

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

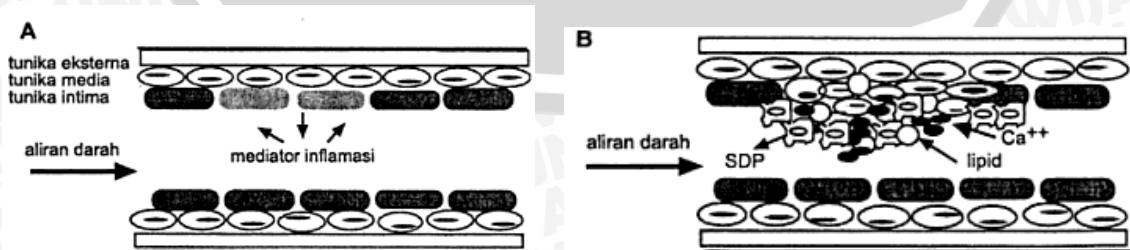
Aterosklerosis adalah penumpukan endapan jaringan lemak (*atheroma*) dalam arteri yang disebabkan oleh penebalan zat-zat lemak di dalam dan di bawah lapisan intima dinding arteri, yang juga terjadi pada arteri koroner (pembuluh nadi jantung) (Silalahi, 2006). Pada kondisi ini, tidak hanya penumpukan endapan lemak saja yang menyebabkan aterosklerosis, tetapi ditandai juga dengan adanya timbunan trombosit, neutrofil, monosit, dan makrofag di seluruh kedalaman tunika intima (lapisan sel endotel) dan akhirnya ke tunika media (lapisan otot polos) (Corwin, 2008).

2.1.1 Patofisiologi Aterosklerosis

Diawali dengan adanya cedera pada sel endotel yang mengakibatkan disfungsi endotel lumen arteri (Corwin, 2008). Endotel berfungsi untuk menjaga keseimbangan antara vasodilatasi dan vasokonstriksi, inhibisi dan stimulasi, proliferasi dan migrasi sel otot polos, serta antara trombogenesis dan fibrinolisis (Immanuel dan Tjiptaningrum, 2010). Disfungsi endotel ini menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas sel endotel terhadap berbagai komponen plasma, termasuk asam lemak, kolesterol dan trigliserida (TG), sehingga zat-zat ini dapat masuk ke arteri, terutama ke dalam tunika intima. Hal ini menyebabkan terjadi oksidasi asam lemak yang menghasilkan oksigen radikal bebas yang selanjutnya dapat merusak pembuluh darah (Corwin, 2008).

Selain itu, cedera pada sel endotel juga dapat mencetuskan reaksi inflamasi dan imun, termasuk menarik sel darah putih, terutama neutrofil dan monosit serta trombosit ke area cedera. Sel darah putih melepaskan sitokin proinflamatori yang dapat memperburuk situasi, menarik lebih banyak sel darah putih dan trombosit ke area cedera, menstimulasi proses pembekuan, mengaktifkan sel T dan B, dan melepaskan senyawa kimia yang berperan sebagai penarik kimiawi yang mengaktifkan siklus inflamasi, bekuan, dan fibrosis. Pada saat ditarik ke area cedera, sel darah putih akan menempel di area cedera oleh aktivasi faktor adhesif endotelial sehingga endotel lengket terutama terhadap sel darah putih (Corwin, 2008).

Apabila cedera dan inflamasi terus berlanjut, agregasi trombosit meningkat dan mulai terbentuk bekuan darah (trombus). Sebagian dinding pembuluh darah diganti dengan jaringan parut sehingga mengubah struktur dinding pembuluh darah. Hasil akhirnya adalah penimbunan kolesterol dan lemak, pembentukan deposit jaringan parut, pembentukan bekuan yang berasal dari trombosit, dan proliferasi sel otot polos (Corwin, 2008). Pengendapan lemak seperti ini disebut *plaque* (plak) yang menyebabkan penurunan diameter arteri dan peningkatan kekakuan yang cenderung terjadi di titik-titik percabangan nadi sehingga mengganggu aliran darah di tempat-tempat yang memiliki aliran darah tidak begitu deras (Silalahi, 2006).



Gambar 2.1 Pembentukan plak aterosklerosis disertai disfungsi endotel (A) diikuti dengan migrasi sel darah putih (SDP) dan deposit sel lemak dan kalsium (Corwin, 2008)

2.1.2 Faktor Risiko Aterosklerosis

Sejumlah karakteristik pribadi, sosial, dan perilaku dapat meningkatkan risiko aterosklerosis dan PJK. Dalam buku yang dituliskan oleh Silalahi (2006), dijelaskan karakteristik-karakteristik yang disebut sebagai faktor-faktor risiko, yang dapat dibagi atas :

1) Faktor risiko besar (*major risk factor*), yakni usia, jenis kelamin, merokok, kadar kolesterol darah tinggi, dan tekanan darah tinggi.

a. Usia

Risiko aterosklerosis meningkat pada usia tua (>50 tahun) karena terjadi penurunan komplians pembuluh darah terhadap peningkatan tekanan aliran darah dan penambahan kerentanan terhadap cedera endotel (Brashers, 2001).

b. Jenis kelamin

Laki-laki lebih berisiko dibanding perempuan. Salah satu faktornya adalah kadar besi dalam darah pada perempuan cenderung rendah. Kadar besi yang tinggi dan proses oksidasi besi yang sangat cepat dapat merusak arteri koroner atau memperparah kerusakan dari penyebab lain (Corwin, 2008).

c. Merokok

Merokok merupakan aktivitas yang dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh yang akan merusak pembuluh darah dan menimbulkan siklus inflamasi (Corwin, 2008).

d. Kadar kolesterol yang tinggi dalam darah

Kolesterol diangkut oleh lipoprotein. Lipoprotein yang membawa lemak masuk ke sel tubuh termasuk sel endotel arteri adalah LDL dan

Very Low Density Lipoprotein (VLDL). Di dalam LDL sendiri terdapat sekitar 50% kolesterol sehingga makin tinggi kadar LDL dalam sirkulasi, makin tinggi kadar kolesterol dalam darah dan akan semakin sering terjadi kerusakan (Corwin, 2008).

e. Tekanan darah tinggi

Tekanan darah tinggi yang kronis menimbulkan gaya regang/potong yang merobek lapisan endotel arteri dan arteriol yang dapat menyebabkan pembentukan bekuan (trombus). Setiap trombus yang terbentuk dapat terlepas dari arteri atau makin membesar dan menyumbat aliran darah serta melemahkan arteri sehingga dapat pecah pada kondisi tekanan darah tidak terkontrol (Corwin, 2008).

2) Faktor risiko kecil (*minor risk factor*), yaitu

a. Diet

Diet tinggi lemak yang mengandung kolesterol tinggi dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol terutama LDL dalam darah yang selanjutnya akan menyebabkan dislipidemia (Anam, 2010).

b. Obesitas

Pada penderita obesitas ditemukan abnormalitas metabolik seperti hiperglikemia, hipertensi, dan lipoprotein yang bersifat aterogenik, yang dapat menyebabkan kerusakan vaskuler. Selain itu, ditemukan juga adanya peningkatan penanda inflamasi yang berperan dalam pembentukan plak aterosklerosis (Anam, 2010).

c. Kurang olahraga

Aktivitas fisik yang tidak adekuat menyebabkan semakin besarnya lemak tubuh yang ditimbun pada jaringan (Anam, 2010).

d. Diabetes

Kelainan metabolik ini dapat menimbulkan kelainan aterosklerosis pada usia dini dan mempercepat progresivitasnya. Diabetes mellitus ini dapat mengakibatkan peningkatan kadar lemak darah yang selanjutnya akan menimbulkan aterosklerosis (Lumongga, 2007).

2.1.3 Manifestasi Klinik Aterosklerosis

Nadi-nadi tertentu rentan terhadap plak, termasuk nadi-nadi koroner yang memasok darah ke otot-otot jantung (yang begitu halus sehingga mudah tersumbat), nadi-nadi yang memasok darah ke otak, dan nadi-nadi pada kaki. Apabila keadaan ini berlangsung sesuai usia akan terjadi penyempitan lumen pembuluh darah sehingga membatasi aliran darah, merangsang terbentuknya bekuan darah, dan kemudian aliran darah terganggu. Jika keadaan ini terjadi di jantung atau otak maka akan terjadi serangan jantung atau stroke yang dapat berakibat fatal (Silalahi, 2006).

2.2 Lipoprotein

Lipid plasma berasal dari makanan (eksogen) atau disintesis dalam badan (endogen). Lipid sukar larut dalam air, pengangkutannya dalam tubuh berbentuk kompleks dengan protein yang disebut lipoprotein. Lipoprotein dibentuk di usus dan hati. Lipoprotein tersusun atas inti yang sukar larut (non polar) yang terdiri atas ester kolesterol dan TG serta bagian yang mudah larut (polar) yang terdiri dari protein, fosfolipid dan kolesterol bebas (Pusparini, 2006).

Kolesterol adalah molekul hidrofobik atau tidak larut dalam air. Untuk menstraportnya dalam aliran darah dan mengirimnya ke sel-sel di seluruh tubuh dimediasi oleh partikel-partikel lipoprotein yang berbeda-beda pada tiap stepnya.

Lipoprotein adalah molekul terdiri dari protein dan lipid (*triacylglycerol, cholesteryl ester, phospholipid dan cholesterol*) yang digabungkan dengan interaksi hidrofob antara bagian (gugus) non polar dari lipid dengan molekul protein. Berdasarkan bobot molekul, kerapatan, dan ukuran partikelnya lipoprotein plasma darah manusia dibagi menjadi lima golongan utama, yaitu: kilomikron, lipoprotein kerapatan sangat rendah (*very low density lipoprotein, VLDL*), lipoprotein kerapatan rendah (*low density lipoprotein, LDL*), lipoprotein kerapatan tinggi (*high density lipoprotein, HDL*), dan lipoprotein kerapatan sangat tinggi (*very high density lipoprotein, VHDL*) (Mulyani, 2011).

2.2.1 Low Density Lipoprotein (LDL)

Low density lipoprotein dibentuk dari VLDL dan IDL, yang berfungsi untuk membawa kolesterol masuk ke sel. LDL dibentuk melalui jalur endogen. LDL pada manusia mengandung hampir 50% kolesterol dan membawa 60-70% kolesterol plasma yang disimpan dalam jaringan adiposa dan otot polos. Konsentrasi LDL tinggi dalam darah dihubungkan dengan insiden tinggi PJK (Sloane, 2003). Berbeda dengan plasma lipid pada manusia, pada tikus pengangkut terbesar kolesterol adalah HDL sehingga kadar HDL cenderung lebih tinggi dibandingkan kadar LDL. Tikus lebih resisten mengalami peningkatan LDL tetapi dengan diet tinggi lemak mampu meningkatkan kadarnya (Pellizzon, 2008).

LDL dianggap kolesterol jelek dan konsentrasi tinggi LDL dapat menyebabkan secara langsung penyakit jantung. Ada 2 jalur utama yang mana konsentrasi kolesterol dapat menaikkan tingkat bahaya:

- i. Kecenderungan genetik
- ii. Gaya hidup

Keadaan yang menyebabkan LDL tinggi adalah kekurangan reseptor LDL dan sel-sel tidak dapat membuang LDL kolesterol secara efektif dari darah. Kekurangan reseptor LDL dapat mencegah masuknya LDL ke bagian dalam sel dan menaikkan konsentrasi LDL di luar sel. Memakan makanan berkolesterol/berlemak tinggi menaikkan tingkat LDL dalam darah karena tubuh mengambil kolesterol lebih banyak daripada yang dibutuhkan oleh sel. Jika sel mempunyai cukup kolesterol, maka sel menghentikan pemasukkan kolesterol dari aliran darah dengan menurunkan sejumlah reseptor LDL-nya (Mulyani, 2011).

Zat gizi yang dapat meningkatkan kadar LDL antara lain lemak jenuh, lemak trans, dan kolesterol. Peningkatan terjadi apabila konsumsi ketiga zat gizi tersebut dalam jumlah yang berlebihan (NIH, 2005). Pada keadaan normal, jumlah kolesterol yang terikat dalam LDL 2-3 kali lipat kolesterol yang terikat dalam bentuk HDL. Maka kadar LDL dalam darah menjadi fokus perhatian dan merupakan indikator yang lebih baik bagi risiko PJK dibandingkan dengan kadar kolesterol dalam darah. Kadar normal LDL dalam darah sekitar 120 mg/ 100 ml serum (Silalahi, 2006) dan kadar normal LDL pada tikus sebesar 7,0-27,2 mg/dl (Herwiyarirasanta *dkk.*, 2010).

Tahapan awal aterosklerosis dihubungkan dengan LDL yaitu diawali ketika partikel LDL meninggalkan darah dan masuk ke tunika intima, dimana jika LDL meningkat akan terjadi akumulasi LDL di tunika intima (Insull, 2009). LDL tersebut akan dimodifikasi oleh enzim dan dioksidasi menjadi partikel proinflamatori dan memicu pelepasan senyawa yang menyebabkan komponen sel darah putih masuk ke dalam pembuluh darah. Sel darah putih yang ada di dalam pembuluh darah berubah menjadi makrofag yang akan

menangkap LDL teroksidasi membentuk sel busa yang lama-kelamaan akan semakin membesar dan membentuk plak (Soeharto, 2004).

2.2.2 Metabolisme Lipoprotein

Kilomikron menangkap kolesterol dan lemak dari usus. Kilomikron adalah butir-butir lemak yang mengandung sedikit protein. Lemak dikirim ke jaringan adiposa meninggalkan sisa kilomikron (*Chylomicron remnants*) yang mengandung sebagian besar kolesterol. Sisa kolesterol ini di bawa menuju hati. Di dalam hati kolesterol dari sisa kilomikron digabungkan dengan kolesterol yang disintesis oleh hati menjadi partikel VLDL. VLDL ini kemudian digunakan untuk transport lemak-lemak ke jaringan-jaringan (Mulyani, 2011).

VLDL masuk aliran darah dan memulai penyaluran lemak-lemak ke jaringan sel tepi sepanjang dinding pembuluh darah. Dalam proses perjalanannya itu, VLDL mengalami proses penguraian lipid secara bertahap. Ketika lemak-lemak disalurkan ke jaringan, VLDL diperkaya kolesterol dan secara bertahap berubah menjadi partikel LDL. Dalam hal ini kehilangan lemak menurunkan ukuran partikel dan menaikkan konsentarsi kolesterol. LDL adalah pembawa kolesterol utama dalam darah. Jika sel-sel sudah cukup kolesterol, maka LDL diblok masuk ke dalam sel jaringan dan kolesterol dikumulasi dalam darah membentuk plak arteri (atherosclerosis). Oleh karena itu LDL disebut juga kolesterol jelek karena mereka membawa kelebihan kolesterol untuk ditimbun pada dinding arteri dan menyebabkan penyakit jantung (Mulyani, 2011).

LDL diinternalisasi ke dalam sel jaringan tepi melalui pembentukan kompleks LDL-reseptor dengan proses khusus. Kompleks LDL-reseptor yang sudah masuk ke dalam sel, komponen proteinnya diuraikan menjadi asam

amino dan senyawa ester kolesterolnya dihidrolisis menjadi kolesterol. Kolesterol kemudian dapat digunakan oleh sel untuk membuat membran sel dan mensintesis steroid-steroid lain. Kolesterol yang berlebih akan dikeluarkan dari membran sel baik sebagai kolesterol bebas maupun sebagai senyawa esternya dan diangkut oleh HDL yang terdapat dalam plasma darah kembali ke sel hati. Selanjutnya kolesterol tersebut mengalami proses perombakan menghasilkan cadangan kolesterol hati yang antara lain diperlukan untuk sintesis VLDL. Kadar HDL dalam darah yang tinggi akan mencegah terjadinya penimbunan LDL pada dinding pembuluh darah. Oleh karena itu HDL merupakan kolesterol baik, karena untuk mencari-cari sisa kelebihan kolesterol dan menurunkan kemungkinan pembentukan plak arteri (Mulyani, 2011).

2.3 Penelitian Kesehatan

Penelitian adalah kegiatan yang dilakukan berdasarkan kaidah dan metode ilmiah secara sistematis untuk memperoleh informasi, data, dan keterangan dari subjek terkait, dengan pemahaman teori dan pembuktian asumsi dan/ atau hipotesis. Hasil yang didapat merupakan kesimpulan yang dapat diaplikasikan atau menjadi tambahan pengetahuan bagi kemajuan ilmu pengetahuan. Walaupun demikian, kegiatan penelitian harus tetap menghormati hak dan martabat subjek penelitian (Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbangkes, 2007).

Penelitian kesehatan meliputi penelitian biomedik, epidemiologi, sosial, serta perilaku. Sebagian penelitian kesehatan dapat dilakukan secara *in vitro*, memakai model matematik, atau simulasi komputer. Jika hasil penelitian akan dimanfaatkan untuk manusia, diperlukan penelitian lanjutan dengan

menggunakan bahan hidup seperti galur sel dan biakan jaringan. Untuk mengamati, mempelajari, dan menyimpulkan seluruh kejadian pada makhluk hidup secara utuh diperlukan hewan percobaan karena hewan percobaan mempunyai nilai pada setiap bagian tubuh dan terdapat interaksi antara bagian tubuh tersebut. Hewan percobaan dalam penelitian disebut sebagai *semi final test tube*. Sampai saat ini peneliti kesehatan masih melakukan penelitian dengan memanfaatkan hewan percobaan (Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 2006).

2.4 Hewan Coba

Hewan percobaan adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Dalam menggunakan hewan percobaan dalam penelitian diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai berbagai aspek tentang sarana biologis. Pengelolaan hewan percobaan diawali dengan pengadaan hewan, meliputi pemilihan dan seleksi jenis hewan yang cocok terhadap materi penelitian (Ridwan, 2013).

Ada beberapa alasan mengapa hewan percobaan tetap diperlukan dalam penelitian khususnya di bidang kesehatan, pangan dan gizi antara lain keragaman dari subjek penelitian dapat diminimalisasi, variabel penelitian lebih mudah dikontrol, daur hidup relatif pendek sehingga dapat dilakukan penelitian yang bersifat multigenerasi, pemilihan jenis hewan dapat disesuaikan dengan kepekaan hewan terhadap materi penelitian yang dilakukan, biaya relatif murah, dapat dilakukan pada penelitian yang berisiko tinggi, mendapatkan informasi lebih mendalam dari penelitian yang dilakukan karena peneliti dapat membuat

sediaan biologi dari organ hewan yang digunakan, memperoleh data maksimum untuk keperluan penelitian simulasi, dan dapat digunakan untuk uji keamanan, diagnostik dan toksisitas (Rustiawan, 1990).

Penelitian yang memanfaatkan hewan coba harus menggunakan hewan percobaan yang sehat dan berkualitas sesuai dengan tujuan penelitian. Hewan tersebut dipelihara dan dikembangbiakkan secara khusus dalam lingkungan yang diawasi dan dikontrol dengan ketat. Tujuannya adalah untuk mendapatkan *defined laboratory animals* sehingga sifat genotipe, fenotipe (efek maternal), dan sifat dramatipe (efek lingkungan terhadap fenotipe) menjadi konstan. Hal itu diperlukan agar penelitian bersifat *reproducible*, yaitu memberikan hasil yang sama apabila diulangi pada waktu lain, bahkan oleh peneliti lain. Penggunaan hewan yang berkualitas dapat mencegah pemborosan waktu, kesempatan, dan biaya (Ridwan, 2013).

Hewan yang dapat digunakan bisa berupa hewan invertebrata dan vertebrata. Hewan invertebrata biasanya digunakan dalam bidang neurobiologi dan genetika. Sedangkan hewan vertebrata digunakan untuk kemajuan dalam bidang biologi dan kedokteran serta sangat penting dalam penelitian translasi. Hewan vertebrata yang dapat digunakan dibagi menjadi dua kelompok yaitu hewan kecil seperti tikus, mencit, dan kelinci, serta hewan besar seperti anjing, babi, dan monyet. Dalam pemilihan spesies, beberapa hal harus dipertimbangkan seperti tujuan dari penelitian, kendala yang akan dialami dalam penggunaan hewan coba, biaya dan relevansi dari data yang diperoleh untuk penggunaan klinis (Chow *et al.*, 2007).

2.4.1 Tikus Sebagai Hewan Coba

Hewan-hewan kecil seperti tikus dan mencit lebih disukai untuk banyak penelitian eksperimental karena memiliki siklus hidup yang pendek, relatif murah, dan mudah untuk memelihara karena hanya membutuhkan ruang yang terbatas (Chow *et al.*, 2007). Rekayasa genetik untuk tujuan menyesuaikan dengan keadaan penyakit yang akan diteliti dapat dilakukan dengan mudah pada kedua jenis hewan ini. Selain itu tikus merupakan hewan coba yang secara biologis struktur organnya hampir sama dengan manusia (American Association for Laboratory Animal Science, 2003). Kelebihan lain dari penggunaan tikus antara lain mudah diperoleh dalam jumlah banyak, mempunyai respon yang cepat, memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia (Sihombing dan Sulistyowati, 2011), dan lebih mudah dikontrol dari segi asupan makanan dan aktivitas fisik daripada manusia sehingga dapat memperkecil terjadinya bias saat penelitian. Tikus dan mencit secara ekstensif digunakan dalam penelitian biomedis seperti dalam penemuan vaksin, antibodi, dan hormon serta pengujian potensi obat dan toksikologi (Chow *et al.*, 2007).

Saat ini, beberapa strain tikus yang digunakan dalam penelitian di laboratorium hewan coba di Indonesia, antara lain Wistar dan Sprague-Dawley. Tikus strain wistar dikembangkan oleh *Institute Wistar* (USA), yang turunannya dapat diperoleh di Pusat Teknologi Dasar Kesehatan dan Pusat Teknologi Terapan Kesehatan dan Epidemiologi Klinik Badan Litbangkes (Ridwan, 2013). Tikus ini cocok digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan penuaan, penyakit infeksi, metabolisme zat gizi, onkologi, farmakologi, fisiologi, teratologi, dan toksikologi (Janvier Labs, 2011). Tikus

yang dipilih adalah tikus jantan *strain wistar* dengan alasan tikus *strain wistar* lebih lincah daripada tikus *strain* yang lain sehingga efeknya akan lebih terlihat. Pemilihan tikus dalam penelitian penyakit metabolisme lebih banyak menggunakan tikus jantan karena pada tikus betina terdapat hormon estrogen yang mempengaruhi kerja lemak dan kolesterol. Hormon estrogen mempunyai sifat hipolipidemik sehingga menurunkan kadar kolesterol dan LDL (Sloane, 2003).

2.4.2 Etik Penggunaan Hewan Coba

Hewan percobaan akan mengalami berbagai keadaan luar biasa yang menyebabkan penderitaan, seperti rasa nyeri, ketidaknyamanan, ketidaksenangan, dan pada akhirnya kematian. Sebagai bangsa yang beradab, hewan percobaan yang menderita demi kebaikan manusia wajib dihormati hak azasinya dan diperlakukan secara manusiawi (Hanafiah dan Amir, 2008).

Dalam hal memanfaatkan hewan percobaan untuk penelitian kesehatan digunakan prinsip 3R, yaitu: *replacement*, *reduction*, dan *refinement* (Hanafiah dan Amir, 2008).

a. *Replacement*

Ada dua alternatif untuk *replacement*, yaitu:

- 1) *Replacement* relatif, yaitu tetap memanfaatkan hewan percobaan sebagai donor organ, jaringan, atau sel.
- 2) *Replacement* absolut, yaitu tidak memerlukan bahan dari hewan, melainkan memanfaatkan galur sel atau program komputer.

b. *Reduction*

Mengurangi pemanfaatan jumlah hewan percobaan sehingga sesedikit mungkin dengan bantuan ilmu statistik, program komputer, dan teknik-

teknik biokimia serta tidak mengulangi penelitian dengan hewan percobaan apabila tidak perlu.

c. *Refinement*

Mengurangi ketidaknyamanan yang diderita oleh hewan percobaan sebelum, selama, dan setelah penelitian, misalnya dengan pemberian analgetik dan diet yang sesuai (Hanafiah dan Amir, 2008).

2.5 Diet Standar

Diet yang diberikan pada tikus sebaiknya mengandung zat gizi yang tepat. Ada dua jenis diet yang umum diberikan pada tikus laboratorium yaitu diet untuk perkembangbiakan dan diet untuk pemeliharaan. Diet untuk perkembangbiakan mengandung protein dan energi yang cukup untuk fetus selama kebuntingan dan untuk produksi susu selama masa laktasi. Sedangkan diet untuk pemeliharaan adalah diet yang distandarisasi sesuai dengan kondisi dan kebutuhan tikus (National Research Council, 1978).

Diet standar merupakan diet yang sudah mengalami proses standarisasi. Instansi internasional yang mengurus proses standarisasi diet standar untuk hewan coba adalah *American Institute of Nutrition (AIN)*. Pada tahun 1973, AIN membentuk suatu kepengurusan yang berfungsi untuk mengidentifikasi standar diet untuk penelitian terkait gizi dengan menggunakan hewan pengerat sebagai hewan percobaan, dimana tujuan akhir kepengurusan ini adalah untuk menetapkan pedoman yang dapat membantu peneliti dengan pengalaman yang kurang dalam penelitian eksperimental agar merasa nyaman dan aman terhadap aspek zat gizi hewan coba dalam penelitian mereka (Reeves *et al.*, 1993).

Tujuan standarisasi diet tikus adalah untuk mengurangi variasi yang dapat disebabkan oleh pengaruh makanan yang dikonsumsi tikus selama penelitian

sehingga dapat menghasilkan hasil yang akurat dan tidak bias. Selain itu, diet yang terstandar dapat digunakan sebagai acuan perlakuan untuk setiap hewan coba. Oleh karena itu dibuatlah diet AIN-76 sebagai standar diet tikus untuk percobaan. Pada sebuah workshop tahun 1982, *Nutritional Standards for Laboratory Animal Diet*, yang disponsori oleh *International Committee for Laboratory Animal Science*, menghasilkan revisi dari diet sebelumnya yang kemudian disebut AIN-76A. Pada tahun 1988 dilakukan pertemuan *Federation of American Societies for Experimental Biology* (FASEB) yang dipimpin oleh Forrest Nielsen. Pertemuan ini mendiskusikan perlunya membarui pedoman modifikasi standar diet yang ada. Karena pertimbangan zat gizi, maka terbentuklah suatu revisi diet standar yang ada dengan nama AIN-93. Untuk AIN-93 diklasifikasikan menjadi 2 kelompok yaitu AIN-93M dan AIN-93G. Perbedaannya adalah AIN-93G direkomendasikan untuk tikus yang sedang dalam masa pertumbuhan, hamil, dan menyusui. Sedangkan AIN-93M yang memiliki kadar protein dan lemak yang rendah digunakan untuk tikus tidak dalam kondisi tertentu (Reeves *et al.*, 1993). Selain diet standar di atas, ada juga diet standar lain yang khusus dibuat untuk tujuan penelitian tertentu di antaranya diet aterogenik yang digunakan untuk model hewan coba aterosklerosis, HFD yang dapat digunakan untuk menginduksi keadaan obesitas (Gadja, 2008; Murwani *et al.*, 2006) serta diet lainnya.

2.5.1 Diet Normal Standar AIN-93 M

Pada diet normal standar AIN-93M selain memperhatikan zat gizi makro yang dibutuhkan oleh hewan pengerat, juga memperhatikan vitamin dan mineral yang dibutuhkan sehingga daya tahan tubuh hewan coba atau pengerat lebih terjaga. Komposisi bahan yang digunakan dalam formulasi diet

normal standar AIN-93M dalam 1 kg diet dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Kandungan energi dalam diet normal standar AIN-93M antara lain protein 14,1%, karbohidrat 75,9%, dan lemak 10%. Daftar kandungan elemen mineral yang direkomendasikan dapat dilihat pada **Tabel 2.2** dan kandungan vitaminnya pada **Tabel 2.3** (Reeves *et al.*, 1993).

Tabel 2.1 Formulasi diet normal standar AIN-93M

Nama bahan	g/kg diet
Pati jagung	465,692
Kasein ($\geq 85\%$ protein)	140,000
Pati jagung terdekstrinisasi (90-94% tetrasakarida)	155,000
Sukrosa	100,000
Minyak kedelai	40,000
Serat	50,000
Mineral mix (AIN-93M-MX)	35,000
Vitamin mix (AIN-93-VX)	10,000
L-Cystine	1,800
Choline bitartrate (41,1% choline)	2,500
Tert-butylhydroquinone (TBHQ)	0,008

(Reeves *et al.*, 1993)

Tabel 2.2 Formulasi mineral mix (AIN-93M-MIX)

No		g/kg mix
Essential mineral element		
1.	Calcium carbonate, anhydrous, 40.04% Ca	357.00
2.	Potassium phosphate, monobasic, 22.76% P 28.73% K ¹	196.00
3.	Potassium citrate, tri-potassium, monohydrate, 36.16% K	70.78
4.	Sodium chloride, 39.34% Na, 60.66% Cl	74.00
5.	Potassium sulfate, 44.87% K; 18.39% S	46.60
6.	Magnesium oxide, 60.32% Mg	24.00
7.	Ferrie citrate, 16.5% Fe	6.06
8.	Zinc carbonate, 52.14% Zn	1.65
9.	Manganous carbonate, 47.79% Mn	0.63
10.	Cupric carbonate, 57.47% Cu	0.30
11.	Potassium iodate, 59.3% I	0.01
12.	Sodium selenate, anhydrous, 41.79% Se	0.01025
13.	Ammonium paramolybdate, 4 hydrate, 54.34% Mo	0.00795
Potentially beneficial mineral element		
1.	Sodium meta-silicate, 9 hydrate, 9.88% Si	1.45
2.	Chromium potassium sulfate, 12 hydrate, 10.42% Cr	0.275
3.	Lithium chloride, 16.38% Li	0.0174
4.	Boric acid, 17.5% B	0.0815
5.	Sodium fluoride, 45.24% F	0.0635
6.	Nickel carbonate, 45% Ni	0.0318
7.	Ammonium vanadate, 43.55% V	0.0066
8.	Powdered sucrose	221.026

(Reeves *et al.*, 1993)**Tabel 2.3** Formulasi vitamin mix (AIN-93M-VX)

No	Bahan	g/kg mix
1.	Asam Nikotinat	3,000
2.	Ca Pantotenat	1,600
3.	Piridoksin-HCl	0,700
4.	Tiamin-HCl	0,600
5.	Riboflavin	0,600
6.	Asam Folat	0,200
7.	Biotin	0,020
8.	Vitamin B12 (sianokobalamin) (0,1% dalam manitol)	2,500
9.	Vitamin E	15,00
10.	Vitamin A	0,800
11.	Vitamin D3	0,250
12.	Vitamin K	0,075
13.	Tepung sukrosa	974,655

(Reeves *et al.*, 1993)

2.5.2 Diet Aterogenik Modifikasi Standar AIN-93M

Diet aterogenik adalah diet yang digunakan untuk membuat kondisi aterosklerosis pada hewan coba (Murwani *dkk.*, 2006). Untuk membuat tikus aterosklerosis tidak cukup hanya dengan memberikan HFD tetapi perlu ada penambahan asam kolat dan kolesterol. HFD sendiri merupakan diet yang diberikan untuk menjadikan hewan coba sebagai model obesitas (Handayani *et al.*, 2011). Untuk komposisi dan kandungan zat gizi HFD modifikasi standar AIN-93M dalam penelitian Handayani *et al.*, (2011) dapat dilihat pada **Tabel**

2.4.

Tabel 2.4 Komposisi HFD modifikasi standar AIN-93M

Nama bahan	g/kg	Nilai gizi
Pati jagung	220	
Sukrosa	183	
Minyak kelapa murni	110	
Kurvet	110	Karbohidrat : 32 % total energi
Minyak kedelai	52	Lemak : 50 % total energi
Gelatin	67	Protein : 16 % total energi
Kasein	119	Densitas energi: 4,47 kkal/g
CMC	53	
Mineral mix	70	
Vitamin mix	14	

(Handayani *et al.*, 2011)

Sedangkan tujuan dari penambahan asam kolat dan kolesterol pada HFD adalah untuk merubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik, yaitu menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL plasma (Srivastava *et al.*, 2000). Penelitian pada tahun 2012 yang dilakukan oleh El-Shatanovi *et al.*, menunjukkan adanya peningkatan kadar LDL dan kolesterol total pada tikus yang diberi diet HFD dngan penambahan asam kolat 0,3% dan kolesterol 1% dibandingkan tikus yang diberi diet normal (El-Shatanovi *et al.*, 2012). Hasil yang sama juga ditunjukkan pada penelitian Elbandy dan Ashoush (2012) dengan diet dasar hiperkolestrolemia dan penambahan asam kolat 0,3% dan

kolesterol 1% (Elbandy dan Ashoush, 2012). Selain dari dua penelitian tersebut, peningkatan kadar LDL dan kolesterol total juga muncul pada penelitian menggunakan diet hiperkolesterolemia dengan penambahan asam kolat 0,3% dan kolesterol 1% (Pisulewski *et al.*, 2006).

Dari penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa dengan kombinasi komposisi tersebut, efek HFD berupa kondisi obesitas pada tikus yang berkembang menjadi dislipidemia dengan peningkatan kadar LDL dapat semakin diperparah kenaikan LDLnya dengan adanya asam kolat dan kolesterol yang ditambahkan. Kondisi ini akan berujung pada terjadinya aterosklerosis pada tikus/hewan percobaan. Oleh karena itu, diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M merupakan diet aterogenik yang terbuat dari modifikasi komposisi HFD yang digunakan dalam penelitian Handayani *et al.*, (2011) yang ditambahkan dengan asam kolat 0,3% dan kolesterol 1% (Handayani *et al.*, 2011; Elbandy dan Ashoush, 2012; El-Shatanovi *et al.*, 2012).