

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi fisiologis tubuh yang menunjukkan adanya kenaikan kadar kolesterol total dalam darah yang dicirikan dengan peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) akibat asupan makanan dan perombakan kolesterol yang tidak seimbang (Schlesinger, 2011). Kenaikan kadar kolesterol menimbulkan konsentrasi kolesterol endogen meningkat dan menekan pembentukan reseptor LDL, apabila jumlah reseptor LDL pada hepatosit berkurang, LDL akan terkonsentrasi tinggi dan mengalami oksidasi, keadaan ini dapat memicu terjadinya inflamasi (Camhbell, 2002).

Menurut Hanafiah, *et al.*, (2007) Hiperkolesterolemia memiliki tingkat kematian yang tinggi, sesuai dengan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) kematian akibat penyakit kardiovaskuler yang terutama disebabkan oleh hiperkolesterolemia menunjukkan angka kematian di Indonesia meningkat yaitu 9,75% (1985), 16,4% (1992), 19,8 % (1995), dan menjadi 26,3 % (2004), berdasarkan SKRT 2005 kematian akibat penyakit ini terjadi pada orang dewasa dengan usia < 20 tahun. Menurut Khomsan (2005) penderita hiperkolesterolemia umumnya memiliki kadar kolesterol total >240 mg/dl dan LDL >160 mg/dl, sedangkan pada hewan coba tikus putih memiliki kadar kolesterol total > 40-130 mg/dl (Murray *et al.*, 2003 & Bauer, 2004). Berikut Tabel 2.1 yang merupakan nilai normal kolesterol total dari berbagai hewan.

**Tabel 2.1** Kadar normal kolesterol total berbagai hewan (Mayer dan Harvey, 2004)

Spesies	Kadar Kolesterol (mg/dl)
Anjing	110-266
Kucing	38-186
Kuda	50-143
Sapi	87-254
Babi	36-54
Kambing	50-140

Menurut Mayer dan Haervey (2004) nilai kolesterol total memiliki perbedaan antar spesies, hal ini disebabkan beragam faktor seperti pakan yang dikonsumsi, aktivitas tubuh, dan respon tubuh terhadap metabolisme lipid di dalam tubuh.

Menurut Soeharto (2004) patomekanisme terjadinya hiperkolesterolemia ditandai dengan lemak yang berasal dari makanan mengalami proses pencernaan di dalam usus menjadi asam lemak bebas, Trigliserida (TG), fosfolipid, dan kolesterol. Hasil pencernaan lemak dalam usus akan diserap dalam bentuk kilomikron, sisa pemecahan kilomikron ini akan dikelompokkan menjadi kolesterol bebas yang akan dibawa ke hati. Proses pengeluaran kolesterol dalam hati dibantu melalui jalur sintesis asam empedu, apabila semakin banyak kolesterol diproduksi maka asam empedu akan meningkat (Murray, *et al.*, 2003). Kolesterol yang dibuang di kantong empedu bersama trigliserida bersekutu dengan membentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), selanjutnya dipecah oleh enzim lipoprotein menjadi *Intermediet Density Lipoprotein* (IDL) yang tidak dapat bertahan lama langsung akan diubah menjadi *Low Density Lipoprotein* (LDL), asam empedu yang terkonjugasi menjadi garam empedu yang tidak

digunakan diserap kembali dan digunakan sebagai zat pembentuk sterol feses yang dikeluarkan bersama feses (Clarenburgh, 2001). Tingginya kolesterol dalam darah menunjukkan tingginya kolesterol total dalam darah, dimana LDL dan kolesterol total sebagai faktor utama hiperkolesterolemia (Soeharto, 2004).

## 2.2 Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia

Hewan percobaan tikus memiliki dua spesies, yaitu tikus hitam (*Rattus rattus*) dan tikus putih (*Rattus norvegicus*). Spesies yang paling sering digunakan sebagai hewan model pada penelitian mengenai manusia maupun mamalia lain adalah *Rattus norvegicus* (Sirois, 2005). (*Rattus norvegicus*) adalah hewan percobaan yang paling banyak digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan pencernaan (Hofsetter, *et al.*, 2005). Tikus (*Rattus norvegicus*) tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lubang dan tikus putih tidak mempunyai kandung empedu (Mangkoewidjojo, 1988). Tikus (*Rattus norvegicus*) digunakan sebagai hewan coba karena mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Ciri-ciri morfologi tikus (*Rattus norvegicus*) antara lain memiliki kepala besar, ekor yang pendek, memiliki berat 150-200 gram, panjang tubuh 18-25 cm, kepala dan telinga berukuran 20-23 mm (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Umur merupakan variabel pengganggu, yang dapat dikendalikan dengan cara menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) berumur  $\pm 3$  bulan untuk membuat sampel homogen dan menghindari peningkatan kolesterol total darah karena faktor umur (Witjaksono, 2001). Tikus relatif

resisten terhadap perubahan profil lipid karena tikus cenderung hipertiroid (Murray, *et al.*, 2003).

Klasifikasi tikus putih menurut (Myres dan Armitage, 2004).

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Subordo : Sciurognathi  
Famili : Muridae  
Sub-Famili : Murinae  
Genus : *Rattus*  
Spesies : *Rattus norvegicus*

Penggunaan tikus (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia berjenis kelamin jantan dikarenakan tikus jantan memiliki kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh dan lebih stabil dibanding tikus betina (Sugiyanto, 1995). Penggunaan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan menurut penelitian Gani *et al* (2013), apabila diinduksi diet hiperkolesterol selama 14 hari diketahui dapat mempengaruhi metabolisme kolesterol pada fisiologis tikus, yang ditandai dengan peningkatan kadar trigliserida dan kolesterol tinggi yang dapat menyebabkan hiperkolesterolemia. Selain itu penggunaan tikus jantan diutamakan karena pada tikus betina memiliki hormon estrogen sehingga dapat mempengaruhi penurunan kadar kolesterol total darah (Sherwood, 2001). Menurut Alviani (2007)

pemberian pakan kolesterol 1,25% dapat meningkatkan konsentrasi lipid peroksida tikus hingga lima kali dari konsentrasi lipid peroksida normal. Kadar normal kolesterol total tikus 40-130 mg/dl (Murray *et al.*, 2003). Menurut (Uttaminingsih, 2009), faktor genetik juga berperan dalam menentukan kadar kolesterol, dengan demikian pemilihan subjek penelitian yang berasal dari galur sama (*strain Wistar*) menggunakan sistem randomisasi sehingga diharapkan faktor distribusi faktor genetik merata dalam kelompok penelitian.

### **2.3 Patomekanisme hubungan Hiperkolesterolemia dengan Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamic Piruvic Transaminase (SGPT)**

Hati merupakan pusat dari metabolisme antara (*intermediary metabolism*) dari tubuh. Fungsi utama dari hati adalah fungsi metabolisme, penyerapan nutrisi dari saluran pencernaan ke dalam pembuluh darah, metabolit dan nutrisi ke bagian tubuh yang membutuhkan, detoksifikasi, dan ekskresi metabolit-metabolit yang tidak diperlukan oleh tubuh melalui kelenjar empedu. Fungsi metabolisme yang dilakukan oleh hati mencakup metabolisme karbohidrat, metabolisme lipid, metabolisme asam amino dan protein, penyimpanan, serta proses biotransformasi (Koolman, 2005). Hati juga merupakan tempat sintesis kolesterol, metabolisme lemak, pembentukan asam empedu, pengaktifan hormon tiroid serta metabolisme hormon steroid, dan protein sehingga penyakit pada hati dapat mempengaruhi kadar kolesterol darah (North-Lewis P, 2008).

Kelainan yang terjadi pada hati dapat dilihat dari kerusakan fungsi hati pada hasil serum darah akibat dari peningkatan bilirubin total hati. Kegagalan dan

gangguan dalam proses detoksikasi pada hati dapat diketahui dengan meningkatnya enzim transaminase, yaitu *Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamat Pyruvate Transaminase* (SGPT). Kegunaan enzim tersebut penting diantaranya sebagai diagnostik karena dialirkan ke pembuluh darah vena dan aktivitasnya dapat diukur sehingga menunjukkan penyakit hati beserta tingkat keparahannya (Ganong, 2008). SGOT dikeluarkan dalam darah ketika hati rusak, SGOT juga disebut *aspartate aminotransferase* (AST). Hati yang dikatakan rusak bila jumlah enzim tersebut dalam plasma lebih besar dari kadar normalnya. Enzim SGPT berperan sebagai deaminasi asam amino, pengeluaran gugus amino dari asam amino (Hayes, 2007). Enzim SGPT paling banyak ditemukan dalam hati, sehingga untuk mendeteksi penyakit pada hati, SGPT dianggap lebih spesifik dibanding SGOT. Peningkatan kadar SGOT dan SGPT akan terjadi jika adanya pelepasan enzim secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan nekrosis sel hati (Wibowo, *et al.*, 2008).

Keadaan hiperkolesterolemia menimbulkan stress oksidatif dengan memproduksi senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS). Stres oksidatif ini dapat menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya serangkaian reduksi asam lemak sehingga merusak organisasi membran dan organela sel. Membran sel sangat penting bagi fungsi reseptor, terjadinya peroksidasi lipid membran akan mengakibatkan hilangnya fungsi sel secara total, dan jika hal ini berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dan kematian sel hati (Evans, 2000) dan (Mahdi, *et al.*, 2007).

Hubungan hiperkolesterolemia dengan enzim SGOT dan SGPT dilihat dari fungsi hati yang merupakan detoksifikasi racun di dalam tubuh dan tempat sintesa dari berbagai komponen protein, pembekuan darah, kolesterol, ureum, serta tempat pembentukan dan penyaluran asam empedu dan penghancuran (degradasi) hormon-hormon steroid seperti estrogen (Wijaya S, 2011). Hiperkolesterolemia dapat meningkatkan kadar asam empedu yang akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS), bila kondisi radikal bebas terjadi secara berlebihan enzim antioksidan tubuh tidak akan mengatasinya (Wresdiyati et al, 2006). Peningkatan asam empedu pada hati menimbulkan efek gangguan ekskresi dan transportasi yang mempengaruhi sel hati yang mengakibatkan gangguan metabolisme lemak dan meningkatnya serum SGOT dan SGPT dalam darah (Guyton, 2006). Tabel 2.2 menunjukkan kadar normal SGOT dan SGPT pada beberapa hewan.

**Tabel 2.2** Kadar normal SGOT dan SGPT (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988)

Jenis Hewan	Kadar normal SGOT (IU/l)	Kadar normal SGPT (IU/l)
Marmut	26,5 – 67,5	24,8 – 58,6
Kelinci	42,5 – 98,0	48,5 – 78,9
Hamster	30 – 190	25 – 190
Tikus	17,5 – 30,2	45,7 – 80,8
Mencit	2,1 – 23,8	23,2 – 48,4
Kera	20 – 40	35 – 55

#### 2.4 Patomekanisme Hubungan Hiperkolesterolemia dengan Profil Pita Protein Serum

Protein merupakan unsur dalam makanan yang terdiri dari asam amino yang mengandung unsur karbon, hidrogen, nitrogen, dan belerang yang tidak dimiliki oleh lemak dan karbohidrat (Winarno, 2002). Pemberian diet hiperkolesterol pada tikus (*Rattus norvegicus*) menyebabkan adanya proses emulsifikasi protein.

Proses ini akan mempengaruhi bentuk globula-globula protein dan berat molekul protein. Apabila kapasitas emulsi tidak stabil maka kemampuan protein dalam mengemulasikan lemak agar terlarut menjadi partikel yang kecil dan dapat diserap oleh tubuh berkurang, kejadian ini disebut flokulasi dan koagulasi yang disebabkan oleh fenomena ukuran droplet lemak tinggi.

Pada hiperkolesterolemia peningkatan kadar LDL menimbulkan efek radikal bebas yang mempengaruhi profil protein dalam serum darah (Kurniati, 2002).

Perubahan profil protein dapat dilihat ketika terjadi peningkatan peroksidasi lipid yang menimbulkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS menyebabkan akumulasi LDL teroksidasi menjadi busa yang dapat mempengaruhi pertumbuhan faktor luka dan inflamasi, kondisi inflamasi ini diinisiasi oleh sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan interleukin-1 (IL-1) yang dihasilkan oleh makrofag untuk menginisiasi produksi protein penanda inflamasi (Tseng, *et al.*, 2004). Castro dan Gourley (2010) menambahkan, berbagai macam protein serum penanda inflamasi yaitu haptoglobin (Hp), CRP dan ferritin tidak hanya dijadikan sebagai penanda inflamasi namun juga mencerminkan adanya penyakit kelainan autoimun, infeksi serta penyakit lainnya. Salah satu protein serum penanda inflamasi haptoglobin (Hp) memiliki fungsi untuk mengikat hemoglobin bebas yang dilepaskan eritrosit ke dalam sirkulasi darah akibat adanya kerusakan jaringan dan peradangan yang dilanjutkan dengan membentuk kompleks haptoglobin-hemoglobin (Hp-Hb) (Mishra, *et al.*, 2010).

Keberadaan protein ini memiliki kepentingan klinis, peningkatan protein penanda

inflamasi dapat dijadikan sebagai adanya kondisi patologis baik pada manusia maupun hewan (Ulutas, *et al.*, 2007).

*Het Shock Protein* (HSP) adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response* (HSR). HSR adalah suatu respon genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded protein*. HSR merupakan suatu tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologik maupun yang berasal dari lingkungan (Westerheide SD *et al.*, 2005). HSP merupakan suatu *molecular chaperone* yang berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru atau pelipatan kembali protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak cukup parah dan dalam kasus kerusakan yang sangat berat, memisahkan protein yang rusak menjadi agregat yang lebih besar. Klasifikasi kelas-kelas HSP dilakukan berdasarkan ukuran molekul dan fungsinya. Ada subkelas HSP 100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 (*J-domain Proteins*) dan *Small Heat Shock Protein* (SHSP) (Lelj-Garolla B, *et al.*, 2006).

Eksresi HSP dapat diinduksi oleh berbagai macam stresor, diantaranya kenaikan temperatur logam-logam berat, *small molecule chemical toxicants*, infeksi, dan gangguan radikal bebas. Mutasi dan pengaruh lingkungan seperti peradangan, iskemia, luka dan pemulihan jaringan, kanker serta penyakit-penyakit neurodegeneratif juga diketahui berkaitan dengan ekspresi HSP abnormal (Westerheide SD, *et al.*, 2005).

## 2.5 Yogurt Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) sebagai Terapi Hiperkolesterolemia

Air susu merupakan bahan pakan hasil pemerahan sempurna dari ambing sapi atau kambing yang sehat tanpa ditambahkan atau dikurangi zat lain dan sumber gizi bagi konsumen. Susu kambing adalah cairan putih yang dihasilkan dari hewan ruminansia kambing (*caprinae*) (Damayanti dan Bemardinus, 2002). Susu kambing memiliki lemak yang terdiri atas globular yang lebih kecil dengan proporsi asam lemak rantai pendek dan rantai sedang dalam jumlah tinggi daripada susu sapi, sehingga susu kambing lebih mudah dicerna sedangkan struktur protein memiliki kasein yang dikandung susu kambing komposisinya adalah 19% alfa S-1 kasein, 21% alfa S-2 kasein dan 60% beta. Kasein susu kambing memiliki kandungan glisin, arginin serta sulfur yang lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi yang mudah sekali dicerna di dalam tubuh (Maheswari dan Ronny, 2008).

**Tabel 2.3** Komposisi Gizi Susu Kambing Peranakan Etawa (Pana, 2004)

Komposisi gizi	Kandungan/100 gram susu
Air	83,0-87,5 g
Karbohidrat	4,6 g
Energi	67,00 kkal
Protein	3,3 – 4,9 g
Lemak	4,0 – 7,3 g
Kalsium	129,0 mg
Fosfor	106,0 mg
Vitamin A	185,0 IU ( <i>International Unit</i> )
Tiamin	0,04 mg
Riboflavin	0,14 mg
Niasin	0,30 mg
Vitamin B12	0,07 mg

*Yogurt* merupakan produk olahan susu yang dihasilkan dari proses fermentasi. Fermentasi merupakan proses metabolisme dari karbohidrat dengan senyawa lainnya yang membutuhkan proses oksidasi secara parsial dengan melepaskan energi tanpa akseptor elektron eksternal sehingga membutuhkan akseptor final berupa senyawa organik yang berasal dari pemecahan karbohidrat (Jay, *et al.*, 2005). *Yogurt* susu kambing memiliki banyak manfaat yang baik di dalam tubuh antara lain mengatur proses pencernaan keseimbangan mikroba bakteri di dalam usus, sebagai antidiare, sebagai anti kanker, meningkatkan pertumbuhan dan mengatur kadar kolesterol di dalam darah (Astawan, 2008). Kandungan *yogurt* susu kambing memiliki fungsi sebagai antiinflamasi dan sebagai immunosupresor yang berasal dari *bioactive peptida* yang berupa *Lactoferrin*. *Lactoferrin* bekerja untuk mengatur proses inflamatori dan sistem imun (Ebringer, *et al.*, 2008).

Kandungan probiotik *yogurt* ditemukan adanya tiga jenis bakteri yaitu jenis *Diplostertococcus*, *rod/coccal shape Lactobacillus*, dan *rod shape Lactobacillus*. Seiring berkembangnya *yogurt* terus dilakukan identifikasi bahwa adanya jenis bakteri yaitu *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus bulgaricus* (Robinson dan Tamime, 1999). Bakteri ini termasuk Bakteri Asam Laktat (BAL) termofilik yang tumbuh pada suhu 40-45°C. Perkembangan BAL memiliki karakteristik bervariasi karena adanya proses alami seperti mutasi, transformasi, konjugasi dan transduksi plasmid dan/atau intraseluler. Penggunaan kebutuhan konsumsi jumlah minimal strain probiotik yang dapat digunakan dalam produk makanan sebesar  $10^6$  CFU/mL dan jumlah konsumsi setiap hari sekitar  $10^9$  CFU/mL, hal ini dikarenakan untuk

keseimbangan penurunan jumlah bakteri probiotik saat disalurkan pencernaan (Shah, 2007). Beberapa jenis BAL memiliki dinding sel yang mampu mengikat kolesterol dalam usus halus sebelum kolesterol diserap oleh tubuh (Surono, 2004; Ooi dan Liong, 2010). Keberadaan BAL dalam saluran pencernaan dapat memodulasi saluran pencernaan menjadi lebih stabil, mencegah pertumbuhan bakteri patogen, dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh terhadap penyakit (Vaughan, *et al.*, 2002). Bakteri asam laktat dapat memproduksi enzim yang disebut *Bile Salt Hydrolase* (BSH). Enzim ini dapat bekerja mengurangi konjugasi garam empedu sehingga akan meningkatkan asam empedu bebas yang tidak mudah diserap oleh usus halus dibanding dengan asam empedu konjugasi. Upaya untuk menyeimbangkan jumlah asam empedu tubuh, dibutuhkan kolesterol yang diambil dari darah yang berfungsi sebagai precursor, sehingga kadar kolesterol dapat diturunkan secara total (Lee dan Salminen, 2009). Bakteri probiotik dapat berfungsi mengontrol peningkatan kadar kolesterol dan menyesuaikan kadar kolesterol di dalam darah. Kultur atau mikroba yang ditambahkan ke dalam cairan susu akan menstimulasi perubahan cairan susu tersebut menjadi *yogurt* yang disebut dengan starter. Beberapa peneliti mengkatagorikan bahwa *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. acidophylus* dan *Bifidobacterium* selain termasuk bakteri asam laktat dapat pula dikelompokkan kedalam kelompok probiotik yaitu kelompok mikroba hidup yang dapat memperbaiki kondisi saluran pencernaan sehingga akan meningkatkan sistem imun tubuh (Adriani, 2005).

Konsumsi probiotik seperti bakteri asam laktat merupakan cara yang potensial untuk mengobati dan mencegah hiperkolesterolemia (Portugal, *et al.*, 2006). Salah

satunya *Lactobacillus bulgaricus* yang dapat digunakan sebagai starter kultur susu fermentasi, yang memiliki potensi sebagai anti kolesterol yang diduga adanya eksopolisakarida (EPS) (Pigeon, *et al*, 2002). Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* mampu mengikat kolesterol di dalam aliran darah yang selanjutnya dibawa ke usus dan dibuang bersama feses, mekanisme reduksi kolesterol diawali dengan BAL menghambat sintesa enzim kolesterol lalu bakteri memfasilitasi penghapusan kolesterol dalam tinja, kemudian bakteri menghambat penyerapan kolesterol kembali ketubuh dengan mengikat kolesterol, selanjutnya bakteri mengganggu sintesis garam empedu yang merupakan produk metabolisme kolesterol dan terjadi asimilasi asam laktat (Hardiningsih dan Nurhidayat, 2006).

