

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

Aterosklerosis ialah suatu kondisi yang disebabkan peningkatan kolesterol dan inflamasi pada arteri yang menyebabkan terjadinya lesi di pembuluh darah yang disebut dengan plak. Plak dibentuk dari tingginya kolesterol, lemak, dan inflamasi pada dinding arteri. Plak ini dapat mempersempit arteri dan menyebabkan gejala dari penurunan aliran darah seperti nyeri dada yang disebabkan oleh angina atau nyeri di tungkai yang disebut klaudikasio. Plak bisa tidak stabil dan mengalami ruptur, yang menyebabkan serangan jantung dan stroke (UCLA, 2001) .

Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Kementerian Kesehatan tahun 2007, kematian akibat penyakit kardiovaskuler mencapai 31,9%. Sedangkan WHO (2011) memperkirakan kematian yang disebabkan oleh penyakit kardiovaskular pada tahun 2030 mencapai 23,3 juta kematian, dan penyakit kardiovaskular tetap menjadi penyebab utama pada tahun 2030.

2.1.1 Tunika Intima sebagai tempat perkembangan lesi aterosklerotik

Pembuluh darah manusia memiliki 3 lapisan disebut dengan tunika, yang terdiri dari tunika intima, tunika media dan tunika adventitia. Tunika terdiri atas satu lapis sel endotel, yang ditopang oleh lapisan subendotel jaringan ikat longgar yang kadang-kadang mengandung sel otot polos (Juncqueira, 2003).

Tunika intima atau disebut juga dengan tunika interna terdiri atas selapis sel endotel yang membatasi permukaan dalam pembuluh. Di bawah endotel adalah lapisan subendotel, terdiri atas jaringan penyambung halus yang kadang-kadang mengandung sel otot polos yang berperan untuk kontraksi pembuluh darah. Tunika media terdiri dari sel-sel otot polos yang tersusun melingkar atau disebut sirkuler. Pada arteri, tunika media dipisahkan dari tunika intima oleh suatu membrana elastik interna. Membran ini terdiri atas elastin, biasanya berlubang-lubang sehingga zat-zat dapat berdifusi melalui lubang-lubang yang terdapat dalam membran dan memberi makan pada sel-sel yang terletak jauh di dalam dinding pembuluh. Tunika adventitia terdiri dari jaringan ikat serta serat kolagen dan elastis. Serat ini memungkinkan arteri dan vena untuk meregangkan untuk mencegah overexpansion karena tekanan yang diberikan pada dinding oleh aliran darah (Faller, 2004).

Lesi aterosklerotik berkembang pada lapisan dalam endotel atau yang disebut tunika intima dari aorta, yang merupakan arteri elastik besar, arteri karotis dan arteri yang mensuplai eksterimitas bawah dan arteri muskular sedang. Ketika lahir intima hanya terdiri dari sel endotel, tetapi segera setelah kelahiran, terjadi penebalan intima yang berisi sel otot polos, jaringan ikat dan makrofag. (Matthys, 1997).

Lesi pembuluh darah yaitu berupa kehilangan sel endotel akut atau lesi disfungsi sel endotel kronis, merangsang pertumbuhan sel otot polos dengan mengganggu keseimbangan faal antara inhibisi dan stimulasi pertumbuhan sel otot polos. Pemulihan dinding vaskular yang cedera mencerminkan suatu respon penyembuhan fisiologik dengan pembentukan intima baru yang sel otot polosnya bermigrasi dari tunika media ke tunika intima, bermultiplikasi sebagai

sel otot polos intima, dan membentuk serta mengeluarkan matriks ekstrasel. Selama respon penyembuhan, sel otot polos mengalami perubahan yang mirip dengan dediferensiasi. Di intima, sel otot polos intima kehilangan kemampuan berkontraksi dan memperoleh kemampuan membelah diri. Sel otot polos intima dapat kembali ke keadaan nonproliferatif apabila lapisan endotel di atasnya telah kembali terbentuk setelah cedera akut atau rangsangan kronis berhenti. Namun respons penyembuhan yang berlebihan menyebabkan penebalan intima yang dapat mempersempit atau menyumbat pembuluh darah ukuran kecil atau sedang. (Kumar *et al*, 2007).

2.1.2 Aterogenesis

Diet tinggi aterogenik menyebabkan keadaan hiperkolesterolemia, dimana keadaan ini meningkatkan kadar LDL dalam darah. Peningkatan LDL yang terus menerus dalam darah menyebabkan reseptor LDL dihepar tidak cukup berikatan dengan LDL dan terbentuklah *small dense* LDL. *Small dense* LDL masuk ke lapisan intima akan mudah teroksidasi dan mengubah *small dense* LDL menjadi LDL teroksidasi. Stres oksidatif merupakan pemicu LDL untuk teroksidasi (ox-LDL) (Hess, 2012).

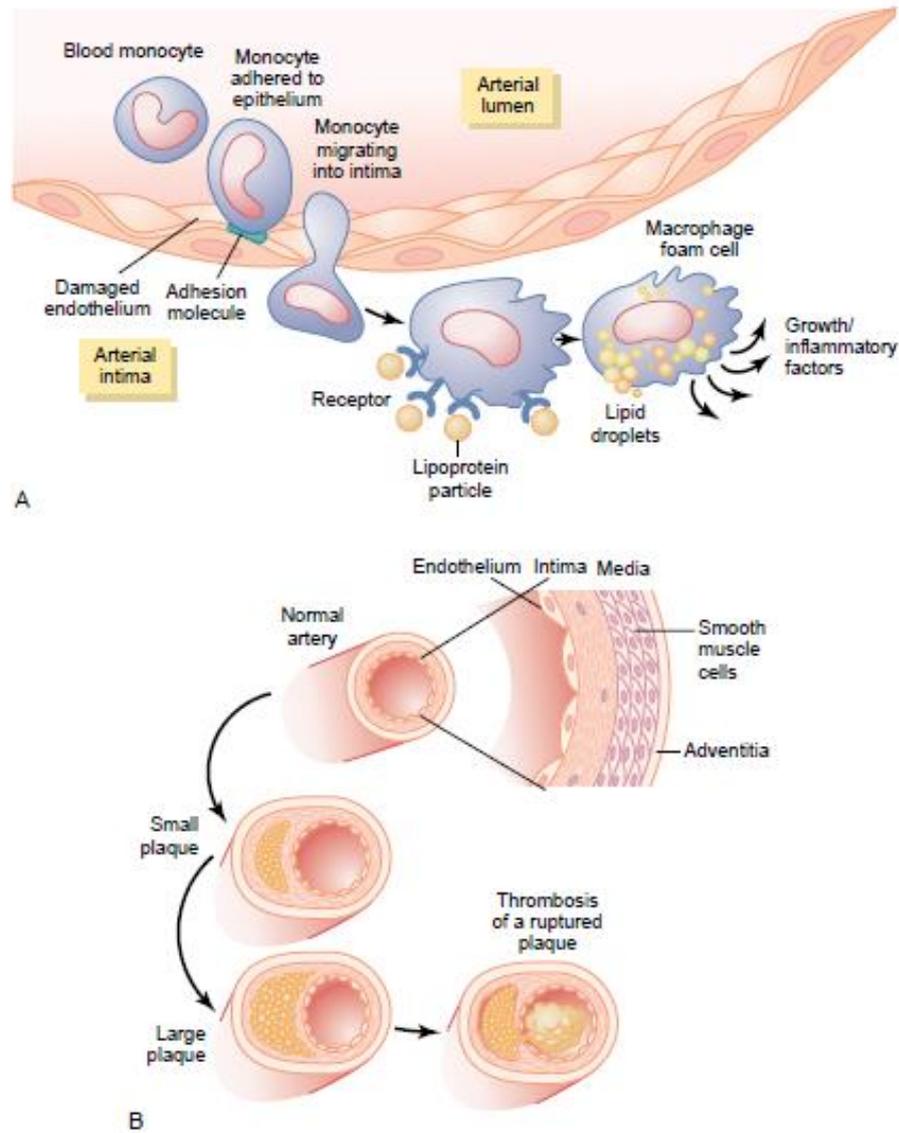
Oksidasi LDL pada dinding pembuluh darah disebabkan oleh radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS). LDL teroksidasi menstimulasi sel pro-Inflamasi dan makrofag, yang mengakibatkan cedera endotel. Keadaan hiperkolesterolemia selain menyebabkan peningkatan LDL dalam darah juga menstimulasi produksi anion superoksida (O_2^-) dari sel otot polos pembuluh darah (Vogiatzi *et al.*, 2009; Hess, 2012).

Akibat cedera, integritas sel endotel terganggu dan permeabilitas sel-sel endotel terhadap berbagai bahan didalam plasma meningkat sehingga bahan-bahan tersebut memiliki akses kedalam arteri (Corwin, 2000 ; Hess, 2012). Cedera endotel yang terjadi juga dapat mengakibatkan disfungsi endotel, dimana kemampuan sel endotel untuk memproduksi EDRF akan berkurang atau terganggu. Produk EDRF adalah Nitrit Oksida (NO) yang berfungsi mempertahankan homeostasis pembuluh darah (Kawashima & Yokoyama, 2004). ROS menurunkan produksi dan bioavalibilitas NO yang dapat menyebabkan vasokonstriksi, agregasi platelet dan adhesi neutrofil ke endotel (Vogiatzi et al.,2009)

Lipid yang sebagian besar merupakan LDL dan monosit mulai menumpuk diendotel yang mengalami kerusakan. Monosit melalui endotel, memasuki lapisan intima dinding pembuluh, dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang selanjutnya mencerna dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein, sehingga penampilan makrofag menyerupai sel busa. Sel busa makrofag atau disebut *foam cell* ini kemudian bersatu pada pembuluh darah dan membentuk *fatty streak* . Dengan berjalannya waktu, *fatty streak* menjadi lebih besar dan bersatu, selain itu banyak produk peradangan yaitu makrofag yang merangsang proliferasi sel otot polos melalui pelepasan zat yang menimbulkan inflamasi dan proliferasi lebih lanjut sehingga sel-sel otot polos berproliferasi kedalam tunika intima yang dapat membentuk plak. Penimbunan LDL ditambah proliferasi sel dapat menjadi sangat besar sehingga plak menonjol ke dalam lumen arteri dan menyebabkan gangguan aliran darah, yang dapat menyumbat seluruh pembuluh darah. Bahkan tanpa penyumbatan fibroblas plak akhirnya

menimbun sejumlah besar jaringan ikat padat (sklerosis), menjadi sangat besar dan arteri menjadi kaku dan tidak lentur. Arteri yang mengalami arterosklerosis kehilangan sebagian besar distensibilitasnya dan karena daerah di dinding pembuluh darahnya berdegenerasi, pembuluh darah menjadi mudah robek. Pada tempat penonjolan plak kedalam aliran darah, permukaan plak yang kasar dapat menyebabkan terbentuknya bekuan darah, dengan akibat pembentukan trombus atau embolus sehingga dapat menyumbat semua aliran darah didalam arteri dengan tiba-tiba (Guyton & Hall, 2006).





Gambar 2.1 Perkembangan Plak Aterosklerotik (Guyton & Hall, 2006)

2.1.3 Penyebab Aterosklerosis

Terdapat beberapa penyebab mengenai apa yang pertama kali menyebabkan kerusakan sel-sel endotel dan mencetuskan rangkaian proses aterogenesis diatas. Dapat dikatakan bahwa beberapa proses pencetus yang terlibat adalah berlainan, dengan derajat yang berbeda-

beda, pada orang yang berbeda pula. Menurut Corwin (2000), penyebab aterosklerosis antara lain kolesterol serum darah yang tinggi, tekanan darah tinggi kronis, infeksi virus dan kadar besi yang tinggi dalam darah.

Kolesterol serum yang tinggi menandakan kadar kolesterol serum dan trigliserida yang tinggi, dapat menyebabkan pembentukan aterosklerosis. Pada pengidap aterosklerosis, pengendapan lemak yang disebut *foam cell*, ditemukan di seluruh kedalaman tunika intima, meluas kedalam tunika media. Kolesterol dan trigliserida dibawa di dalam darah terbungkus dalam protein pengangkut lemak yang disebut lipoprotein. Lipoprotein berdensitas tinggi (*high-density lipoprotein*, HDL) membawa lemak keluar untuk diuraikan, dan diketahui bersifat protektif melawan aterosklerosis. Tetapi, lipoprotein berdensitas rendah (*low-density lipoprotein*, LDL) dan lipoprotein berdensitas sangat rendah (*very-low density lipoprotein*, VLDL) membawa lemak ke sel tubuh, termasuk sel endotel arteri. Lipoprotein merembes kedalam sel akibatnya kolesterol dan trigliserida dilepaskan didalam sel. Di dinding arteri, oksidasi kolesterol dan trigliserida menyebabkan pembentukan radikal-radikal bebas yang diketahui merusak sel-sel endotel. (Corwin, 2000)

Tekanan darah yang tinggi secara kronis menimbulkan gaya regang atau gaya potong yang merobek lapisan endotel arteri dan arteriol. Gaya regang terutama timbul ditempat-tempat arteri bercabang (*bifurkasi*) atau percabangan, yang merupakan ciri dari arteri koroner, aorta dan arteri-arteri serebrum. Dengan robeknya lapisan endotel, maka timbul kerusakan yang berulang-ulang sehingga terjadi siklus peradangan, penimbunan sel darah putih dan trombosit. Serta pembentukan bekuan. Setiap thrombus yang

terbentuk dapat terlepas dari arteri sehingga terjadi embolus dibagian distal.

(Corwin, 2000)

Infeksi virus dapat mencetuskan suatu siklus peradangan. Sel-sel darah putih dan trombosit datang ke daerah tersebut dan terbentuklah bekuan dan jaringan parut. Virus spesifik yang diketahui berperan dalam peradangan ini ialah sitomegalovirus, anggota dari family virus herpes. (Corwin, 2000).

Aterosklerosis pada arteri koroner dapat terjadi ketika kadar besi serum darah tinggi. Kadar besi di serum darah yang tinggi dapat merusak arteri koroner melalui mekanisme pembentukan radikal bebas didalam darah yang dapat merusak dinding pembuluh. (Guyton & Hall, 2006). Kadar besi pada serum darah ini berkaitan juga dengan perbedaan mencolok dalam insiden arteri penyakit koroner antara pria dan wanita pra-menopause. Pria biasanya memiliki kadar besi yang lebih tinggi daripada wanita yang mengalami menstruasi. (Corwin, 2000)

2.1.4 Faktor risiko Aterosklerosis

Pembentukan Aterosklerosis dipengaruhi oleh faktor risiko, yaitu sesuatu yang meningkatkan peluang seseorang untuk menjadi sakit dan atau menambah progresifitas penyakit (William, 1999). Pada aterosklerosis, faktor risiko yang ada dibedakan menjadi faktor risiko yang dapat dimodifikasi yaitu dapat diubah yaitu faktor risiko ini dapat dikurangi dalam progresifitas penyakit seperti dikontrol, diterapi atau dimodifikasi agar tidak mencetuskan dan memperburuk penyakit, dan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi yaitu faktor risiko sudah dimiliki seseorang tersebut dan tidak dapat diubah. (WHO,2011)

Faktor risiko yang dapat dimodifikasi antara lain diet tinggi lemak, tingginya kadar kolesterol (hiperkolesterolemia), kegemukan (obesitas), tekanan darah tinggi (hipertensi), peningkatan gula darah (diabetes), dan kurangnya aktivitas fisik, dan faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi antara lain usia, jenis kelamin dan riwayat keluarga (WHO, 2011; Guyton & Hall 2006).

Hipertensi menempati urutan pertama penyebab penyakit kardiovaskular sebanyak 13%, diikuti dengan penggunaan tembakau 9 %, Peningkatan gula darah 6 %, kurangnya aktivitas fisik 6% dan obesitas 5%. (WHO,2011). Menurut *The Seventh Report of Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment for High Blood Pressure (JNC-7)*, normotensi atau tekanan darah normal memiliki kadar 120 mmHg sistolik dan di bawah 80 mmHg diastolik. Tekanan darah sistolik di antara 120 dan 139 mmHg dan tekanan darah diastolik di antara 80 dan 89 mmHg disebut prehipertensi dan harus melakukan modifikasi gaya hidup untuk mencegah penyakit kardiovaskular. Pada hipertensi, stres dan renin angiotensin aldosteron sistem (RAAS) memicu terjadinya aterosklerosis. Stres mekanik mengenai jantung dan pembuluh darah. Jantung mengalami peningkatan beban kerja karena harus memompa melawan resistensi perifer yang meningkat, sementara dinding pembuluh darah akan melemah akibat proses degeneratif aterosklerosis. (Masao *et al.*, 1997)

Faktor risiko merokok semakin besar menjadi penyakit kardiovaskular jika perokok ialah wanita, merokok semenjak usia muda dan perokok berat. Kandungan dari rokok yaitu nikotin meningkatkan denyut jantung dan tekanan darah sehingga membuat jantung bekerja lebih keras.

(Teo, 2006). Baik wanita dan laki-laki yang menderita diabetes, memiliki peningkatan ratio penyakit kardiovaskular, hiperglikemia berhubungan dengan fungsi endotel mikrovaskular yang terganggu (Farkouh, 2011) . Dikatakan memiliki aktifitas fisik yang cukup jika sekurang-kurangnya melakukan lima kali atau lebih aktifitas fisik dalam intensitas sedang selama 30 menit dalam satu minggu. Aktifitas fisik mempertahankan kesehatan vaskuler otak dengan menurunkan tekanan darah, meningkatkan profil lipoprotein, dan memicu produksi NO oleh endotel (WHO,2011).

Asupan diet tinggi lemak tersaturasi, lemak trans dan garam, dan rendahnya asupan buah, sayur dan ikan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular (WHO, 2011). Hiperkolesterolemia menyebabkan aterosklerosis melalui komponen lipid yang merusak endotel, sehingga endotel menjadi disfungsi, khususnya LDL (Low density Lipoprotein) . Obesitas berhubungan kuat dengan faktor risiko penyakit kardiovaskuler, sebanding dengan hipertensi, diabetes dan hiperkolesterolemia (WHO,2011).

Risiko Penyakit kardiovaskular meningkat seiring pertambahan usia, dengan bertambahnya usia, jantung akan mengalami perubahan fisiologis walaupun tidak adanya penyakit. Pria memiliki risiko lebih tinggi daripada wanita premenopause, tetapi ketika menopause, tingkat risiko wanita dan pria sama tingginya terhadap penyakit kardiovaskuler. Hal ini dikarenakan perbedaan hormon seks yang dimiliki oleh wanita yang bersifat protektif terhadap penyakit kardiovaskular sedangkan hormon seks pada pria bersifat aterogenik. Termasuk risiko stroke, antara laki-laki dan wanita sama. Adanya Riwayat keluarga yang menderita penyakit kardiovaskuler

mengindikasikan seseorang untuk menderita penyakit yang sama, jika terdapat keluarga wanita sebelum usia 65 tahun dengan penyakit kardiovaskuler, dan pria sebelum usia 55 tahun, risiko untuk terkena penyakit kardiovaskuler lebih tinggi (WHO,2011).

2.1.5 Manifestasi Penyakit dari Aterosklerosis

Aterosklerosis memiliki bermacam-macam manifestasi penyakit pada sistem kardiovaskular serta dengan faktor risiko yang berbeda sesuai dengan manifestasi yang ditimbulkan. Efek dari Aterosklerosis tergantung pada derajat stenosis, lamanya perkembangan lesi stenosis yang sudah ada, munculnya kolateral-pembuluh darah yang memenuhi kebutuhan organ yang terdapat stenosis, dan tuntutan kebutuhan jaringan (Cullen, 2005).

Aterosklerosis dapat bermanifestasi sebagai *Coronary Heart Disease* seperti *stable angina*, *unstable angina*, *myocard infarct*, *heart failure*, *Arrythmia*, dan *Sudden Death*. *Cerebrovascular disease* (CVD) seperti stroke dan TIA (*Transient Ischemic Attack*), dan *Peripheral arterial disease* (PAD) seperti *intermittent claudicatio*, dan *critical limb ischemia*. Patogenesis dari berbagai manifestasi ini hampir sama hanya berbeda pada organ yang terkena (Cullen, 2005; Burke *et al.*, 2001).

2.1.6 Pengobatan Aterosklerosis

Terapi aterosklerosis yang ada saat ini yang digunakan dimasyarakat dapat berupa pencegahan sebelum terdiagnosa penyakit yang disebabkan oleh aterosklerosis maupun pengobatan setelah terdiagnosa. Pengobatan

setelah terdiagnosa menderita penyakit kardiovaskuler yang disebabkan oleh aterosklerosis salah satunya pada keadaan hiperkolesterolemia adalah golongan statin yang secara kompetitif menghambat *hidroksi-metilglutaril-koenzim A (HMG-KoA) reduktase*, yang merupakan pembatas kecepatan sintesis kolesterol (Guyton & Hall, 2006).

Pencegahan sebelum terdiagnosa dapat dilakukan dengan cara mengontrol faktor risiko agar tidak menjadi penyakit, diantaranya melalui pencegahan optimal jangka panjang terutama adalah mempertahankan berat badan ideal, aktif beraktivitas fisik, mengonsumsi diet terutama yang mengandung lemak tak jenuh dengan kolesterol rendah, mencegah hipertensi dengan mempertahankan diet yang sehat dan aktif beraktivitas fisik, atau mengontrol darah secara efektif dengan obat-obatan antihipertensi bila sudah terdiagnosa menderita hipertensi, mengontrol kadar glukosa darah secara efektif dengan insulin atau obat-obatan lainnya dan menghindari merokok (Guyton & Hall, 2006). Pencegahan jangka panjang dibutuhkan karena penyakit ini juga bersifat kronis dan progresif. Intervensi terhadap faktor risiko yang agresif juga diperlukan, seperti pengurangan kolesterol serta penurunan tekanan darah, manajemen dari glukosa darah, serta penurunan berat badan (Robinson, Jennifer, *et al* , 2009).

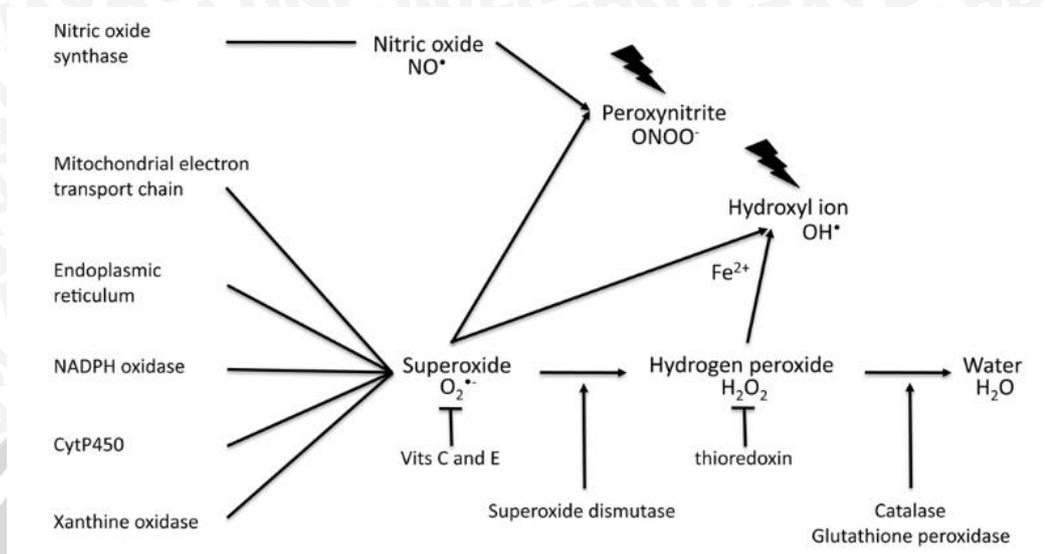
2.2 Stres oksidatif pada Aterosklerosis

Selama berjalannya metabolisme, terjadi pembentukan beberapa oksidan kuat, baik di sel darah maupun di kebanyakan sel lain tubuh. Oksidan ini mencakup superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil

(ROO*) dan radikal hidroksil (OH*). Berbagai oksidan ini disebut sebagai spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS) (Murray, K *et al*, 2009).

Stres oksidatif ialah perubahan keseimbangan antara pro-oksidan dan antioksidan yang berpotensi memicu kerusakan, bergantung pada bagian kompartemen seluler dimana spesies oksigen reaktif (ROS) dihasilkan. Gangguan keseimbangan pro-oksidan dan antioksidan memiliki dua mekanisme, pertama gangguan perubahan keseimbangan antara kadar pro-oksidan dan kadar antioksidan salah satu contohnya pada keadaan patologis yaitu kadar ROS yang tinggi sedangkan kadar antioksidan yang rendah, dan yang kedua berdasarkan perubahan homeostatik ROS. Radikal bebas didefinisikan sebagai spesies yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, dan mudah bereaksi. Radikal bebas dihasilkan oleh berbagai elemen, tetapi yang paling utama ialah radikal bebas yang melibatkan oksigen dan nitrogen (Graham *et al.*, 1993).

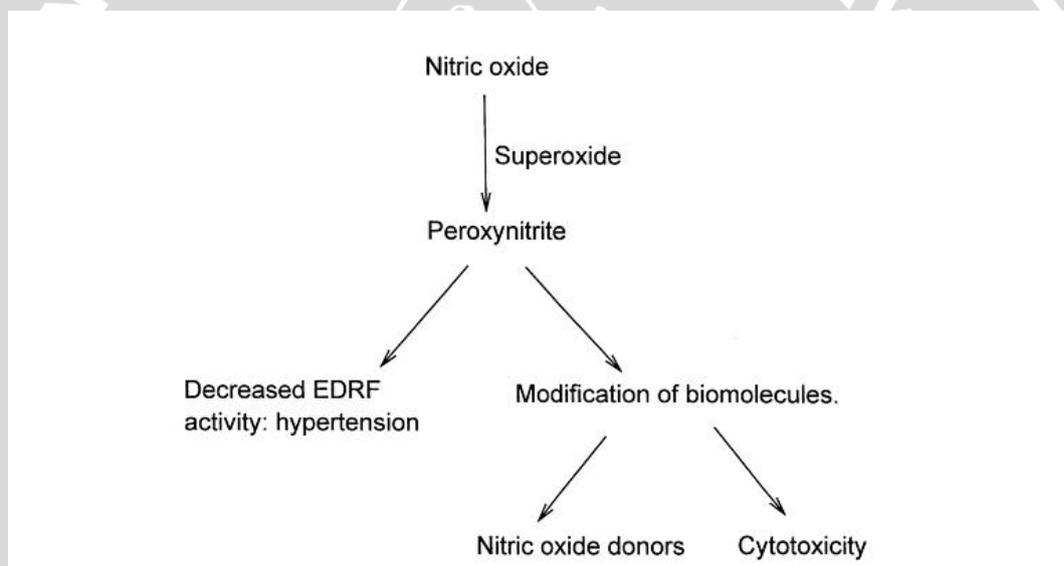
Pada keadaan fisiologis, radikal bebas oksigen yang paling utama ialah superoksida (O_2^-), dan mitokondria sebagai sumber utamanya. Selain mitokondria sumber utama O_2^- ialah *enzymes nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) *oxidase*, cytochrom P450, xanthine oksidase, retikulum endoplasma dan oksido-reductase lainnya Superoksida didetoksifikasi oleh enzim superoksida dismutase yang mengubah superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). (Kelm, 1999)



Gambar 2.2 Spesies oksigen reaktif utama, asal dan jalur detoksifikasinya (Graham *et al.*, 1993)

Pada penelitian ini, radikal bebas atau senyawa nitrogen reaktif yang dibahas dan diukur kadarnya dalam serum ialah Nitrit oksida (NO). Dalam keadaan fisiologis NO memiliki fungsi meregulasi tonus vaskuler, dan memiliki peran utama sebagai vasorelaksan. Tetapi pada keadaan patologis, NO bersifat toksik tidak hanya karena dipengaruhi tingginya kadar NO, tetapi juga spesies oksidan lain yang bereaksi terhadap NO. Tingginya produksi NO menyebabkan NO mudah bereaksi terhadap spesies lain seperti oksigen (O_2), superoksida ($O_2^{\cdot-}$), yang akan memproduksi perioksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$). NO dapat mengalami mekanisme reaksi oksidasi ataupun reduksi satu elektron menjadi kation nitrosonium (NO^+), dan anion nitroksil ($NO^{\cdot-}$), keduanya mengalami reaksi oksidasi reduksi termasuk pemutusan dengan radikal lainnya, membentuk nitrogen dioksida (NO_2), dan dinitrogen trioksida (N_2O_3). Anion nitroksil ($NO^{\cdot-}$), perioksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$), dan nitrogen dioksida (NO_2), merupakan

reactive nitrogen species (RNS), yang dapat berinteraksi dengan lipid, melalui mekanisme menghambat atau menginisiasi oksidasi serta membentuk nitrat pada lipid, walaupun masih belum jelas sepenuhnya mekanisme tersebut meningkatkan oksidasi atau nitrasinya. Pada Gambar 2.3 menjelaskan bahwa reaksi RNS mempunyai efek patologis yang penting, contohnya reaksi antara NO dengan O_2^- membentuk $ONOO^-$ akan menyebabkan penurunan efektifitas vasorelaksan dari NO, yang akan menyebabkan kekakuan vaskuler yang merupakan risiko terjadinya aterosklerosis (Kelm, 1999).

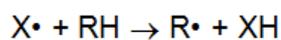


Gambar 2.3 Patofisiologi Nitrit Oksida (NO) dan spesies yang berhubungan (Eiserich *et al.*, 1999)

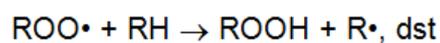
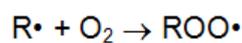
Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus menerus dan peroksidasi lebih lanjut. Peroksidasi atau disebut dengan auto oksidasi dapat menjadi penyebab kanker, penyakit peradangan, aterosklerosis dan penuaan. Efek merugikan diperkirakan

disebabkan oleh radikal bebas (ROO^* , RO^* , OH^*) yang dihasilkan sewaktu terbentuknya peroksida dari asam lemak yang mengandung ikatan rangkap yang diselingi metylen, radikal bebas asam lemak yang terdapat pada asam lemak tidak jenuh ganda alami. Reaksi keseluruhan peroksidasi lipid terbagi atas tiga stase, yaitu stase inisiasi, stase propagasi dan stase terminasi.

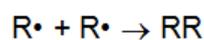
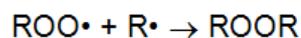
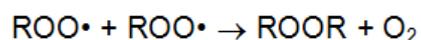
1) Inisiasi



2) Propagasi



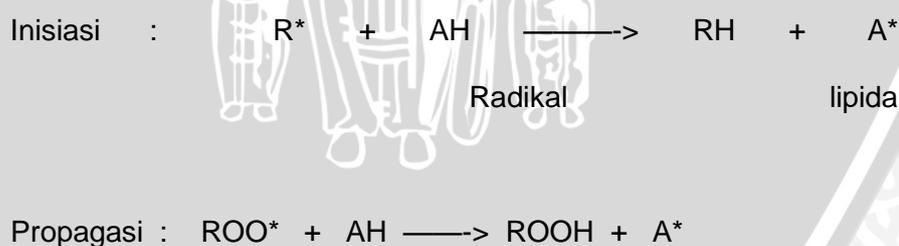
3) Terminasi



Gambar 2.4 Stase dari peroksidasi lipid (Murray, *et al*, 2009).

Karena prekursor molekular untuk proses inisiasi umumnya adalah produk hidrosiperoksida ROOH, peroksidasi lipid adalah suatu yang merugikan. Untuk mengendalikan dan mengurangi peroksidasi lipid, baik manusia dalam aktifitasnya maupun alam menggunakan antioksidan. Untuk mencegah terjadinya stres oksidatif dapat dilakukan dengan menjaga keseimbangan kadar pro-oksidan dan antioksidan. Dalam peroksidasi lipid, antioksidan memiliki dua fungsi berdasarkan mekanisme kerjanya. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom

hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R*, ROO*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. (Gordon, 1990). Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi . Radikal-radikal antioksidan (A*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).



Gambar 2.5 : Reaksi inisiasi dan propagasi antioksidan pada lipid
(Graham, *et al.*, 1993)

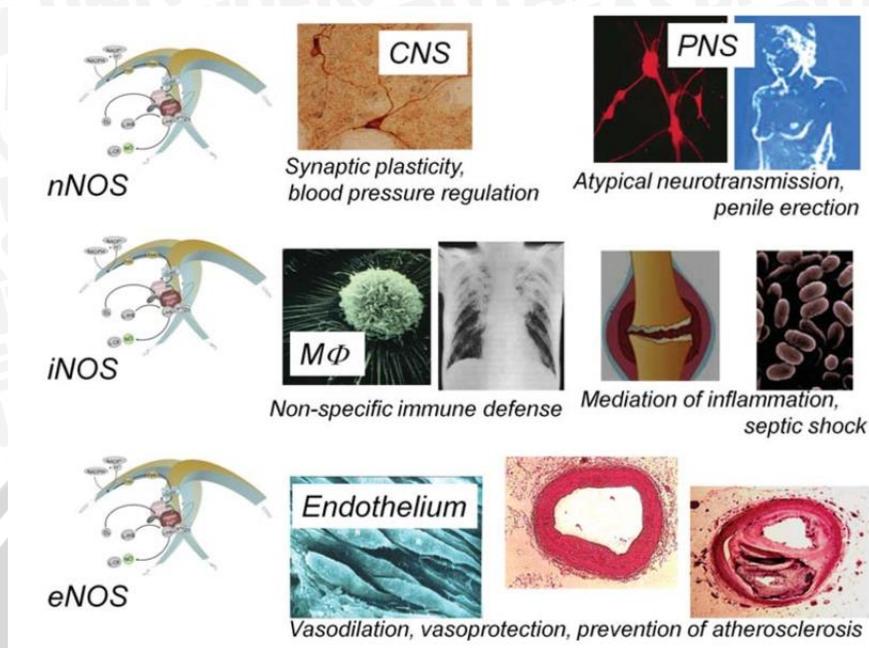
2.3 NITRIT OKSIDA (NO)

2.3.1 NO didalam Tubuh

NO atau nitrogen oksida juga diketahui sebagai nitrogen monoksida, ialah suatu molekul dengan formula kimia (NO^\cdot). NO merupakan radikal bebas dan penting pada industri kimia. Pada mamalia termasuk manusia, NO penting sebagai sinyal molekul interseluler pada proses fisiologis maupun patologis. NO berwujud gas dan merupakan faktor pelepas yang berasal dari endotel (*endothelium-derived relaxing factor*) yang berdifusi ke otot polos sekitar. NO berfungsi fisiologis sebagai vasodilator kuat dengan mempunyai waktu paruh yang sedikit di darah sekitar 3-4 detik dikarenakan NO dapat bereaksi dengan oksigen dan superoksida. Kadar produksi NO yang rendah sangat penting sebagai perlindungan organ contohnya liver dari kerusakan iskemik. (Elizabeth, 1992 ; Murray, *et al*, 2009).

2.3.2 Sintesis NO

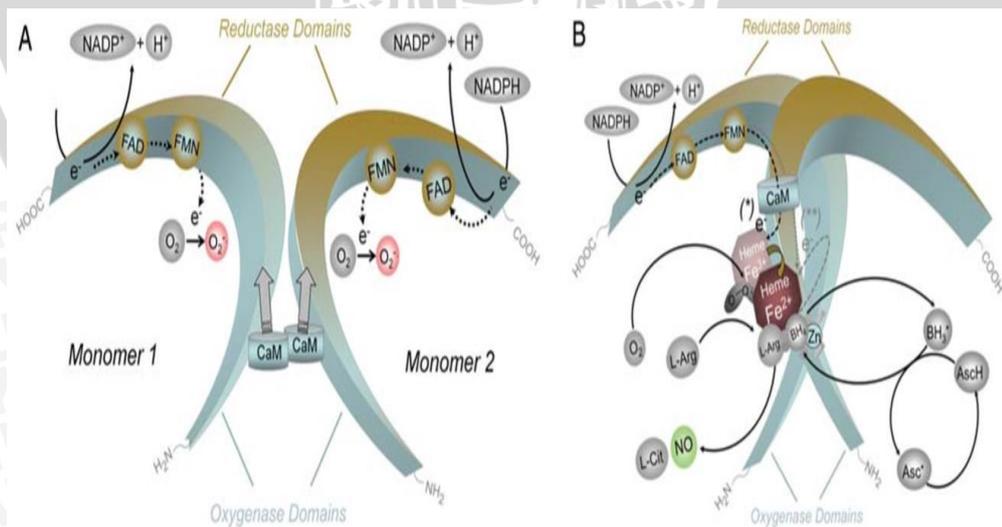
NOS memiliki tiga isoform NOS yaitu NOS1, neuronal (nNOS), NOS 2, nama lainnya adalah iNOS atau penginduksi, NOS3 dengan nama lain endotelial (eNOS) (Gambar 2.6). NOS1 dan NOS3 adalah protein tergantung Ca^{2+} dan secara konstitutif diproduksi, berbeda dengan NOS2 yang ekspresinya inducible. Produk NO dari kerja NOS1 dan NOS3 sangat kecil, berkisar pada konsentrasi piko sampai nanomolar. Sedangkan pada iNOS bisa mencapai mikromolar. NO dibuat dari L-arginin dan oksigen dengan melibatkan enzim NOS menjadi L-sitrulin dan NO (Lechne, *et al.*, 2005).



Gambar 2.6 Tiga jenis isoforms NOS dan fungsinya (Huige, 2011)

Sintesis NO (meliputi ketiga isoformnya), menggunakan substrat L-arginin dan oksigen molekular NADPH sebagai ko-substrat, dan FAD, FMN, BH_4 sebagai kofaktor dari semua isoenzim. Semua protein NOS berbentuk homodimer (Huige, 2011) dengan subunit yang serupa. Terdapat tiga *domain* setiap subunit NOS yaitu *domain reductase*, *calmodulin binding-domain*, dan *domain oksigenase* (Li, 2005). Setiap *domain* memiliki fungsi masing-masing. Pada *domain reductase* berisi FAD, dan FMN yang berfungsi untuk transfer elektron dari NADPH ke *domain oksigenase* pada subunit berlawanan pada dimer, dan bukan untuk *domain* pada subunit yang sama. *Calmodulin binding domain* dibutuhkan untuk aktifitas dari semua isoform NOS, yang menghubungkan NO dengan homeostasis Ca^{2+} . *Domain oksigenase* berisi ikatan untuk BH_4 , heme dan arginin. *Domain oksigenase* katalase mengubah arginin menjadi citrulin dan NO (Ehab, et al., 2012).

NOS berfungsi mentransfer elektron dari NADPH melalui FAD dan FMN pada daerah terminal karboksi katalase ke heme pada daerah terminal amino oksigenase. Daerah oksigenase juga berikatan dengan kofaktor BH_4 dan oksigen molekuler dan substrat L-arginin. Pada sisi heme, elektron digunakan untuk mereduksi dan aktifasi O_2 dan mengoksidasi L-arginin menjadi citrulin dan NO. Urutan lokasi didekat ligan sistein dari heme juga terlibat pada ikatan L-arginin dan BH_4 . Pada sintesis NO enzim NOS dibagi menjadi dua tahap. Pertama, NOS menghidroksilasi L-arginin menjadi $N\omega$ -hidroksi L-arginin. Kedua NOS mengoksidasi $N\omega$ -hidroksi L arginin menjadi citrulin dan NO. Semua isoform NOS berikatan dengan kalmodulin. Pada eNOS dan nNOS ikatan kalmodulin disebabkan oleh peningkatan intraceluler Ca^{2+} . Ketika aktifitas kalmodulin ke NOS meningkat, akan memfasilitasi aliran elektron dari NADPH ke daerah reduktase ke heme didaerah oksigenase. Pada iNOS, kalmodulin telah berikatan sangat lemah pada Intraseluler Ca^{2+} (Huige, 2011)



Gambar 2.7 Struktur dan katalisis mekanisme fungsional NOS (Huige, 2012)

NOS monomer dapat mentransfer elektron dari NADPH ke FAD dan FMN dan mempunyai kapasitas terbatas untuk mereduksi oksigen molekular menjadi O_2^- (Stuehr, 2001; Klatt, 1996; Kotsonis, 2000). Monomer dan *domain reductase* dapat berikatan dengan kalmodulin (CaM). Monomer NOS tidak dapat berikatan dengan kofaktor BH_4 atau substrat L-arginin dan tidak dapat memproduksi NO katalase. Heme antar domain menerima transfer elektron dari flavin dari monomer yang berlawanan. Berdasarkan perbedaan *calmodulin binding domain*, peningkatan Ca^{2+} dibutuhkan untuk ikatan pada nNOS dan eNOS. Ketika substrat L-arginin dan kofaktor BH_4 kadarnya cukup NOS dimer berpasangan pada heme dan mereduksi oksigen untuk sintesis NO. (Huige, 2011)

2.3.3 Fungsi Fisiologis NO

NO melalui eNOS memiliki fungsi yang berperan penting dalam perlindungan terhadap aterosclerosis baik pada fase awal maupun pada fase lanjut aterosclerosis. Fungsi Fisiologis NO antara lain sebagai vasodilator dan penghambat agregasi platelet, penghambat adhesi leukosit dan inflamasi vaskuler. Selain itu NO juga dapat mengontrol proliferasi otot polos divaskuler, menstimulasi angiogenesis oleh eNOS sintetase, dan aktivasi endotelial progenitor sel oleh eNOS (Huige, 2011).

Mekanisme NO sebagai EDRF sebagai vasodilator ketika aliran darah mikrovaskular meningkat diawali dengan sintesis EDRF yang tersusun dari NO oleh sel sel endotel yang melapisi arteriol dan arteri kecil. NO dapat mempengaruhi derajat kontraksi atau relaksasi dinding arteri. Aliran darah yang cepat melalui arteri akan menyebabkan *shear stress* pada sel-sel endotel

akibat tarikan viskositas darah (*viscous drag*) terhadap dinding vaskuler. Stres ini akan mengubah bentuk sel-sel endotel sesuai arah aliran dan menyebabkan peningkatan pelepasan NO yang bermakna. NO kemudian akan merelaksasikan pembuluh darah (Guyton & Hall, 2006). Mekanisme spesifik NO sebagai vasodilator yang distimulasi *Guanyl Cyclase* sebagai berikut. Pada prinsipnya relaksasi otot polos dipengaruhi oleh penurunan Ca^{2+} sebagai akibat dari pelepasannya kembali ke dalam retikulum sarkoplasma oleh Ca^{2+} ATPase. NO berperan sebagai vasodilator dan penghambat agregasi platelet memiliki mekanisme terhadap cGMP dan Ca^{2+} . eNOS memicu vasodilatasi dengan distimulasi oleh *Guanyl cyclase* dan meningkatkan cyclic GMP disel otot polos (Huige, 2011). Konstriksi dan dilatasi dari pembuluh darah merupakan respon dari kebutuhan lingkungan yang dikontrol oleh perubahan kadar Ca^{2+} di sitosol dalam sel otot polos pembuluh darah. Respon dari faktor mekanik atau agonis vasoaktif, vaskuler menjadi konstriksi dikarenakan peningkatan Ca^{2+} , baik melalui influx permeabilitas Ca^{2+} atau pelepasan Ca^{2+} dari retikulum sarkoplasma dari penyimpanan Ca^{2+} (Akata, 2007).

Selain sebagai vasodilator dan penghambat agregasi platelet, NO memiliki fungsi lain yaitu dapat menghambat adhesi leukosit dan inflamasi. Endotelial NO mengontrol ekspresi gen yang terlibat dalam aterosklerosis, salah satu ekspresi gen yang dapat dikontrol adalah Kemoatraktan protein (MCP-1) (Zeiher, 1995). Endotelial NO juga mampu menghambat adhesi leukosit ke dinding vaskuler. Ikatan leukosit CD 11 atau CD18 dengan permukaan sel endotel dihambat ikatannya melalui penekanan ekspresi CD 11 atau CD18 di leukosit. Penempelan leukosit merupakan fase awal dari berkembangnya aterosklerosis, dan oleh karena itu NO dapat mencegah

terjadinya aterogenesis difase awal. Gangguan Integritas dari pertahanan endotelial monolayer dapat memicu agen-agen proinflamasi. NO mencegah apoptosis sel endotel, yang diinduksi oleh sitokin proinflamasi dan faktor proaterosklerosis termasuk ROS (*reactive oxygen species*) Angiotensin II (AT). Penekanan apoptosis sel endotel ini merupakan fungsi NO sebagai antiinflamasi (Huige,2011).

Pada proses aterokslerosis makrofag dan sel T sebagai pertanda inflamasi melepaskan sitokin dan growth factor. Sitokin akan meningkatkan sintesis *Platelet Activating Factor* (PAF), dimana faktor tersebut berfungsi sebagai mediator dari agregasi dan degranulasi platelet, permeabilitas vaskuler, peningkatan oksidatif, kemotaksis dari leukosit, serta metabolisme asam arakidonat di fagosit (Albertini, 2008). Dalam hal ini NO menghambat proliferasi otot polos melalui perlindungan endotel dari paparan PAF dan efek antiproliferasi tersebut dimediasi oleh cGMP. Melalui fungsi ini, NO dapat dikatakan mencegah fase aterogenesis untuk berkembang lebih lanjut membentuk fibrous plak (Huige, 2011).

Stimulasi Angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru salah satu fungsi dari NO melalui eNOS, terutama terhadap keadaan aterosklerosis tingkat lanjut seperti post infark (Murohara,1998 ; Huige, 2011). Aktifasi *endotelial progenitor cell* (EPC) oleh eNOS, pada defisiensi eNOS, mobilisasi EPC dari sumsum tulang terganggu (Aicher, 2003 ; Huige, 2011), sehingga pembentukan sel endotel terganggu , baik pada pembentukan kolateral pada post iskemik maupun pada pembentukan vaskuler yang baru.

2.4 Mekanisme diet Aterogenik terhadap NO

2.4.1 Diet aterogenik mempengaruhi NO melalui kofaktor dari eNOS

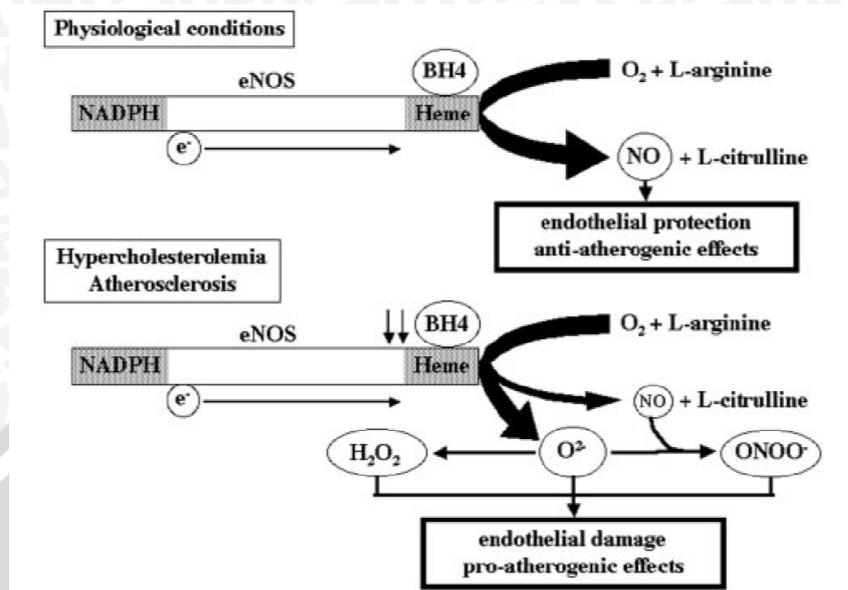
eNOS merupakan anggota dari cytochrome P450 enzim. Kofaktornya terdiri dari *Flavin adenine diclonucleotida (FAD)*, *Flavin mononucleotide (FMN)* dan *tetrahidrobiopterin (BH₄)*, ketiganya memiliki peranan dalam pergeseran electron dari substrat NADPH ke kompleks Heme pada tempat aktif enzim. Kofaktor enzim yang paling utama bereperan ialah *BH₄* (Andrea, 2010). Diet aterogenik yang menyebabkan hiperkolesterolemia mereduksi bioavalibilitas NO pada vaskuler. Hal ini menyebabkan gangguan pada enzim eNOS dan mengurangi aktivitas dari eNOS. Gangguan pada enzim eNOS, yang mengakibatkan eNOS menjadi tidak berpasangan, dapat mereduksi produksi dari NO, dan meningkatkan stres oksidatif yang sangat berperan dalam proses aterosklerosis (Huige, 2013).

NO sebagai oksidan poten diproduksi oleh sel endotel (eNOS) dan makrofag (iNOS) dapat bersifat sebagai pelindung aterogenik maupun agen proaterogenik, tergantung dari sumber produksinya. NO diproduksi eNOS memiliki fungsi sebagai vasodilator dan bersifat sebagai pelindung pembuluh darah. Berbeda jika NO diproduksi oleh iNOS melalui kapasitasnya yang sangat tinggi oleh makrofag, NO akan bersifat sebagai agen proaterogenik (Masato *et al.*, 2014).

Defisiensi eNOS menunjukkan peningkatan pembentukan lesi aterosklerotik pada tikus. Sebagai perbandingan, ekspresi berlebih dari eNOS pada hiperkolesterolemia dapat meningkatkan pembentukan aterogenik melalui peningkatan superoksida dari terganggunya eNOS. (Masato *et al.*, 2014).

Diet Aterogenik mempengaruhi NO melalui kofaktor eNOS antara lain melalui disfungsi BH_4 sebagai kofaktor eNOS dan oksidasi NADPH sebagai sumber stres oksidatif pada endotel (Huige, 2013).

Aterosklerosis berhubungan dengan gangguan dari fungsi relaksasi endotel yang dapat menyebabkan penurunan bioavailabilitas dari NO yang diproduksi dari sintetase NO sel endotelial (eNOS). Diantara macam-macam mekanisme yang melibatkan gangguan dari EDRF (*Endotelium derived relaxing factor*) pada aterosklerosis, Superoksida dihasilkan dari disfungsi eNOS. Dalam kondisi dimana tingkat jaringan pembuluh darah dari tetrahydrobiopterin (BH_4) kofaktor untuk eNOS, berkurang, sintetase NO (eNOS) menjadi terganggu dan justru menghasilkan superoksida bukan NO. Prosesnya antara lain BH_4 disintesis dari guanosa trifosfat (GTP) dengan GTP cyclohidrolase I (GTPCH1). Pada kondisi stres oksidatif, dengan peningkatan LDL, superoksida dengan mudah mengoksidasi BH_4 menjadi BH_2 melalui enzim dihydrofolat reduktase (DHFR). Defisiensi dari BH_4 menjadi BH_2 dikarenakan meningkatnya oksidasi BH_4 akibat oksidatif stres Defisiensi BH_4 mengakibatkan eNOS menjadi tidak berpasangan dan produksi NO terganggu dan terkonversi menjadi perioksinitrit (Huige, 2013).



Gambar 2.8 Perbandingan pada keadaan fisiologis dan hiperkolesterolemia pada penurunan kadar BH₄ (Kawashima & Yokoyama, 2004)

Oksidasi LDL (Ox-LDL) dapat mengaktifasi NADPH oksidase dan Xanthin Oksidase yang dapat menginduksi oksidatif stres. NADPH oksidase menghasilkan superoksida (O₂⁻) dengan mentransfer elektron dari NADPH dalam sel melintasi membran dan kopling untuk molekul oksigen menghasilkan anion O₂⁻, reaktif radikal bebas. O₂⁻ dapat diproduksi dalam phagosomes. O₂⁻ secara spontan dapat membentuk hidrogen peroksida yang akan mengalami reaksi lebih lanjut untuk menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) (Kawashima & Yokoyama, 2004).

2.5 Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

2.5.1 Taksonomi Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn) (Ristek, 2013)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Kelas	: Dicotyledonae
Order	: Theales
Family	: Guttiferae
Genus	: Garcinia
Spesies	: Garcinia mangostana Linn

2.5.2 Morfologi Manggis (*Garcinia Mangostana* Linn)

Manggis merupakan tanaman tahunan yang masa hidupnya dapat mencapai puluhan tahun. Pohon manggis selalu hijau dengan tinggi 6-20 meter. Manggis mempunyai batang tegak, batang pohon jelas, kulit batang coklat, dan memiliki getah kuning. Daun manggis tunggal, duduk daun berhadapan atau bersilang berhadapan. Manggis mempunyai bunga betina 1-3 di ujung batang, susunan menggarpu, dan garis tengah 5-6 cm. kelopak daun manggis dengan dua daun kelopak terluar hijau kuning, dua yang terdalam lebih kecil, bertepi merah, melengkung kuat, tumpul. Manggis mempunyai 4 daun mahkota, bentuk telur terbalik, berdaging tebal, hijau kuning, tepi merah atau hampir semua merah. Benang sari mandul (staminodia) biasanya dalam tukul (kelopak). Bakal buah beruang 4-8, kepala putik berjari-jari 5-6. Buah manggis berbentuk bola tertekan, garis tengah 3,5-7 cm, ungu tua, dengan kepala putik duduk (tetap), kelopak tetap, dinding buah tebal,

berdaging, ungu, dengan getah kuning. Biji 1-3, diselimuti oleh selaput biji yang tebal berair, putih, dapat dimakan (termasuk biji yang gagal tumbuh sempurna). Manggis mempunyai waktu berbunga antara bulan Mei – Januari (Ristek, 2013)



Gambar 2.9: Morfologi Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)
(Karp, David 2007)

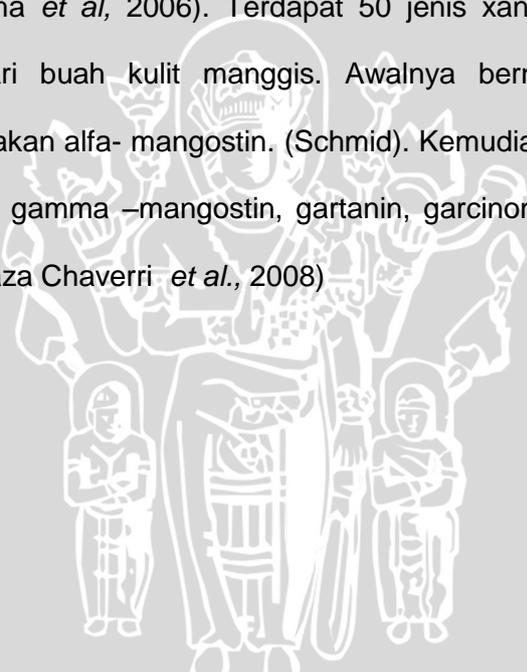
Manggis merupakan tumbuhan pepohonan, yang memiliki tinggi hingga 15 meter. Mempunyai batang berkayu, bulat, tegak bercabang simodial dan berwarna hijau kotor. Berdaun tunggal, lonjong, ujung runcing, pangkal tumpul tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 20-25 cm lebar 6-9 cm, tebal, tangkai silindris hijau. Bunga tunggal, berkelamin dua, diketiak daun. Buah seringkali, bersalut lemak berdiameter 6-8 cm dengan warna coklat keunguan. Biji bulat berdiameter 2 cm, dalam satu buah terdapat 5-7 biji (Ristek, 2013).

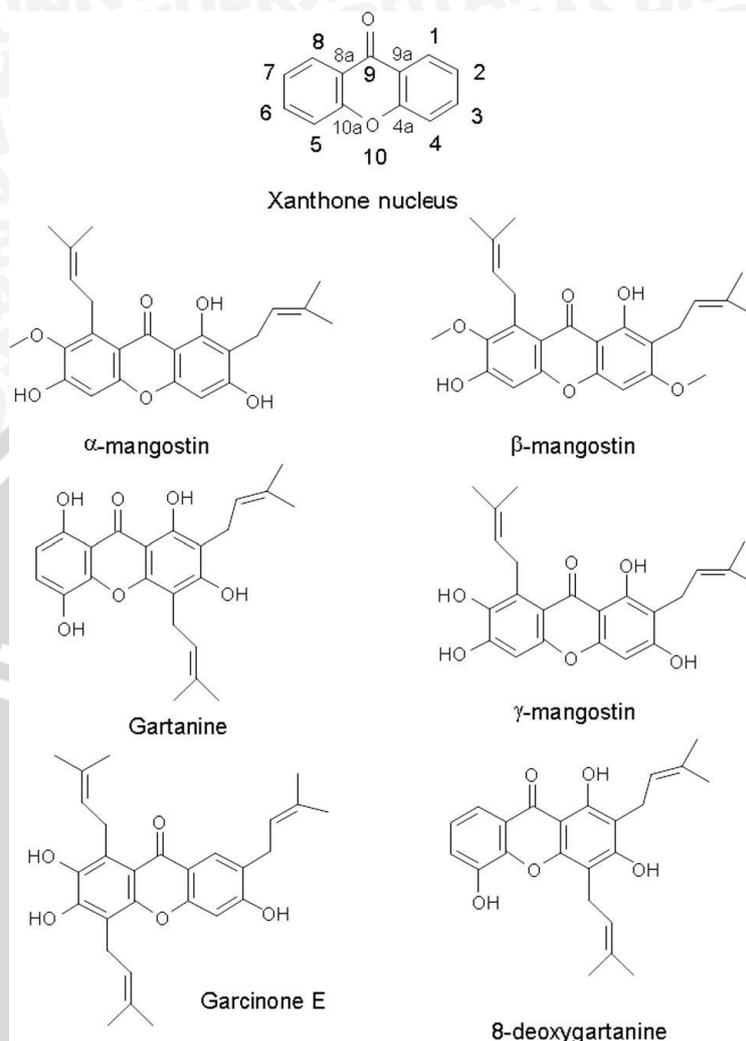
2.5.3 Kandungan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Anti-oksidan yang terdapat dalam kulit buah Manggis dengan kadar yang tinggi memiliki sifat yang baik dan bermanfaat bagi tubuh, seperti anti-peradangan, anti-diabetes, anti-kanker, anti-bakteri, antijamur, anti-

plasmoidal, dan mampu meningkatkan kekebalan tubuh, hepatoprotektif. Xanthon atau xanthin adalah metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan pada manggis. Xanthone dapat diisolasi melalui kulit, buah, batang dan daun dari manggis. Xanthon memiliki efek antioksidan, antitumor, antiinflamasi, antialergi, antibacterial, antifungal dan antivirus (Suksamrarn *et al.*, 2006 ; Pedraza Chaverri *et al.*, 2008)

Di dalam senyawa xanthone yang paling banyak terkandung dalam buah Manggis ialah kandungan alfa-mangostin dan gamma-mangostin.(Jungha *et al.*, 2006). Terdapat 50 jenis xanthone yang telah teridentifikasi dari buah kulit manggis. Awalnya bernama mangostin, kemudian dinamakan alfa- mangostin. (Schmid). Kemudian ditemukan juga beta-mangostin , gamma –mangostin, gartanin, garcinon- E dan 8 deoxy gartanine. (Pedraza Chaverri *et al.*, 2008)





Gambar 2.10 : Inti xanthone dengan jumlah IUPAC karbon dan struktur kimia dari xanthones yang paling banyak dipelajari (Pedraza Chaverri *et al.*, 2008)

2.5.4 Kepentingan Medis Buah dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Tanaman manggis selain digemari buahnya, kulit buahnya juga dikenal sebagai peluruh haid, obat sariawan, penurun panas, pengelat (adstringen), obat disentri . Antosianin yang memberikan warna ungu dalam kulit buah manggis dapat digunakan sebagai alternatif pewarna alami untuk makanan dan tekstil (Syafuruddin, 2009). Kulit buah manggis

secara *in vitro* mempunyai aktivitas anti plasmodium falsiparum antibakteri antioksidan, menginduksi apoptosis pada sel leukemia , antijerawat dan anti TBC. (Pedraza Chaverri *et al.*, 2008)

Tabel 2.1 Kepentingan Medis dan mekanisme dari senyawa turunan Xanthone (Pedraza Chaverri *et al.*, 2008)

Efek	Kandungan	Mekanisme
Antioksidan	Ekstrak metanol daging buah	Aktivitas <i>scavenger</i>
	Ekstrak metanol kulit buah	Penghambat produksi ROS
	Ekstrak aqua daging buah	Aktivitas <i>scavenger</i> DPPH Anticytotoxic
	Alpha dan Gamma mangostin	Metode <i>ferric thiocyanate</i>
	Gamma mangostin	Aktivitas <i>Scavenger</i> HO [•]
	Alpha mangostin	Penghambat isoproterenol – oksidatif Penghambat oksidasi LDL
	Mangostiin	Aktivitas penghambat radikal DPPH dan ABTS
	Xanthone	<i>Scavenging</i> ONOO [•] Penghambat oksidasi LDL
	Ekstrak Kulit manggis	<i>Scavenger</i> HO [•] dan penghambat lipid peroksidasi

Anti-tumoral	Kulit buah	Antiproliferatif terhadap leukemia
	Alpha mangostin	Caspase-3 apoptosis di HLA60 Antiproliferatif Ca Colon
	Ekstrak aqua daging buah	Antileukemia
	Ekstrak Etanol dan metanol daging buah	Antiproliferatif pada Ca Mammae
Anti-inflamasi	Alpha mangostin	Stabilisasi Histamin Antiinflamasi studi experimental Penghambat 12-LOX
	Gamma mangostin	5HT _{2A} antagonis reseptor Penghambat COX 1 dan COX 2
	Alpha dan Gamma mangostin	Penghambat sitotoksisitas LPS, Produksi NO ⁻ dan PGE ₂ ,
Antibacterial	Alpha mangostin	Melawan resistensi Vancomycin dan MRSA Penghambat kuat <i>S.aureus</i> , <i>P.aureguinosa</i> , <i>S.thypimurium</i> , <i>B.subilis</i>
	Alpha dan Gamma mangostin	Penghambat kuat <i>Mycobacterium Tuberculosis</i>

		Melawan MRSA
	Ekstrak kulit buah	Polisakaridanya meningkatkan sel fagosit terhadap <i>Salmonella enteridis</i>
Antifungal	Alpha mangostin	Melawan <i>Epidermophyton flaccosum</i> , <i>Alternaria solami</i> , <i>Mucor sp</i> , <i>Rhizopus sp</i> , <i>Cunninghamella eculata</i>
	Alpha dan Gamma mangostin	Menghambat <i>F.oxysprum</i> , <i>vasinfectum</i> , <i>A.tenuis</i> , dan <i>D.oryzae</i>

2.5.5 Mekanisme Kerja Antioksidan dalam kulit manggis

Menurut Garcia *et al* (2005) yang membahas antioksidan menemukan ekstrak dari kulit buah manggis memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi. Hal ini didukung oleh penelitian Jung *et al.*, (2006) yang mengukur kapasitas scavenger activity peroksinitrit (ONOO^-) pada 13 xanthone dengan memonitor oksidasi dari dihidroamin 123 (DHR-123). ONOO^- merupakan hasil reaksi antara NO dan O_2^- atau ONOO^- dapat diproduksi jika kofaktor eNOS yaitu BH_4 mengalami gangguan dimana eNOS bukan memproduksi NO tetapi memproduksi ONOO^- (Kawashima & Yokoyama, 2004).

Aktivitas antioksidan dari xanthone yang sudah diisolasi dari ekstrak kulit manggis dapat ditunjukkan melalui metode penangkapan radikal bebas dari 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Yoshikawa 1994), dan pemeriksaan 2,20-azino-bis-(3-ethylbenzathioline-6-sulfonic acid (ATBS) (Leong & Shui 2002; Haruenkit *et al.*, 2007)

Berdasarkan penelitian William (1995) dan Pedraza (2008) Alpha mangostin menurunkan LDL teroksidasi dari tubuh manusia melalui induksi copper atau radikal peroksil. Mekanisme yang terjadi melalui beberapa cara, dua diantaranya alpha mangostin mengurangi produk *thiobarbituic reactive substances* (TBARS) dan menurunkan konsumsi alpha tocopherol yang diinduksi oleh LDL teroksidasi. Selain itu penelitian Sampath dan Vijayaraghavan (2007) meneliti efek mangosteen pada sistem pertahanan antioksidan pada peroksidasi lipid pada model hewan coba infark miokard melalui induksi isoprotenol. Hasilnya xanthon menunjukkan efek protektif melawan peroksidasi lipid dan pertahanan antioksidan melalui perubahan jaringan nekrosis dan infiltrasi makrofag.

2.6 Model Aterosklerosis

2.6.1 Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar sebagai Model Hewan Coba pada Aterosklerosis

Pemilihan model hewan coba didasarkan pada kelebihan dan induksi terhadap aterosklerosis dari masing-masing hewan coba. Model hewan coba yang sering digunakan untuk studi experimental pada aterosklerosis adalah kelinci, babi, tikus dan mencit. Secara umum, pemilihan didasarkan pada ketersediaan jumlah, terjangkau dan

kemiripan dekat dengan kondisi manusia. Secara khusus pada perlakuan aterosklerosis dapat mengembangkan tahapan-tahapan dari aterogenesis seperti *fatty streaks*, akumulasi *foam cells*, plak serta komplikasi yang berhubungan seperti kalsifikasi, ulserasi, perdarahan, ruptur plak, trombosis dan stenosis serta pembentukan aneurisma (Godfrey *et al.*, 2012).

2.6.2 Diet Aterogenik sebagai penginduksi aterosklerosis

Keadaan kolesterol yang tinggi didalam darah (hiperkolesterolemia) merupakan salah satu dari faktor risiko yang dapat dimodifikasi pada aterosklerosis (WHO, 2011). Keadaan hiperkolesterolemia tersebut dapat terjadi dikarenakan diet tinggi lemak , yang kemudian meningkatkan kadar LDL sehingga meningkatkan kadar kolesterol darah diatas batas normal (Murwani, 2006).

Berdasarkan penelitian Murwani (2006), yang mengacu pada penelitian Sherer (2001) dan Murray (1997), konsumsi diet aterogenik dapat diterapkan pada hewan coba tikus, untuk menginduksi terjadinya hiperkolesterolemia. Komposisi diet aterogenik adalah bahan pakan normal yang ditambahkan dengan kolesterol 2 %, asam kolat 0,2 % dan minyak babi 5 %. Pemberian diet tinggi lemak selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol dan memicu terbentuknya sel busa, maka pemberian diet tinggi lemak dilakukan selama lebih dari 8 minggu dan pada penelitian ini 12 minggu diharapkan dapat meningkatkan perkembangan lesi aterogenik (Murwani, *et al.*, 2006)

2.7 Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

2.7.1 Ekstraksi kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Ekstraksi adalah suatu metoda operasi yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan yang disebut solven atau pelarut sebagai tenaga pemisah dan komponen yang dipisahkan disebut solute atau terlarut (Maulida & Zulkarnaen, 2010).

Pemilihan solven yang digunakan harus memenuhi syarat tertentu agar memperoleh hasil yang baik dalam ekstraksi. Syarat tersebut antara lain mempunyai kemampuan melarutkan solute tetapi sedikit atau tidak sama sekali melarutkan diluent, mempunyai perbedaan titik didih yang cukup besar dengan solute, tidak bereaksi dengan solute maupun diluen, mempunyai keemurnian tinggi tidak beracun, tidak meninggalkan bau dan mempunyai densitas tinggi daripada diluent(Maulida dan Zulkarnaen, 2010). Solven yang memenuhi beberapa persyaratan diatas ialah ethanol, karena sifatnya yang tidak beracun bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman.

2.7.2 Dosis Uji dan Lama pemberian ekstrak

Dosis ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* Linn) pada penelitian ini ialah 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 800 mg/kg BB. Pemilihan ketiga dosis ini didasarkan pada penelitian Reanmongkol dan Wattanapiromsakul (2008) yang menguji ekstrak kulit manggis sebagai analgesik, anti inflamasi dan antipiretik pada tikus. Selain itu, menurut BPOM

(2014) dosis aman pada penelitian eksperimental ialah dosis tersebut diatas.

Paparan ekstrak kulit manggis yang diberikan selama 8 minggu mulai dari minggu kelima hingga minggu keduabelas didasarkan pada pemilihan model penelitian yang digunakan pada penelitian ini dibuat untuk 8 minggu setelah diberi diet aterogenik. Selain itu durasi yang diberikan tersebut bertujuan sebagai pengobatan terhadap perkembangan aterosklerosis Menurut BPOM (2014) Berdasarkan lama paparan diketahui ada tiga jenis paparan yaitu akut dipapar mulai dari 1-14 hari, subkronik dipapar mulai dari 12-90 hari , dan paparan kronik jika dipapar selama 1 tahun. Pemilihan paparan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana Linn*) pada penelitian ini dipilih berdasarkan paparan subkronik yaitu 21-90 karena berdasarkan pemberian diet aterogenik akan menimbulkan efek setelah 8 minggu pemberian, sehingga tujuan pemberian ekstrak sebagai pengobatan dapat dilakukan.

