundation (2000), 22% kematian akibat penyakit kardiovaskular pada pria, dan 4% kematian akibat penyakit kardiovaskular pada wanita yang tinggal di Eropa disebabkan karena merokok. Tingginya kadar LDL dapat memicu terbentuknya LDL teroksidasi, yang merupakan faktor resiko utama dalam penyakit aterosklerosis (Hamilton, 1997). Rendahnya kadar HDL (<40 mg/dl) dan tingginya kadar trigliserida (>150 mg/dl), berdasarkan analisa Framingham Heart Study, meningkatkan resiko

penyakit kardiovaskular (Castelli 1992 dalam Fruchart, 2004). Hipertensi menimbulkan stres mekanik pada endotel pembuluh darah, sehingga memudahkan terjadinya disfungsi endotel (Porth dan Gaspard, 2003). Wanita dengan hipertensi mempunyai resiko perkembangan penyakit jantung koroner 3,5 kali lebih besar daripada wanita tanpa hipertensi (*American Heart Association*, 2004). Diabetes mellitus (peningkatan kadar glukosa darah) meningkatkan insiden kardiovaskular dua kali lebih besar daripada pria tanpa diabetes, dan tiga kali lebih besar daripada wanita tanpa diabetes (Fruchart et al, 2004). Kurangnya aktivitas fisik meningkatkan resiko terkena penyakit kardiovaskular. Kurangnya aktivitas fisik meningkatkan resiko terkena penyakit jantung sebesar dua kali lipat (*American Heart Association*, 2004). Tiga puluh lima persen kematian akibat penyakit jantung koroner di Amerika Serikat ditenggarai oleh gaya hidup yang tidak aktif (*American Diabetes Association*, 2007). Olahraga rutin dapat menurunkan resiko terkena penyakit kardiovaskular (*American Diabetes Association*, 2006). Obesitas berbanding lurus dengan prevalensi hipertensi, tingginya kadar gula darah puasa, tingginya kadar total kolesterol darah, dan rendahnya kadar HDL kolesterol (King, 1998). Diet tinggi lemak meningkatkan kadar kolesterol dalam darah, yang kemudian memicu terjadinya disfungsi endotel dan terbentuknya LDL teroksidasi (Murwani, 2006).

Pada negara maju, kelompok sosioekonomi yang rendah mempunyai prevalensi mempunyai faktor resiko, insiden penyakit, dan mortalitas yang lebih tinggi. Pada negara berkembang, seiring dengan perkembangan epidemik, penyakit kardiovaskular akan berpindah kepada kelompok sosioekonomi rendah (*American Heart Association*, 2004). Peningkatan faktor protrombotik, yaitu fibrinogen dan Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1), meningkatkan resiko terjadinya penyakit jantung kronis (Fruchart, 2004). Beberapa penelitian membuktikan bahwa penanda inflamasi atau infeksi berkorelasi dengan resiko



penyakit koroner. Contohnya variasi level C-reactive protein (CRP) dalam plasma mampu memprediksi resiko infark miokardial. Level CRP juga berkorelasi dengan prognosa pasien dengan sindrom koronaria akut (Kasper et al, 2005). Peningkatan homosistein merupakan salah satu faktor yang memicu aterosklerosis. Berdasarkan British Regional Heart Study, level homosistein meningkat secara signifikan pada pasien stroke (Perry, 1995 dalam Fruchart, 2004). Peningkatan lipoprotein(a), pada hampir semua penelitian, mempunyai hubungan yang kuat dengan penyakit jantung kronik. Penelitian lain menyatakan bahwa subjek dengan level lipoprotein(a) pada kuartil tertinggi mempunyai resiko satu setengah (1,5) kali lebih tinggi daripada subjek pada kuartil terendah (Fruchart, 2004). Faktor psikologis seperti depresi, mudah marah, permusuhan, stress, dan peristiwa hidup akut serta kerusakan struktur sosial yakni hilangnya dukungan dan kepaduan sosial merupakan faktor resiko terjadinya penyakit kardiovaskular. Ekspresi kemarahan berhubungan dengan dilipidemia dan peningkatan berat badan. Permusuhan dan gejala depresi berhubungan dengan peningkatan kecenderungan untuk merokok dan penurunan kadar HDL kolesterol (Rutledge et al, 2001).

Tabel 2.2 Faktor resiko yang menonjol di beberapa jenis populasi (Yusuf, 2001)

<p><b><u>Populasi Eropa:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tingginya konsumsi lemak jenuh</li> <li>- Tingginya kadar kolesterol serum dan tekanan darah</li> <li>- Diabetes</li> <li>- Merokok</li> </ul>
<p><b><u>Populasi Jepang:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipertensi</li> <li>- Diabetes (non-insulin dependent diabetes mellitus)</li> </ul>
<p><b><u>Populasi Tionghoa:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Merokok</li> <li>- Hipertensi</li> <li>- Diabetes</li> </ul>
<p><b><u>Populasi Hispanik:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Merokok</li> <li>- Hipertensi</li> <li>- Rendahnya kadar kolesterol HDL</li> <li>- Diabetes</li> <li>- Inaktivitas fisik</li> <li>- Obesitas</li> </ul>
<p><b><u>Populasi Aborigin:</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Diabetes</li> <li>- Obesitas</li> <li>- Rendahnya kadar kolesterol HDL</li> </ul>
<p><b><u>Populasi Afrika (kulit hitam):</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hipertensi</li> <li>- Faktor sosioekonomi</li> <li>- Diabetes (pada populasi Afrika-Amerika, dibandingkan dengan orang berkulit putih).</li> </ul>

#### 2. 1. 4 Patofisiologi dan Patogenesis

Lemak yang diangkut ke seluruh jaringan tubuh memerlukan apoprotein untuk melarutkan dan memudahkan transportasinya di dalam darah. Gabungan antara lemak dan apoprotein di dalam tubuh disebut lipoprotein. Ada 4 jenis lipoprotein yaitu kilomikron, LDL (*Low Density Lipoprotein*), VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), dan HDL (*High Density Lipoprotein*). Kilomikron banyak mengandung trigliserida yang berasal dari penyerapan lemak di usus, berfungsi untuk mengangkut lemak dari usus ke hepar. VLDL terutama mengandung trigliserida dari hepar ke seluruh jaringan tubuh, untuk mencukupi kebutuhan jaringan terhadap lipid. LDL merupakan sisa VLDL yang mengandung kolesterol dari hepar. HDL merupakan lipoprotein dengan kadar protein yang tinggi, serta

berfungsi untuk mengambil kolesterol dari jaringan (*reverse cholesterol transport*). HDL disebut juga sebagai lipoprotein yang baik (Murray et al, 2003).

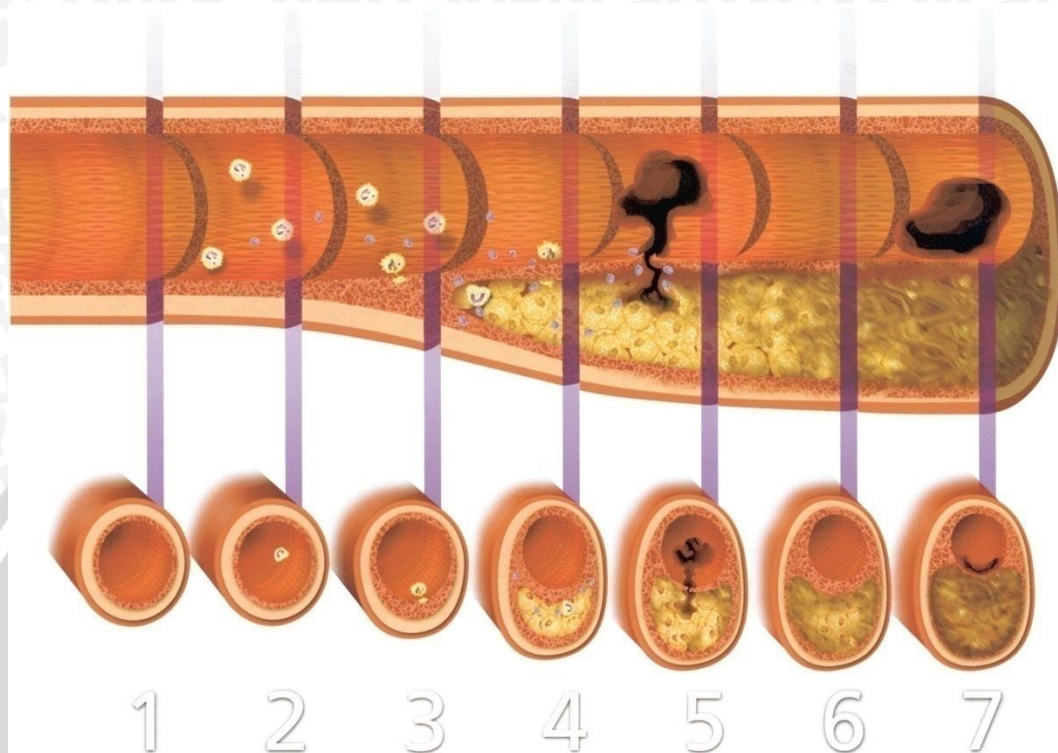
LDL merupakan lipoprotein yang paling berperan dalam patogenesis dari aterosklerosis. LDL sebagai sisa VLDL dibawa ke jaringan-jaringan, ditangkap oleh reseptor apoprotein B100 dan E. Di dalam sel apoprotein dihidrolisa oleh enzim proteolitik lisosom dan melepaskan kolesterol. Kolesterol kemudian ditimbun atau digunakan oleh jaringan. Di jaringan adrenal kolesterol akan diubah menjadi hormon steroid, di jaringan kulit akan diubah menjadi vitamin D, di jaringan hepar akan diubah menjadi asam empedu, dan bila tertimbun di dinding arteri akan membentuk ateroma (Murray et al, 2003).

Teori mengenai patomekanisme molekuler lesi awal aterosklerosis masih banyak diperdebatkan. Secara umum terdapat tiga teori mengenai hal ini, yang pertama adalah hipotesis respon terhadap jejas, yang menekankan terjadinya disfungsi endotel dan peran lipoprotein yang mengandung Apolipoprotein B sebagai tahap awal perkembangan aterosklerosis. Kedua adalah hipotesis respon terhadap retensi, yang menekankan bahwa tahap awal aterosklerosis adalah terjadinya retensi lipoprotein yang mengandung Apolipoprotein B di subendotelial. Yang ketiga adalah hipotesis LDL yang teroksidasi. Hipotesis ini menekankan pentingnya oksidasi LDL pada proses perkembangan aterosklerosis, diantaranya pemanggilan makrofag dan sel inflamasi lainnya ke ruang subendotelial (Hansson, 1997).

Menurut Sargowo (2003) terdapat 4 penyebab terbentuknya plak (indikator) aterosklerosis, diantaranya dislipidemia, disfungsi endotel, radikal bebas, dan inflamasi. Dislipidemia adalah abnormalitas atau jumlah yang abnormal pada lipid dan lipoprotein pada darah. Dislipidemia berbeda dengan hiperlipidemia, karena pada hiperlipidemia kadar semua lipoprotein dalam tubuh



meningkat, termasuk kadar HDL. Pada keadaan dislipidemia kadar LDL dan VLDL tinggi sedangkan kadar HDL rendah (Anwar, 2004).



Gambar 2.1 Inisiasi, perkembangan, dan komplikasi plak aterosklerosis  
(Libby et al, 2001)

Pembentukan plak aterosklerosis diawali dengan adanya lesi awal yang berasal dari penumpukan LDL pada matriks ekstraseluler intima endotel. Berkumpulnya LDL di lapisan intima arteri disebabkan karena ikatan antara molekul proteoglikan di matriks ekstraseluler intima dan LDL tersebut (disfungsi endotelial). Ikatan dengan molekul proteoglikan menahan partikel lipoprotein dan memperlambat keluarnya molekul lipoprotein dari intima (Kasper et al, 2005).

Senyawa radikal bebas bersifat merusak jaringan dan dapat menyebabkan berbagai penyakit, diantaranya kanker, penyakit inflamasi, aterosklerosis, dan penuaan. Radikal bebas yang berperan dalam patogenesis aterosklerosis adalah spesies oksigen reaktif ( $O_2^-$ ,  $ROO'$ ,  $-OH$ ), spesies nitrogen reaktif (nitrit oksida [NO] dan peroksinitrit [ $OONO$ ]). Pada arteri radikal bebas

dapat dihasilkan oleh sel-sel di dinding arteri, diantaranya sel endotel, sel otot polos, dan monosit. LDL yang terperangkap di dalam lapisan intima kemudian mengalami suatu proses auto oksidasi yang disebut peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid mengubah LDL menjadi LDL teroksidasi (Ox-LDL). Mudahnya LDL mengalami oksidasi disebabkan karena rendahnya kadar plasma di dalam matriks ekstraseluler intima. Di sisi lain, peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan radikal bebas yang kemudian akan menginisiasi peroksidasi selanjutnya (Murray et al, 2003; Navab, 2004). Radikal bebas yang terbentuk diperkirakan berfungsi sebagai *second messenger* dari lipid yang teroksidasi dan memicu ekspresi berbagai sitokin dan mediator inflamasi lainnya yang menyebabkan cedera sel endotel, penarikan sel-sel inflamasi ke dalam intima arteri, dan memicu proliferasi otot polos pembuluh darah (Hong Yang et al, 2004).

LDL yang teroksidasi memicu sekresi *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), *granulocyte colony stimulating factors* (GSCF), dan *macrophage colony stimulating factors* (MCSF) oleh sel endotel. Sitokin-sitokin inilah yang kemudian memanggil monosit, yang berubah menjadi makrofag di dalam jaringan, dan sel inflamasi lainnya. Sel endotel juga mensekresi molekul *specific endothelial adhesion* (SEAM) sebagai reseptor yang menangkap makrofag. Makrofag kemudian mengalami migrasi dari sel endotel ke matriks ekstraseluler intima (Gambar 2.1 [2]). Apolipoprotein B-100 pada Ox-LDL lebih bermuatan negatif sehingga mampu dikenali oleh reseptor *scavenger* makrofag. Selanjutnya sel makrofag akan mefagosit LDL teroksidasi lewat proses endositosis dan menjadi sel busa yang penuh lemak (Gambar 2.1 [3]). Reseptor *scavenger* makrofag sebenarnya mampu menyingkirkan Ox-LDL dari lesi yang berkembang. Namun, ketika jumlah lipid yang masuk ke dalam endotel lebih banyak daripada jumlah sel makrofag yang masuk, maka terjadilah penimbunan lemak dalam



endotel pembuluh darah. Hal ini memicu terbentuknya ateroma. Di samping itu, beberapa sel busa akan keluar dari dinding arteri, beberapa menghilang dalam lesi intimal yang membesar, dan beberapa akan mengalami apoptosis. Sel busa yang mengalami apoptosis menyebabkan area kaya lipid, atau disebut inti nekrosis (Kasper et al, 2005; Murwani et al, 2006).

Tidak seluruh lesi awal berkembang plak aterosklerosis, walaupun lesi awal cenderung untuk berkembang menjadi plak aterosklerosis. Perkembangan lesi awal menjadi plak aterosklerosis ini dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain keterlibatan sel otot polos arteri, koagulasi darah, pembuluh darah mikro, dan evolusi plak. Keseimbangan antara jumlah lipoprotein dan leukosit yang masuk dan keluar, proliferasi dan kematian sel, produksi matriks ekstraseluler dan remodeling, kalsifikasi dan neovaskularisasi berperan penting dalam proses evolusi plak aterosklerosis. Sitokin dan faktor pertumbuhan yang dipicu oleh LDL teroksidasi, diantaranya VCAM-1, MCP-1, IL-6, dan CRP yang diperantarai oleh aktivasi NFkB, dikeluarkan oleh sel endotel arteri dan menstimulasi migrasi sel otot polos ke dalam lesi intima, proliferasi sel otot polos di dalam lesi intima dan memicu akumulasi matriks ekstraseluler. Proses ini menyebabkan lesi awal bertransformasi menjadi lesi yang lebih lebih fibrosa dan kaya matriks ekstraseluler (Kasper et al, 2005).

Ateroma awalnya berkembang di bawah lapisan endotel yang intak. Namun pada lesi tingkat lanjut terjadi kerusakan integritas endotel secara mikroskopis. Terpaparnya aliran darah pada membran basalis endotel yang kaya akan zat trombogenik menyebabkan terbentuknya trombus yang kaya platelet atau disebut juga mikrotrombi. Mikrotrombi ini kemungkinan besar akan sembuh tanpa manifestasi klinis lewat proses fibrinolisis lokal, resorpsi dan perbaikan endothelial (Kasper et al, 2005).



Neovaskularisasi terjadi seiring perkembangan lesi aterosklerosis lebih lanjut. Pembuluh darah ini membentuk pleksus-pleksus yang terhubung dengan vasa vasorum arteri. Dengan adanya pembuluh darah ini, komplikasi lesi bertambah parah karena semakin banyaknya sel leukosit yang masuk dan keluar dari ateroma yang telah terbentuk. Selain itu, pembuluh darah mikro ini juga rentan ruptur dan menghasilkan perdarahan lokal sehingga memperparah proses inflamasi yang terjadi. Plak aterosklerosis kadang mengandung hemosiderin dan fibrin sebagai indikasi episode perdarahan intraplak. Dalam perkembangan selanjutnya, plak aterosklerosis mampu menjadi tempat akumulasi kalsium dan menyebabkan arteri mengeras dan kaku (Kasper et al, 2005).

Kompleks ateroma kadang mempunyai karakter fibrosa yang mengurangi penampakan hiperseluler dari lesi moderate (*less advance*) dan menurunnya jumlah sel otot polos. Hal ini disebabkan karena adanya mediator sitostatik (TGF  $\beta$  dan IFN  $\gamma$ ) yang dominan dan mampu menghambat proliferasi sel otot polos. Mediator tersebut menyebabkan ekspresi *tissue factors*, yang merupakan zat prokoagulan yang poten, dan *matrix-degrading proteinases* yang melemahkan kapsul fibrosis plak aterosklerosis (Gambar 2.1 [4]). Selain itu, berkurangnya jumlah sel otot polos juga disebabkan karena proses apoptosis yang dialami oleh sel otot polos (Libby, 2001; Kasper et al, 2005).

Bila kapsul fibrosis ruptur faktor koagulan dalam darah mampu bertemu dengan zat trombogenik, *tissue factor* yang mengandung inti lipid, menyebabkan trombosis yang nonoklusif. Bila terjadi ketidakseimbangan antara faktor protrombotik dan fibrinolitik, maka dapat terjadi sindrom koroner akut (Gambar 2.1 [5]). Ketika trombus diserap, produk yang berhubungan dengan trombosis seperti trombin dan mediator yang dilepaskan oleh *degranulated platelet* (*platelet-derived growth factors* dan TGF  $\beta$ ) menyebabkan respon penyembuhan, memicu peningkatan akumulasi kolagen dan pertumbuhan sel otot polos.

Dengan cara ini lesi *fibrofatty* dapat berubah menjadi *advanced fibrous* (Gambar 2.1 [6]). Pada beberapa kasus, trombus oklusif muncul bukan dari fraktur kapsul fibrosa, namun dari erosi superfisial pada permukaan endotel. Hal ini dapat menyebabkan mural trombus, yang kemudian menyebabkan infark miokard akut. Erosi superfisial kadang diperparah dengan lesi *advance* dan stenosis. Walaupun demikian, erosi superfisial tidak biasanya terjadi setelah rupturnya kapsul fibrosis (Gambar 2.1 [7]).

### 2.1.5 Komplikasi

Aterosklerosis adalah penyakit yang bisa menyebabkan kematian dan kecacatan (Kasper et al, 2005). Salah satu komplikasi dari aterosklerosis adalah thrombosis (Hirsh et al, 2001). Selain itu, aterosklerosis bisa menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari letak arteri yang terkena. Aterosklerosis pada pembuluh darah di otak bisa menyebabkan stroke atau iskemi otak sementara. Bila terjadi pada arteri koroner maka menyebabkan infark miokard ataupun angina pectoris. Bila terjadi pada pembuluh darah perifer maka menyebabkan klaudikasi dan gangrene (Kasper et al, 2005).

### 2.1.6 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang tidak stabil akibat adanya 1 atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Karena ketidakstabilannya, molekul ini cenderung untuk menarik molekul lain yang ada disekitarnya (Halliwell dan Gutteridge, 2000; Winarsi, 2007). Derajat reaktivitas radikal bebas ditentukan oleh elektron yang tidak berpasangan. Radikal yang berasal dari oksigen merupakan radikal yang paling penting yang dihasilkan oleh tubuh manusia (Miller et al, 1990 dalam Valco et al, 2007). Terdapat dua jenis radikal bebas, yaitu reactive oxygen species dan reactive nitrogen species (Valco et al, 2007).

Penambahan satu elektron pada molekul dioksigen membentuk radikal anion superoksida ( $O_2^-$ ). Molekul ini dibentuk sebagai hasil metabolisme maupun



hasil dari aktivasi oksigen akibat iradiasi fisik. Molekul ini kemudian dapat berinteraksi dengan molekul lain dan membentuk ROS sekunder. Produksi  $O_2^-$  paling banyak dihasilkan di dalam mitokondria sel (Valco et al, 2007).

Makrofag merupakan salah satu sel yang biasa menghasilkan radikal bebas. Hal ini diperlukan untuk mendukung kemampuannya dalam mengenali partikel asing dan menghancurkannya lewat proses ledakan respiratori. Untuk menghancurkan bakteri atau partikel asing lainnya, makrofag akan menghasilkan  $O_2^-$  dibantu oleh enzim NAD(P)H oksidase,  $O_2^-$  ini pada keadaan fisiologis akan segera dinetralkan oleh enzim SOD, dan membentuk hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) (Valco et al, 2007).

Pada kondisi fisiologis,  $H_2O_2$  dihasilkan oleh peroksisom. Peroksisom adalah tempat utama yang mengkonsumsi oksigen di dalam sel dan berpartisipasi dalam banyak fungsi metabolik yang menggunakan oksigen. Konsumsi oksigen dalam peroksisom menghasilkan  $H_2O_2$ , yang nantinya akan digunakan untuk mengoksidasi berbagai molekul. Peroksisom juga mengandung enzim katalase yang akan menetralkan  $H_2O_2$  dan mencegah penumpukan zat racun ini (Valco et al, 2007). Disaat peroksisom rusak dan enzim yang mengkonsumsi  $H_2O_2$  aktivitasnya menurun,  $H_2O_2$  akan dilepaskan ke sitosol dan berperan penting terhadap stres oksidatif (Valco et al, 2007).

Jenis ROS lainnya adalah radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ). Radikal ini merupakan bentuk netral dari ion hidroksil.  $OH^\cdot$  mempunyai reaktivitas yang sangat tinggi, sehingga sangat berbahaya bagi tubuh makhluk hidup. Waktu paruh radikal ini sangat cepat, sehingga molekul ini menyebabkan reaksi lokal (Valco et al, 2007).

Nitrik oksida ( $NO^\cdot$ ) adalah molekul kecil yang mengandung satu elektron yang tidak berpasangan. Molekul ini dihasilkan dalam jaringan biologis oleh *specific nitric oxide synthase* (NOSs).  $NO^\cdot$  diperlukan sebagai molekul pembawa sinyal pada berbagai proses fisiologis, misalnya transmisi neuron, pengaturan



tekanan darah, mekanisme pertahanan, relaksasi otot polos, dan regulasi sistem imun (Valco et al, 2007).  $\text{NO}^-$  dapat bereaksi dengan ion superoksida dan menghasilkan molekul oksidatif yang lebih aktif yaitu anion peroksinitrit, agen oksidan yang mempunyai kemampuan tinggi untuk memecah DNA dan mengoksidasi lipid (Carr et al, 2000).

Radikal bebas mempunyai efek seperti dua sisi mata uang, yang dapat berguna maupun berbahaya bagi sistem tubuh makhluk hidup. Radikal bebas dapat berguna pada kadar yang rendah atau sedang, yakni berperan dalam pengaturan respon fisiologis terhadap noksia, misalnya pada keadaan infeksi bakteri, ataupun pada induksi respon mitogenik. Di sisi lain, radikal bebas dapat berbahaya bagi tubuh ketika produksinya meningkat tanpa diikuti peningkatan status antioksidan dalam tubuh makhluk hidup. Kadar radikal bebas yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan dan menghambat fungsi normal pada lemak, protein, dan DNA sel (Valco et al, 2007). Radikal bebas yang memediasi peroksidasi lipid dihasilkan oleh reaksi rantai, dimana lipid peroxy radicals berperan sebagai chain-carrying species (Niki, 2004). Produksi berlebih reactive oxygen species yang tidak diikuti peningkatan antioksidan yang menetralkannya disebut stres oksidatif, sedangkan produksi berlebih reactive nitrogen species tanpa diikuti peningkatan antioksidan yang menetralkannya disebut stres nitrosatif (Ridnour et al, 2004; Valco et al, 2007).

### 2.1.7 Antioksidan

Antioksidan adalah zat atau senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas melalui reaksi oksidasi (Winarsi, 2007). Antioksidan secara umum dibagi kedalam 2 kelas berdasarkan cara kerjanya, pertama antioksidan preventif, yang mengurangi kecepatan rantai inisiasi, dan yang kedua antioksidan pemecah reaksi, yang mengintervensi pemanjangan rantai reaksi. Antioksidan preventif contohnya katalase (CAT), dan peroksidase lain yang bereaksi terhadap ROOH

dan radikal bebas lainnya. Sedangkan antioksidan pemecah reaksi yang diproduksi oleh tubuh adalah SOD, yang bekerja pada fase *aqueous* untuk menangkap radikal bebas  $O_2^-$ , dan vitamin E, yang bekerja pada fase lipid untuk menangkap radikal  $ROO^*$  (Murray et al, 2003).

Tabel 2.3 Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh (Guttridge, 1995)

Antioksidan	Cara Kerja
Antioksidan Intraseluler	
Superoxide dismutases (Cu, Zn, Mn)	Remove $O_2^-$ catalytically
Catalase; contains 4 NADPH molecules (Fe)	Removes $H_2O_2$ when present in high concentrations
Glutathione peroxidase (Se)	Removes $H_2O_2$ when present at low steady-state concentrations; can remove organic hydroperoxides
Prevention of $O_2^-$ , $H_2O_2$ , $^{\cdot}OH$ ; the formation by cytochrome oxidase (Cu)	No release of active oxygens during reduction of $O_2$ to $H_2O$
Antioksidan pada Membran Sel	
Vitamin E	Lipid-soluble, chain-breaking antioxidant
Beta-Carotene	Lipid-soluble radical scavenger and singlet oxygen quencher
Coenzyme Q	May act as an antioxidant in addition to its major role in energy metabolism
Membrane structural organization	Phospholipid; cholesterol, types of phospholipids and fatty acids important for membrane integrity
Antioksidan Ekstraseluler	
Transferrin	Binds ferric ions (2 per mole of protein)
Lactoferrin	Binds ferric ions at lower pH (2 per mole of protein)
Haptoglobins	Binds hemoglobin
Hemopexin	Binds heme
Albumin	Binds copper, heme, and scavenge HOCl
Ceruloplasmin	Ferroxidase activity-stoichiometric $O_2^-$ scavenging, binds copper ions (nonspecific), utilizes $H_2O_2$ for reoxidation of coppers
EC-SOD	Removes $O_2^-$ catalytically
EC-GSHPx	Removes $H_2O_2$ and hydroperoxides catalytically. Little GSH available in plasma
Bilirubin	Scavenges peroxy radicals (<0.09 $\mu\text{mol/L}$ )
Mucus	Scavenges $^{\cdot}OH$ radicals
Glucose	$^{\cdot}OH$ radical scavenger (4-6 mmol/L)
Ascorbic acid	$^{\cdot}OH$ radical scavenger (65 $\mu\text{mol/L}$ )
Urate	Radical scavenger and metal binder (0.08 $\mu\text{mol/L}$ )
Lipoprotein antioxidants	
Erythrocytes	Vitamin E Beta carotene Retinyl stearate Lycopene Diffusion of $H_2O_2$ into the cell and passage of $O_2^-$ through the anion channel (erythrocytes contain catalase and SOD)

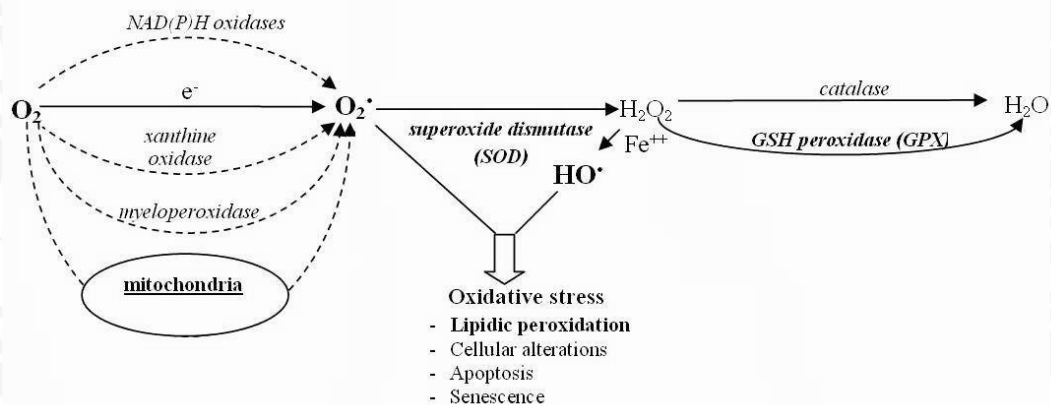


Mekanisme pertahanan melawan stress oksidatif akibat radikal bebas antara lain: mekanisme preventif yang mencegah pembentukan radikal, mekanisme perbaikan, perlindungan fisik yang menghambat radikal bebas ketika terbentuk, dan perlindungan antioksidan. Pertahanan antioksidan enzimatik terdiri dari superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase (CAT). Antioksidan nonenzimatik diantaranya asam askorbat, alfa tokoferol, glutathion, karotenoid, flavonoid, dan lain-lain (Valco et al, 2007).

### 2.1.8 Stres Oksidatif pada Aterosklerosis

Radikal bebas dan senyawa oksigen/nitrogen reaktif diantaranya superoksida ( $O_2^-$ ), hidroksil (OH $\cdot$ ), nitrik oksida (NO $\cdot$ ), nitrogen dioksida (NO $_2$ ) dan peroksill (ROO $\cdot$ ). Peroksinitrit (OONO $\cdot$ ), asam hipoklorus (HOCl), hidrogen peroksida (H $_2$ O $_2$ ), singlet oksigen ( $^1O_2$ ), ozon (O $_3$ ), asam nitrous (HNO $_2$ ) dan dinitrogen trioksida (N $_2$ O $_3$ ) bukanlah radikal bebas, namun dapat dengan mudah mengalami reaksi radikal bebas (Bahorun, 2006). Normalnya, senyawa-senyawa ini diperlukan dalam kadar rendah untuk membantu homeostasis tubuh, contohnya  $O_2^-$  diperlukan untuk fungsi imun yang optimal, NO diperlukan untuk regulasi tonus vaskuler. Tubuh juga mempunyai mekanisme untuk mencegah sifat patologis radikal bebas yaitu dengan antioksidan endogen. Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan untuk memelihara kesehatan jaringan. Stres oksidatif terjadi ketika peningkatan kadar spesies oksigen reaktif tidak diikuti peningkatan produksi antioksidan (Fattman, 2003).





Gambar 2.2 Produksi spesies reaktif oksigen dan mekanisme pertahanan enzimatik melawan kerusakan akibat stress oksidatif (Haulica et al, 2000)

SOD merupakan suatu enzim yang berperan penting untuk menetralkan  $O_2^{\cdot-}$  yang dihasilkan pada saat rantai transpor elektron oleh enzim NADPH oksidase.  $O_2^{\cdot-}$  secara spontan akan mengalami dismutase membentuk  $H_2O_2$  dan  $O_2$  yang dikatalis oleh enzim SOD.  $H_2O_2$  kemudian diubah menjadi air  $H_2O$  dan  $O_2$  dibantu oleh enzim CAT atau glutation peroksidase (GPx) (Murray et al, 2003; Held, 2010). SOD berperan untuk mencegah terbentuknya  $OONO^{\cdot-}$  yang terbentuk akibat reaksi antara  $NO$  dan  $O_2^{\cdot-}$ .  $OONO^{\cdot-}$  merupakan agen oksidasi yang sangat kuat, lebih kuat daripada  $H_2O_2$ .  $OONO^{\cdot-}$  dan  $H_2O_2$  berperan dalam peroksidasi lipid dan meningkatkan sensitivitas sel vaskular terhadap lipid teroksidasi dengan demikian bertanggungjawab terhadap perkembangan aterosklerosis (Fukai et al, 2002; Hong Yang et al, 2004).

Berdasarkan pathogenesis diatas, senyawa oksigen reaktif memegang peran penting dalam perkembangan aterosklerosis, terutama dalam mengoksidasi LDL. Pada lesi aterosklerosis, senyawa oksigen reaktif paling banyak dihasilkan oleh sel otot polos pembuluh darah dan makrofag (Vogiatzi, 2009). Tingginya kadar oksidan, dalam hal ini radikal bebas, pada perkembangan aterosklerosis menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Peningkatan kebutuhan oksigen menyebabkan terjadinya peningkatan kadar  $O_2^{\cdot-}$ . Peningkatan kadar  $O_2^{\cdot-}$

menurunkan kadar SOD karena SOD berfungsi untuk menetralkan  $O_2^-$  yang sangat reaktif, dan secara tidak langsung meningkatkan kadar  $H_2O_2$  (Held, 2010).

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, terdapat empat indikator aterosklerosis yaitu dislipidemia, disfungsi endotel, radikal bebas, dan inflamasi. Melalui pemeriksaan laboratorium, dislipidemia dapat diukur dengan pemeriksaan kadar kolesterol HDL, LDL, VLDL, dan TG di dalam darah, dimana terjadi penurunan kadar HDL disertai peningkatan kadar LDL, VLDL, dan TG. Disfungsi endotel diukur dengan pemeriksaan kadar zat yang berperan dalam menjaga fungsi endotel yaitu *nitric oxide* (NO). NO berperan sebagai vasodilator endogen yang poten, mampu menghambat efek vasokonstriktor endotelium (*endothelium-derived vasoconstrictors*) dan menghambat oksidasi LDL. Kondisi disfungsi endotel ditandai dengan kelainan pada vasodilatasi dependen endotelium (*endothelium-dependent vasodilatation*). Inflamasi dapat diukur dengan pemeriksaan kadar mediator inflamasi seperti interleukin-1 (IL-1), IL-6, dan tumor necrosis factors alfa (TNF- $\alpha$ ). Radikal bebas dapat diukur dengan pengukuran kadar antioksidan endogen seperti SOD dan CAT, ataupun pengukuran langsung kadar radikal bebas seperti  $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ , dan  $OH^-$  (Fukai et al, 2002; Sargowo, 2003; Anwar, 2004; Wihastuti, 2013). Penelitian ini secara khusus akan lebih fokus membahas tentang SOD dan  $H_2O_2$  sebagai penanda aterosklerosis.

#### 2.1.8.1 Superoksida Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase (Nomenklatur IUBMB EC 1.15.1.1.) adalah suatu enzim metalloprotein, disebut juga eritrokuprein, hemokuprein, atau sitokuprein. SOD dihasilkan oleh pembuluh darah, jantung, paru, ginjal, dan plasenta. Ada tiga isoform SOD, ketiganya merupakan produk dari gen yang berbeda namun mengkatalis reaksi yang sama. Tiga isoform itu antara lain sitosolik atau *copper-zinc* SOD (CuZn-SOD atau SOD-1), *manganese* SOD (Mn-SOD atau SOD-2)



yang terlokalisir di mitokondria, dan bentuk ekstraseluler dari CuZn-SOD (EC-SOD atau SOD-3). Protein dan mRNA EC-SOD banyak terkandung pada sel otot polos pembuluh darah dan sel endotel (McCord et al, 1969; Faraci dan Didion, 2004; Nozik-Grayck et al, 2005). SOD berperan dalam mengkatalis reaksi penggabungan antara dua anion  $O_2^-$  dan dua kation hidrogen menjadi  $H_2O_2$  dan  $O_2$ . Selanjutnya,  $H_2O_2$  akan dikonversi oleh enzim CAT menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ . (Held, 2010).

Di dalam tubuh, SOD mempunyai peran penting dalam mengeliminasi radikal bebas yang terbentuk selama proses metabolisme menggunakan  $O_2$ . Proses metabolisme, terutama rantai transpor elektron selain menghasilkan energi dan air juga menghasilkan spesies oksigen reaktif. SOD, terutama EC-SOD, merupakan satu-satunya antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas  $O_2^-$  dan ion hidrogen di kompartemen ekstraseluler. Netralisir ion  $O_2^-$  diperlukan untuk mencegah kerusakan jaringan yang dapat ditimbulkannya (Nozik-Grayck et al, 2005).

Stress oksidatif akibat peningkatan kadar  $O_2^-$  di pembuluh darah yang terjadi pada penyakit aterosklerosis menyebabkan penurunan kadar SOD yang merupakan enzim antioksidan (Kodja dan Harrison, 1999; Wresdiyati et al, 2002; Faraci dan Didion, 2004; Padurariu et al, 2010). Salah satu hasil reaksi yang dikatalisir enzim SOD, yaitu  $H_2O_2$ , mampu menginaktivasi SOD. Di sisi lain,  $H_2O_2$  melalui mekanisme aktivasi NFkB mampu meningkatkan produksi SOD intraseluler, walaupun mekanisme aktivasi NFkB masih belum diketahui kemampuannya dalam meregulasi kadar SOD ekstraseluler (Miao dan Clair, 2009). Rendahnya aktivitas atau kadar SOD pada serum kemungkinan besar merupakan faktor independen dari penebalan dinding arteri (Isogawa et al, 2009). Landmesser (2000) membuktikan peran SOD ekstraseluler (EC-SOD) terhadap aterosklerosis, yaitu dengan menghalangi oksidasi LDL. Penelitiannya

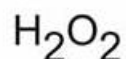
membuktikan bahwa aktivitas EC-SOD menurun pada pasien dengan penyakit jantung koroner (Landmesser, 2000 dalam Nozik-Grayck et al, 2005). Penelitian Cui (2014) menyatakan bahwa peningkatan ekspresi SOD ekstraseluler dapat mencegah terjadinya penyakit-penyakit yang diinduksi oleh diet tinggi lemak. Oleh karena sifatnya sebagai enzim antioksidan, SOD merupakan salah satu indikator terjadinya stress oksidatif pada proses aterosklerosis (Padurariu, 2010).

### 2.1.8.2 Hidrogen Peroksida ( $H_2O_2$ )

Hidrogen peroksida adalah suatu senyawa cair berwarna biru pucat, mampu bercampur dengan air dan mampu untuk menembus membran sel dengan mudah. Pada kadar yang tinggi ( $\geq 50\mu M$ ) bersifat sitotoksik pada sebagian besar kultur sel hewan, tumbuhan, dan bakteri (Halliwell, 2000; Veal et al, 2007).  $H_2O_2$  dihasilkan dari penghilangan hidrogen dari sebuah substrat dengan oksigen sebagai aseptornya.  $H_2O_2$  dihasilkan oleh enzim-enzim pada membran fagosom ataupun oleh organela spesial bernama peroksisom (Guyton dan Hall, 2006).  $H_2O_2$  ini mampu dihasilkan oleh banyak sistem enzim yang banyak terdapat di dinding pembuluh darah diantaranya enzim NADPH oksidase, mitokondria, xantin oksidase, dan eNOS, namun yang terutama adalah enzim NADPH oksidase (Schulz et al, 2004; Veal, 2007). Selain itu,  $H_2O_2$  juga dapat dihasilkan oleh enzim-enzim lain seperti urat oksidase, glukose oksidase, dan D-amino acid oksidase secara langsung, dengan cara mentransfer dua elektron ke molekul oksigen (Guttridge, 1995).



Hydrogen Peroxide



Gambar 2.3 Struktur Molekul Hidrogen Peroksida (Held, 2010)



$H_2O_2$  adalah oksidan yang lemah dan agen reduksi yang lemah, sehingga relatif stabil pada keadaan tidak adanya ion metal transisi. Namun, pada keadaan dimana terdapat ion metal transisi  $H_2O_2$  dapat bereaksi dan mampu membentuk senyawa radikal bebas yang sangat reaktif yaitu radikal hidroksil (Guttridge, 1995).

NADPH oksidase berperan dalam rantai transpor elektron yang mana menghasilkan  $O_2^-$ .  $O_2^-$  kemudian diubah menjadi  $H_2O_2$  dan  $O_2$  dibantu oleh enzim SOD.  $H_2O_2$  kemudian diubah menjadi air dan oksigen oleh enzim CAT atau menjadi glutation teroksidasi dan air oleh enzim GPx (Murray et al, 2003).

Senyawa ini merupakan suatu senyawa oksidan yang kuat, yang diproduksi selama proses metabolisme. Bila bereaksi dengan  $Fe^{2+}$ ,  $H_2O_2$  dapat membentuk  $OH^+$  dan  $OH^-$ . Ion hidroksil merupakan radikal bebas yang kuat, dapat merusak protein, karbohidrat, DNA, dan molekul lain dalam tubuh. Reaksi ini dikenal dengan sebutan reaksi Fenton (Murray et al, 2003; Bahorun, 2006).

Di sisi lain,  $H_2O_2$  dalam kadar rendah dapat dimanfaatkan dalam berbagai reaksi di dalam tubuh. Karena kemudahannya dalam berdifusi  $H_2O_2$  mampu mengaktifkan sinyal kaskade untuk memediasi perubahan fungsi vaskuler, antara lain pertumbuhan berlebihan dari endotel, angiogenesis, proliferasi dan hipertropi sel otot polos, apoptosis sel endotelial, induksi protein inflamasi, interaksi endotel-leukosit, pembaharuan endotel, disfungsi sawar endotel dan reorganisasi sitoskeleton (Cai, 2005). Selain itu, karena sifat oksidannya yang kuat,  $H_2O_2$  yang dihasilkan oleh sel-sel fagosit dimanfaatkan tubuh sebagai pertahanan terhadap sel bakteri maupun sel kanker yang tidak mampu dihancurkan oleh enzim lisosom (Guyton dan Hall, 2006).

Dislipidemia, yang ditandai dengan tingginya kadar LDL, terutama dalam bentuk Ox-LDL terbukti mampu meningkatkan pembentukan spesies oksigen reaktif intrasel. Dislipidemia dan disfungsi endotel yang terjadi pada keadaan

aterosklerosis juga mampu memicu terjadi peningkatan aktivitas sel makrofag memfagosit lipid yang teroksidasi. Proses fagosit yang dilakukan oleh sel-sel makrofag mengakibatkan terjadinya ledakan respiratori (*respiratory burst*) yang melibatkan enzim NAD(P)H oksidase dan menghasilkan ion superoksida yang kemudian akan diubah menjadi  $H_2O_2$ . Hal inilah yang menyebabkan peningkatan kadar  $H_2O_2$  di dalam tubuh pada kondisi aterosklerosis (Held, 2010).

## 2.2 Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

### 2.2.1 Gambaran umum

Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) merupakan tanaman yang hijau sepanjang musim dengan pertumbuhan yang lambat. Tanaman ini banyak ditemukan di daerah hutan hujan di India, Afrika Tengah dan Barat, Brazil, serta Asia Tenggara, termasuk di Indonesia. Tanaman ini banyak tumbuh di hutan tropis (Chantarasriwong et al, 2010).



Gambar 2.4 Pohon Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) (Akao, 2008)

Berikut taksonomi dari manggis (*Garcinia mangostana* Linn.):

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Ordo : Guttiferales
- Famili : Clusiaceae



Genus : *Garcinia*

Spesies : *Garcinia mangostana* Linn.

Buahnya dijuluki ratu buah karena rasanya daging buahnya yang enak dan bentuk kelopaknya yang menyerupai mahkota (Pedraza-Chaverri et al, 2008). Menurut Iswari (2005) (lihat Yatman, 2012:2) komponen yang terbesar dari buah manggis adalah kulitnya, yakni sebesar 70-75% dari keseluruhan berat buah manggis, bijinya sekitar 15-20%, sedangkan daging buahnya hanya 10-15% (Wittenauer, 2012; Yatman, 2012).



Gambar 2.5 Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) (Akao, 2008)

Hampir semua bagian tanaman manggis dapat dimanfaatkan. Kulit buahnya berguna untuk pengobatan, daging buah untuk konsumsi, daun, batang, dan akarnya dipercaya untuk mengobati berbagai macam penyakit (Kastaman, 2007 dalam Istimansyah, 2010:5).

### 2.2.2 Kandungan

Kulit manggis mempunyai berbagai kandungan aktif yang mampu berguna untuk terapi berbagai penyakit. Senyawa tersebut diantaranya xanton, terpenes, antosianin, tanin, fenol, potasium, katekin, kalsium, fosfor, besi, vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, dan C (Kosem et al, 2006; Foti et al, 2009; Yatman, 2012). Xanton adalah suatu senyawa polifenol dengan struktur molekul C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>. Total kandungan xanton pada kulit manggis adalah yang paling tinggi dibandingkan bagian-bagian

lain, yaitu sebesar 107,76 mg per 100 gr kulit buah manggis, sedangkan pada daging buah kadar xanton mencapai 29 mg per 100 gr daging buah.

Xanton telah menunjukkan kemampuan biologis dan farmakologis yang luas, terutama terhadap penyakit kardiovaskular diantaranya penyakit jantung iskemik, aterosklerosis, hipertensi, dan trombosis. Xanton mempunyai efek protektif pada sistem kardiovaskular karena efek antioksidan, antiinflamasi, penghambat agregasi platelet, antitrombotik dan atau vasorelaksan. Senyawa xanton dalam kulit manggis adalah sumber antioksidan terbanyak yang ditemukan di alam. Sejauh ini kurang lebih ada 50 jenis xanton yang telah ditemukan di dalam buah manggis (Jiang et al, 2004; Jung et al, 2006; Dembitsky et al, 2011; Monajjemi et al, 2011).

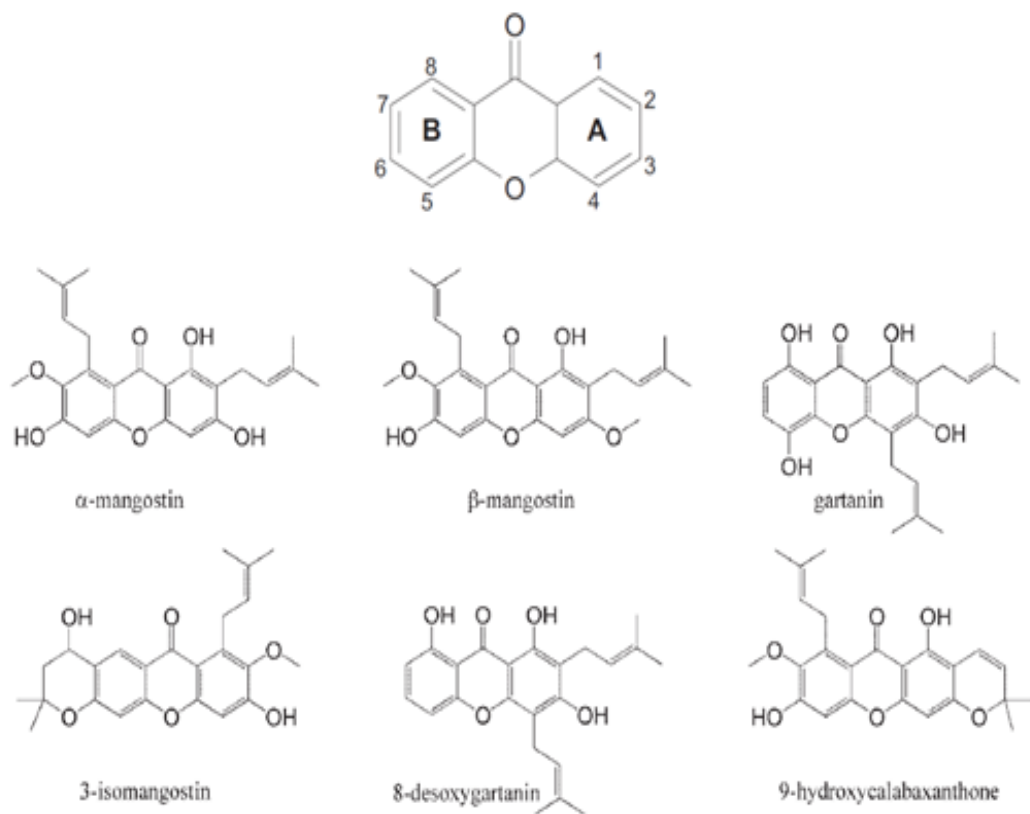
Diantara banyaknya jenis xanton yang telah ditemukan, yang paling sering diteliti adalah jenis alfa mangostin, beta mangostin, gamma mangostin, garcinone E, garcinone E, 8-deoxygartanin, dan gartanin (Pedraza-Chaverri et al, 2008). Alfa dan gamma mangostin adalah xanton yang paling banyak terkandung di dalam kulit manggis (Gutierrez-Orozco dan Failla, 2013).



Tabel 2.3 Jenis Xanton yang ditemukan dalam kulit buah *Garcinia mangostana* Linn.(Pedraza-Chaverri, 2008)

Senyawa turunan xanton yang terkandung dalam kulit manggis	Efek/Manfaat
Alfa mangostin	Antioksidan, Antitumoral, antiinflamasi, antialergi, antibakterial, antifungal, antivirus, antimalarial
Beta mangostin	Antitumoral, antialergi, antibakterial, antimalarial
Gamma mangostin	Antiinflamasi, antialergi, antibakterial, antifungal, antitumoral, antivirus
Mangostanol	Antibakterial
Mangostenol	Antibakterial
Mangostin	Antimikrobia
1-Isomangostin	Antiinflamasi, antibakterial, antioksidan
3-Isomangostin	Antibakterial
Toxyloxanthone A (trapezifolixanthone)	Antibakterial
Smeathxanthone A	Antioksidan
Demethylcalabaxanthone	Antibakterial
Euxanthone	Antifungal
Cudraxanthone	Antioksidan
8- hydroxycudraxanthone G	Antioksidan
BR-xanthone A	Antifungal
BR-xanthone B	Antifungal
Mangostenone A	Antibakterial
Mangostenone C	Antitumoral
Mangostenone D	Antitumoral
Mangostenone E	Antitumoral
Mangostinone	Antioksidan, antitumoral
Gartanin	Antitumoral, antibakterial, antioksidan, antifungal
8- Deoxygartanin	Antifungal, antioksidan
Garcinone B	Antiinflamasi, antibacterial
Garcinone C	Antitumoral
Garcinone D	Antitumoral, antifungal, antioksidan, antibacterial
Garcinone E	Antioksidan, Antitumoral, antibacterial
Garcimangosone B	Antioksidan
Tovophyllin A	Antioksidan
Tovophyllin B	Antibakterial
1,7-dihydroxy-2-isoprenyl-3-methoxyxanthone	Antitumoral
Methoxy-beta-mangostin	Antitumoral

## XANTHONES



Gambar 2.6 Struktur molekul xanton yang ditemukan di dalam kulit buah manggis (Foti et al, 2010)

Penjelasan mengenai farmakokinetik dari xanton masih belum terlalu banyak dimengerti. Menurut Chitchumroonchokchai et al (2012), xanton dalam manggis diserap saat dikonsumsi bersama diet tinggi lemak, walaupun pelepasan xanton dari partikel kulitnya selama pencernaan terbatas.

### 2.2.3 Penggunaan Kulit Manggis

Sejak dahulu kulit manggis telah banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti diare, sakit perut, disentri, luka yang terinfeksi, supurasi, dan ulkus kronis. Berdasarkan beberapa penelitian eksperimental belakangan ini, ditemukan bahwa kulit manggis memiliki banyak efek untuk kesehatan antara lain efek antioksidan, antitumor, antiinflamasi, antialergi,



antibakteri, antifungal, antiviral, dan antimalarial (Weecharangsan et al, 2006; Kosem et al, 2007; Pedraza-Chaverri et al, 2008).

Antioksidan eksogen, dalam hal ini xanton, dapat bekerja dengan dua cara, pertama sebagai antioksidan langsung dengan mekanisme menangkap radikal bebas, yang kedua sebagai antioksidan tidak langsung yang meningkatkan status antioksidan baik sistem enzimatik maupun sistem non-enzimatik (Blanco-Alaya et al, 2013). Xanton bekerja dengan cara menangkap radikal bebas dan menurunkan peroksidasi lipid. Penangkapan radikal bebas yang merupakan mediator inflamasi dalam memicu keluarnya sitokin-sitokin pro-inflamasi membuktikan bahwa alfa mangostin juga mempunyai efek antiinflamasi (Navya et al, 2012).

Alfa mangostin berperan dalam melawan terjadinya proliferasi sel leukemia manusia HL60 dengan memicu terjadinya apoptosis. Selain itu, alfa mangostin menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang menghambat fase inflamasi akut dan kronis secara signifikan dan *dose-dependent* (Navya et al, 2012). Gamma mangostin berperan dalam menghambat aktivitas siklooksigenase dan menekan konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin E2 (Kosem et al, 2007). Bila dihubungkan dengan penyakit aterosklerosis, ekstrak kulit manggis terbukti mampu menghambat oksidasi LDL, sehingga menurunkan resiko terjadinya aterosklerosis. Xanton adalah penangkap radikal bebas yang sangat kuat, yang mampu berikatan dengan elektron bebas dari radikal bebas (Farrell, 2006).

#### **2.2.4 Efek Ekstrak Kulit Manggis terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Hidrogen Peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Cara kerja xanton dibedakan berdasarkan dua cara kerja antioksidan eksogen. Pertama sebagai penetralisir radikal bebas (antioksidan eksogen) dengan cara mendonorkan elektronnya untuk ion O<sub>2</sub><sup>-</sup>, sehingga kadar enzim

antioksidan SOD mampu mencapai atau mendekati normal (Pedraza-Chaverri et al, 2009; Blanco-Ayala, 2013). Kedua adalah dengan menstimulasi produksi antioksidan endogen seperti yang dibuktikan Devi Sampath dan Vijayaraghavan (2007). Menurutnya, Alfa mangostin mampu meningkatkan kadar antioksidan endogen SOD pada tikus dengan infark miokard yang diinduksi isoproterenol. Ekstrak kulit manggis mampu menstimulasi produksi SOD melalui mekanisme aktivasi *Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2* (Nrf-2) yang menginisiasi ekspresi gen yang mengkode antioksidan (Son et al, 2008; Arsana et al, 2013). Dengan demikian, pemberian ekstrak kulit manggis diharapkan dapat menormalkan kadar SOD, sehingga menghambat perkembangan penyakit aterosklerosis.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagian besar dihasilkan oleh organela mitokondria yang banyak terkandung dalam sel makrofag yang dikatalis oleh enzim SOD. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kemudian dinetralsir oleh enzim CAT dan GPx. Enzim-enzim inilah yang mempengaruhi kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> di dalam tubuh. Cara kerja xanton dibedakan berdasarkan dua cara kerja antioksidan endogen. Pertama sebagai penangkap radikal bebas atau antioksidan eksogen dengan mendonasikan elektronnya ke radikal bebas OH<sup>•</sup> dan O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, sehingga terbentuk H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub> yang akan berubah jadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ditinjau dari proses ini pemberian ekstrak kulit manggis dapat meningkatkan kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Martinez, 2012).

Walaupun begitu, ekstrak kulit manggis dapat menurunkan kadar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan cara kedua, yaitu dengan meningkatkan kadar antioksidan endogen GPx dan CAT yang dapat menetralsir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Peningkatan konsentrasi alfa mangostin, salah satu senyawa turunan xanton, menyebabkan peningkatan aktivitas enzim GPx bila dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberikan alfa mangostin (Marquez-Valadez et al, 2012). Selain itu, alfa mangostin juga terbukti dapat meningkatkan kadar enzim antioksidan CAT yang mengkatalis reaksi



pengubahan molekul  $H_2O_2$  menjadi molekul  $H_2O$  (Devi Sampath dan Vijayaraghavan, 2007).

Dengan demikian, pemberian ekstrak kulit manggis diharapkan dapat menurunkan kadar  $H_2O_2$  yang terbentuk akibat stress oksidatif (Weecharansan, 2006). Hal berbeda dinyatakan oleh Pedraza-Chaverri et al (2009) bahwa alfa mangostin tidak dapat menangkap radikal bebas  $H_2O_2$ .

## **2. 3 Model Aterosklerosis**

Model aterosklerosis adalah hewan coba yang digunakan untuk menggambarkan kondisi aterosklerosis baik secara metabolik dan atau patofisiologi. Ada beberapa hewan coba yang pernah digunakan sebagai model aterosklerosis, diantaranya kelinci (Ameli et al, 1997), babi (Casani et al, 2005 dalam Badimon, 2013) dan tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* (Murwani et al, 2005). Diantara beberapa hewan coba tersebut, tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* adalah hewan coba yang mudah didapat dan mudah penanganannya.

### **2.3.1 Penggunaan *Rattus norvegicus* strain *Wistar* sebagai Model In Vivo Aterosklerosis**

Penggunaan hewan coba aterosklerosis pertama ditemukan pada tahun 1908 oleh Ignatowski menggunakan hewan kelinci. Penelitiannya membuktikan bahwa pemberian diet yang diperkaya protein hewani pada kelinci menyebabkan pembentukan lesi pada dinding aorta (Ignatowski, 1908 dalam Badimon, 2013). Semenjak saat itu berbagai penelitian dilakukan untuk memperoleh hewan model aterosklerosis yang tepat. Sampai saat ini terdapat beberapa hewan coba yang dianggap mampu menggambarkan keadaan aterosklerosis, diantaranya kelinci (Ameli et al, 1997), babi (Casani et al, 2005 dalam Badimon, 2013) dan tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* (Murwani et al, 2005). Setiap hewan tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangannya masing-masing.

Kelinci merupakan hewan coba yang paling sering digunakan sebagai hewan model aterosklerosis. Keadaan hiperkolesterolemia pada kelinci dapat dipicu dengan pemberian diet tinggi kolesterol selama beberapa hari. Hiperkolesterolemia terutama karena akumulasi kolesterol eksogen, sebab kelinci tidak mampu meningkatkan ekskresi sterol (Kolodgie, 1996 dalam Badimon, 2013). Kelebihan hewan coba kelinci adalah mudah dipelihara, murah, mudah ditemukan, metabolisme lipoprotein hampir sama dengan manusia, respon baik terhadap diet kolesterol, dan tersedia galur yang telah mengalami rekayasa genetik menjadi hiperlipidemia. Kelemahan kelinci adalah dibutuhkan diet yang sangat abnormal untuk menginduksi hiperkolesterolemia dan perkembangan aterosklerosis, serta pemberian diet tinggi kolesterol jangka panjang dapat menyebabkan inflamasi massif dan hepatotoksitas (Fuster et al, 2012; Badimon, 2013).

Babi mempunyai anatomi kardiovaskular yang sangat mirip dengan manusia. Selain itu, babi juga dapat membentuk lesi aterosklerosis secara spontan, bahkan dengan diet normal. Kelebihan lainnya adalah distribusi lesi yang sama dengan manusia, yaitu di aorta, arteri koronaria, dan arteri karotis, serta metabolisme lipoprotein yang hampir sama dengan manusia. Kerugian penggunaan hewan coba babi adalah membutuhkan biaya perawatan dan pemeliharaan yang besar, sulit dipelihara (kecuali galur *minipig*), dan pembentukan lesi atheroma membutuhkan waktu yang lebih lama dibanding spesies lainnya (Fuster et al, 2012; Badimon, 2013).

Tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar (tikus Wistar) adalah tikus albino yang pertama kali ditemukan di *Wistar Institute* Filadelfia pada tahun 1909. Tikus ini kemudian disebarluaskan sebagai hewan coba yang sangat populer. Keunggulan dari tikus adalah mudah bereproduksi dan dipelihara, genetik telah dipahami dengan jelas dan tersedia galur-galur *inbred*, dan telah ada protocol



baku dalam memanipulasi genetiknya. Namun, tikus Wistar cenderung resisten terhadap aterosklerosis. Hal ini disebabkan karena lipoprotein utama dalam transport lipid tikus adalah HDL, sehingga tikus mempunyai kadar HDL yang tinggi dan LDL yang rendah. Selain itu, tikus juga tidak mengekspresikan CETP (*cholesteryl ester transfer protein*), yaitu protein plasma yang digunakan untuk memindahkan kolesterol ester dari HDL ke lipoprotein lain yang pro-aterogenik. Berbeda dengan manusia, diet tinggi lemak tidak serta merta menyebabkan aterosklerosis pada tikus Wistar (Badimon, 2013). Hal ini disebabkan karenatingginya aktivitas  $7\alpha$ -hidroksilase hepar yang berfungsi untuk mensintesis asam empedu, sehingga kolesterol diet yang berlebihan dapat segera dikonversi menjadi asam empedu (Horton et al, 1995). Sifat resistensi ini dapat diatasi dengan rekayasa genetik atau dengan induksi senyawa tertentu seperti tiourasil, dan asam kolat. Kelemahan lainnya adalah profil lipid plasma yang berbeda dengan manusia dan perbedaan morfologi dinding arteri (Fuster 2012; Badimon, 2013).

### **2.3.2 Pemberian Diet Tinggi Lemak sebagai Penginduksi Aterosklerosis**

Tikus adalah hewan yang resisten terhadap aterosklerosis. Oleh karena itu diperlukan penginduksi aterosklerosis. Ada tiga senyawa yang dapat menginduksi aterosklerosis pada tikus, yaitu tiourasil (Abarbanell et al, 2010), vitamin D3 (Srinivas, 2008), dan asam kolat (Murwani et al, 2006).

Tiourasil adalah penghambat hormone tiroid, sehingga menyebabkan terjadinya hipotiroidisme. Keadaan hipotiroidisme memicu penurunan aktivitas reseptor LDL dan hiperkolesterolemia (Moghadasian, 2001; Abarbanell et al, 2010). Vitamin D3 bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak pada tikus mampu menyebabkan perkembangan aterosklerosis dalam waktu 5 hari (Srinivas, 2008). Pemberian asam kolat diperkirakan dapat menurunkan kadar

HDL sehingga menginduksi dislipidemia. Asam kolat bekerja dengan cara meningkatkan absorpsi kolesterol dan bersamaan dengan itu menekan aktivitas kolesterol 7- $\alpha$  hidroksilase yang mengakibatkan penurunan ekskresi kolesterol (Moghadasian, 2001). Diet aterogenik dengan kadar kolesterol yang tinggi (~1%) dan asam kolat (0,25% - 0,5%) mampu mencetuskan peningkatan total kolesterol dan LDL dengan cara menurunkan produksi asam empedu, yang mana menurunkan kadar HDL (Pellizzon, 2008). Penelitian Murwani et al (2006) membuktikan bahwa pemberian diet tinggi lemak ditambah asam kolat (diet aterogenik) selama 8 minggu pada tikus Wistar terbukti menyebabkan hiperlipidemia dan menginduksi terbentuknya sel busa secara signifikan. Komposisi diet aterogenik untuk tikus Wistar adalah pakan normal gandum dan PARS yang ditambah kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, dan minyak babi 5%. Pemberian kolesterol dan minyak babi bertujuan untuk menginduksi hiperkolesterolemia. Pemberian diet aterogenik tanpa asam kolat terbukti tidak mampu meningkatkan kadar kolesterol dan pembentukan sel busa secara bermakna (Murwani et al, 2006).

Terdapat beragam komposisi diet aterogenik. Thompson (1969) mejadi pioner pemberian diet yang mengandung 30% lemak, 5% kolesterol, dan 2% kolat pada tikus. Tikus C57BL/6J yang diberikan diet ini terbukti mempunyai lesi sel busa pada aorta, yang semakin luas dan dalam seiring lama pemberian diet ini (Smith dan Breslow, 1997; Vergnes, 2003). Menurut penelitian Parmar dan Kar (2007) komposisi diet aterogenik sebagai berikut, diet normal ditambah dengan 4% kolesterol, 1% asam kolat, dan 0,5% 2-thiouracil. Diet ini terbukti mampu menyebabkan hiperlipidemia, obesitas, menginduksi defisiensi insulin akibat hiperglikemia dan hipotiroidisme. Penelitian Srinivas (2008) menggunakan campuran 2 gram kolesterol, 8 gram lemak, dan 100 mg kalsium dalam 90 gram PARS yang diberikan tiap hari, dan vitamin D3 peroral tiap bulan. Diet



hiperlipidemia untuk membentuk lesi aterosklerosis menurut Zha (2012) adalah 72% pakan normal, 15% minyak babi, 1,5% kolesterol, 1% sodium deoksikolat, dan 10% tepung kuning telur. Diet ini terbukti mampu menurunkan enzim antioksidan SOD, CAT, dan GST, serta meningkatkan peroksidasi lipid yang terlihat dari peningkatan kadar MDA. Selain itu, terdapat pula komposisi diet aterogenik menurut Colina-Coca (2014), yaitu pakan normal ditambah 2% kolesterol dan 0,5% asam kolat.

