

**PERANAN INTERLEUKIN-1 DALAM PEMBENTUKAN LESI ATEROSKLEROTIK PADA TIKUS PUTIH YANG DIBERI DIET ATEROGENIK**

**THE ROLE OF INTERLEUKIN-1 ON ATHEROSCLEROTIC LESION FORMING IN RAT THAT FED ATHEROGENIC DIET**

Dhirgo Aji<sup>1</sup>, Yanuartono<sup>1</sup> dan Guntari Titik Mulyani<sup>1</sup>

**ABSTRACT**

Atherosclerosis is a disease characterized by thickening of the artery wall and narrowing of its lumen. Although, people in the world have known that atherosclerosis is caused by high blood plasma concentration of LDL, and hardening and narrowing of arterial wall is due to various depositions including lipids, cholesterol and calcium, but little have known that atherosclerosis is an inflammatory process. Since interleukin-10 has known as one of mediator of inflammatory reaction that remains in atherogenic process, we assumed that another sitokin like interleukin-1 is also involved in that process. The purpose of this research was to study the interleukin-1 in atherogenesis in rat. Twenty male and female Sprague Dawley rats (10 each), 2 months of age, were used as experimental animals. Rats were weighed than allotted into 4 groups of 5 each : group I was male rats that fed basal diet, group II was male rats that fed atherogenic diet, group III was female rats that fed basal diet and group IV was female rats that fed atherogenic diet. After 3 months on experimental diet, all animals were weighed, the blood sample was collected into the EDTA tube for cholesterol and triglyceride levels, total white blood cell (WBC), monocyte and lymphocyte. All animals were then killed, the heart was taken out, saved into the bottle with 10 % of formaldehyde, for histopathologic and immunohistochemistry analyses. The result of the analyses of variance for factorial design showed that there were significant differences ( $P < 0.05$ ) in body weight, blood total cholesterol, and triglyceride concentrations, but there were no significance differences in total WBC, monocyte and lymphocyte. The histopathology analyses of the heart showed that rats in group II and IV have atheroma plaque, degenerative and necrosis of myocardium and the analysis of immunohistochemistry using Streptavidin-Biotin method showed that all heart tissues have positive interleukin-1. Based on the result of this study, it can be concluded that interleukin-1 involved in the atherosclerotic process.

Key words : Atherosclerosis, Interleukin-1, Sprague Dawley Rats, Streptavidin-Biotin

**PENGANTAR**

Aterosklerosis adalah penyakit jantung yang saat ini termasuk dalam golongan penyebab kematian nomor satu di dunia. Penyakit yang disebabkan oleh adanya sumbatan pembuluh darah koroner pada jantung ini, merupakan suatu penyakit degeneratif yang kompleks karena melibatkan berbagai unsur mulai dari diet yang dikonsumsi hingga keterlibatan berbagai mediator pada jaringan tubuh. Penyebab utama terjadinya aterosklerosis adalah konsumsi makanan yang mengandung lemak dan atau kolesterol tinggi (aterogenik). Tingginya kadar lemak dan kolesterol dalam darah akan meningkatkan kadar LDL (*Low density lipoprotein*) kolesterol, yang apabila teroksidasi akan terbentuk LDL-oksidasi yang kemudian dibawa oleh makrofag ke dinding pembuluh darah koroner dan menyebabkan timbulnya plak ateroma. Tumbuhnya ateroma dalam pembuluh darah akan mengakibatkan lumen pembuluh darah menjadi sempit, sehingga jantung yang metabolismenya bersifat aerob murni, menjadi kekurangan oksigen, menimbulkan iskhemia jaringan jantung dan akhirnya menyebabkan kematian jaringan jantung. Mekanisme terbentuknya lesi aterosklerosis sebenarnya

---

<sup>1</sup> Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

merupakan mekanisme yang sangat rumit, mengingat berbagai faktor ikut berperan dalam proses pembentukan lesi tersebut. Aviram *et.al* (1998) meneliti interaksi antara platelet, makrofag dan lipoprotein dalam menyebabkan timbulnya hiperkolesterolemia. Dari penelitian tersebut diketahui adanya keterlibatan LDL-OX (Low density lipoprotein teroksidasi), HDL (High density lipoprotein), EDRF (Endothelium Derived Relaxation Factor), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), Interleukin, ROS (Reactive Oxygen Species), SR (Scavenger Receptors), MMP (Metalloproteases) dan CE (Cholesterol Esters). Selanjutnya Mallat *et.al* (1999) mengemukakan bahwa aterosklerosis adalah suatu proses peradangan kronis dari dinding arteri yang menciri dengan adanya akumulasi lipida, sel makrofag, limfosit, otot polos, dan matriks ekstraseluler. Proses peradangan tersebut juga berperan dalam pembentukan plak pembuluh darah pada berbagai fase. Mallat *et.al* (1999) selanjutnya telah membuktikan keterlibatan interleukin 10 pada setiap pembentukan lesi aterosklerotik. Hasil penelitian yang telah diungkapkan oleh Mallat *et.al* (1999) tersebut telah menimbulkan adanya dugaan tentang kemungkinan keterlibatan berbagai mediator peradangan lainnya seperti *IL-1*, *TGF  $\beta$  1*, *TNF* atau mediator lain yang aktif dalam proses peradangan lokal atau umum untuk membentuk plak aterosklerotik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keterlibatan interleukin-1 (*IL-1*) dalam proses pembentukan lesi aterosklerotik pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi dengan diet aterogenik.

## CARA PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan penelitian berupa 20 ekor tikus *Sprague Dawley* (SD) (10 ekor jantan dan 10 ekor betina), berumur rata-rata 2 bulan, kandang tunggal percobaan, pakan basal (mengandung lemak normal) dan pakan aterogenik (mengandung lemak tinggi) dari Laboratorium Pakan, Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, timbangan badan tikus, *sputi disposable* dan tabung darah EDTA, Ultra sentrifuse, Spektrofotometer, autohistotechnicon, seperangkat peralatan deparafinasi dan rehidrasi jaringan, Kit imunohistokimia untuk *IL-1 $\beta$*  dari *Santa Cruz Biotechnology*, California yang dilengkapi dengan bloking serum, antibodi primer, antibodi sekunder, pewarna kromogen dan hematoksilin serta *mounting media*, larutan kimia : xylene, etanol absolut, etanol 95%, etanol 50%, metanol absolut,  $H_2O_2$ , akuades, PBS, gelas obyek, gelas penutup, mikropipet, *digital timer* dan bahan-bahan lain yang menunjang.

### Cara Kerja

Materi penelitian adalah 20 ekor tikus *Sprague Dawley* (SD) jantan dan betina berumur 2 bulan, yang berasal dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada. Rancangan acak lengkap pola faktorial dipergunakan dalam penelitian ini. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok secara acak terdiri dari 2 kelompok jantan masing-masing 5 ekor tikus dan 2 kelompok betina juga masing-masing 5 ekor tikus. Kelompok I adalah kelompok kontrol jantan: yaitu kelompok tikus yang diberi pakan basal yang mengandung lemak normal, kelompok II adalah kelompok perlakuan jantan, yaitu kelompok tikus yang diberi pakan lemak tinggi, kelompok III adalah kelompok tikus betina kontrol, yaitu kelompok tikus betina yang diberi pakan basal dan kelompok IV adalah kelompok betina perlakuan, yaitu kelompok tikus betina yang diberi pakan tinggi lemak. Susunan ransum bisa dilihat pada Tabel 1 .

Tikus ditimbang berat awalnya, kemudian dipelihara selama 3 bulan dengan mendapatkan jatah ransum sesuai kelompok masing-masing dan minum secara *ad libitum*. Pada akhir penelitian, tikus ditimbang berat badannya, kemudian dibius dengan ketamin-klorpromasin dosis 90 mg/kg BB ketamin dan diambil darahnya secara intra-kardial untuk pemeriksaan leukosit darah beserta jumlah monosit dan limfosit; profil kolesterol meliputi total kolesterol dan trigliserida, kemudian tikus dimatikan. Jaringan jantung diambil untuk dibuat preparat histopatologis dengan pengecatan Hematoksilin dan Eosin dan preparat imunohistokimia. Pembuatan preparat imunohistokimia dengan metoda streptavidin-biotin untuk memeriksa adanya

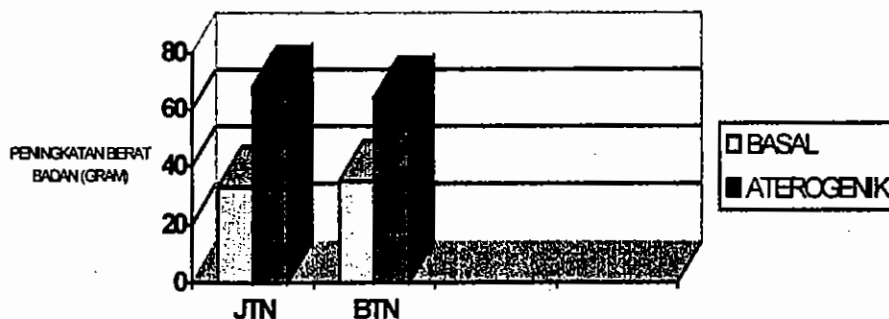
interleukin-1 dalam jaringan adalah sebagai berikut : jaringan yang telah dipotong dan difiksasi pada gelas obyek, kemudian dideparafinasi dan rehidrasi berturut-turut dalam larutan Xylene 5 menit (2x), Etanol absolut 3menit, etanol 95% 1 menit, dan etanol 50% 2menit. Selanjutnya preparat dicuci dengan aquades selama 1 menit. Preparat direndam dalam larutan PBS 0,01 M pH 7,1 selama 5 menit, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dalam methanol absolut 10 menit, selanjutnya direndam kembali dengan PBS selama 5 menit. Preparat ditetesi dengan *antibody biotinilated* selama 10 menit, kemudian kelebihan larutan dihilangkan. Tetesi preparat dengan streptavidin peroksidase selama 5 menit, selanjutnya diberi substrat kromogen selama 15 menit. Cuci preparat dengan aquades dan selanjutnya preparat diberi *counterstain* hematoksilin selama 3 menit. Cuci kembali preparat, larutan yang berlebihan dibuang, tetesi dengan mounting media dan selanjutnya ditutup dengan gelas penutup.

Tabel 1. Susunan ransum yang dipergunakan dalam penelitian

No	Bahan	Pakan basal (%)	Pakan Aterogenik (%)
1	Vitamin/ mineral	5	5
2	Selulose	5	5
3	Lemak Hewani	4,5	20,5
4	Kasein	25	25
5	Tepung Jagung	40,5	24,5
6	Sukrosa	20	20
Total :		100	100

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Peningkatan berat badan tikus percobaan menunjukkan hasil yang positif, kelompok tikus yang mendapatkan perlakuan pakan aterogenik rata-rata menunjukkan berat yang lebih tinggi dibandingkan kontrol (Gambar 1). Peningkatan berat badan baik pada jantan maupun pada betina, tidak menunjukkan adanya perbedaan. Artinya, dengan pola makan yang sama, maka baik jantan maupun betina mempunyai kesempatan yang sama untuk meningkatkan berat badannya (Tabel 2). Meskipun secara genetik tikus jantan mempunyai badan yang lebih besar, angka peningkatan laju berat badan tetap sama apabila diberikan pola diet dan volume diet yang sama. ( $P < 0,05$ ). Peningkatan berat badan lebih pada tikus perlakuan disebabkan karena diet yang diberikan mengandung lemak yang tinggi. Lemak merupakan cadangan energi terbesar yang terkandung dalam makanan. Menurut Soeharto (2000), 1 gram lemak mengandung 9 kkal, sementara karbohidrat hanya mengandung 4 kkal saja. Diet dengan lemak tinggi menyebabkan banyaknya energi yang kemudian disimpan pada jaringan dalam bentuk depo lemak, yang menyebabkan peningkatan berat badan secara berlebihan. Pada penelitian ini, semua kelompok tikus memiliki aktivitas yang sama, namun diet yang diberikan berbeda, dimana 1 kelompok mendapatkan diet normal, sedangkan kelompok yang lainnya diberi diet dengan kandungan lemak yang tinggi, menyebabkan jumlah energi yang tersisa, yaitu energi yang diperoleh melalui diet dikurangi dengan energi yang dipergunakan untuk aktivitas hidup, berbeda antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan baik pada jantan atau pada betina kelebihan tersebut kemudian disimpan sebagai lemak jaringan.



Gambar 1. Peningkatan berat badan tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik

Tabel 2. Analisis varians Peningkatan Berat Badan Tikus Percobaan yang diberi Diet Basal dan Aterogenik.

Sumber Variasi	df	SS	MS	F hitung	F Tabel 5%
Jenis kelamin	1	5,408	5,408	0,0075	4,49
Diet	1	5184,2	5184,2	7,174 *	
Interaksi	1	44,402	44,402	0,061	
Kesalahan	16	11562,088	722,63		
Total	19	16796,098			

Kadar total kolesterol darah tikus percobaan menunjukkan angka yang berbeda signifikan ( $P < 0,01$ ). (Tabel 3). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar total kolesterol berbeda antara tikus jantan dan betina (Gambar 2). Menurut Soeharto (2000), pemberian diet yang meningkatkan resiko terjadinya gangguan jantung terutama terjadi pada pria atau pada hewan jantan, karena pada wanita atau pada hewan betina peningkatan kadar kolesterol dijaga oleh keberadaan hormon estrogen. Resiko kejadian penyakit jantung pada wanita atau pada hewan betina akan meningkat pada masa menopause atau pada operasi pengambilan ovarium.

Tabel 3. Analisis varians pola faktorial Total Kolesterol tikus percobaan yang diberi Diet Basal dan aterogenik.

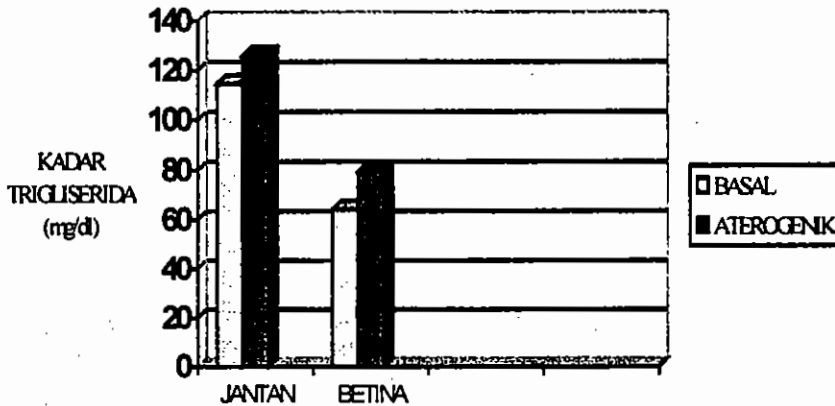
Sumber Variasi	df	SS	MS	F Hitung	F Tabel 5%&1%
Jenis kelamin	1	5206,76	5206,76	14,24 **	4,49
Diet	1	5337,95	5337,95	14,6 **	8,53
Interaksi	1	1523,91	1523,91	4,17	
Kesalahan	16	5848,61	365,54		
Total	19	17917,23			



Gambar 2. Kadar kolesterol tikus yang diberi diet basal dan aterogenik

Tabel 4. Analisis faktorial Kadar Trigliserida tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik.

Sumber Variasi	df	SS	MS	F hitung	F Tabel 5%&1%
Jenis kelamin	1	11701,67	11701,67	33,6 **	4,49
Diet	1	892,3143	892,3143	2,5	8,53
Interaksi	1	17,85	17,85	0,05	
Kesalahan	16	5575,7	348,48		
Total	19	18187,52			

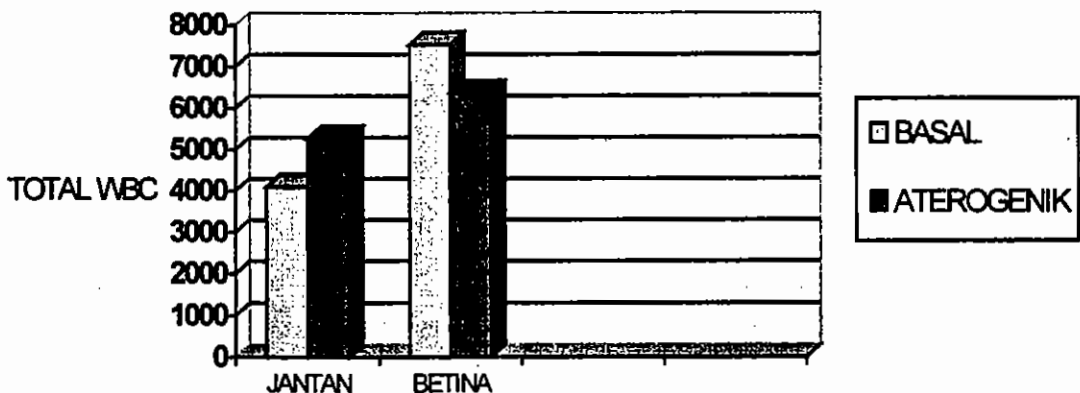


Gambar 3. Kadar trigliserida tikus yang diberi diet basal dan aterogenik

Serupa dengan kadar kolesterol, kadar trigliserida tikus percobaan juga menunjukkan adanya perbedaan kadar antara jantan dan betina ( $P < 0,01$ ) (Tabel 4), tikus jantan menunjukkan angka yang lebih tinggi (Gambar 3). Keadaan ini, serupa dengan masalah kolesterol, disebabkan oleh adanya peranan hormon estrogen dalam pencegahan kelebihan lemak dan kolesterol darah. Peranan ini kemudian akan menurunkan kejadian aterosklerosis pada hewan betina. Menurut Ganong (1999), keterlibatan estrogen dalam metabolisme lemak termasuk kolesterol dan trigliserida sehingga pada hewan betina atau wanita, pada manusia kejadian peningkatan kolesterol dan lemak dapat dicegah adalah karena estrogen meningkatkan katabolisme LDL dalam sirkulasi dengan cara meningkatkan jumlah reseptor dalam hati, dan menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah. Selama produksi estrogen masih ada, kejadian hiperkolesterolemia dan hiperlipidemia pada umumnya dapat dikendalikan tubuh.

Tabel 5. Analisis varians jumlah WBC tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik

Sumber Variasi	df	SS	MS	F hitung	F Tabel 5% & 1%
kelamin	1	25651125	25651125	6,06*	4,49
Diet	1	125	125	0,00003	8,53
Interaksi	1	3418647375	3418647375	808,34**	
Kesalahan	16	67675500	4229718,75		
Total	19	99586375			



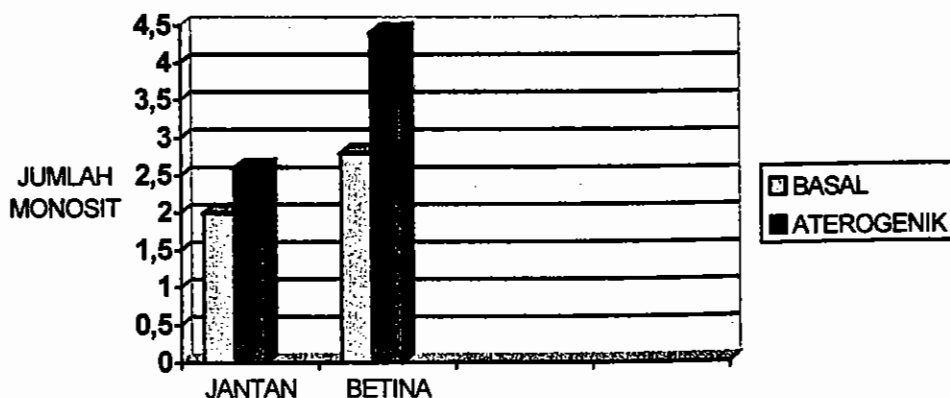
Gambar 4. Jumlah WBC tikus yang diberi diet basal dan aterogenik

Jumlah sel darah putih terhitung menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ) pada jenis kelamin yang berbeda (Tabel 5), namun tidak dipengaruhi oleh perlakuan pakan (Gambar 4). Pada dasarnya, secara fisiologis perbedaan jenis kelamin mempengaruhi fungsi fisiologis individu tersebut. Data-data menunjukkan perbedaan yang jelas antara individu jantan dan betina pada setiap penghitungan data fisiologik. Penyebab permasalahan ini kemungkinan adanya perbedaan faktor hormonal dan genetik yang mempengaruhinya.

Analisis faktorial dari jumlah monosit, menunjukkan bahwa jenis kelamin berpengaruh pada hasil penghitungan (Tabel 6). Jumlah monosit dari penelitian ini menunjukkan bahwa tikus betina baik yang diberi diet basal maupun yang diberi diet aterogenik memiliki jumlah monosit yang lebih tinggi dibandingkan yang jantan (Gambar 5). Hal ini mungkin berkaitan dengan mekanisme pembentukan lesi aterosklerotik itu sendiri. Seperti diketahui bersama, monosit dari sumsum tulang akan masuk dalam sirkulasi darah selama kurang lebih 72 jam (Ganong, 1995). Sel yang telah berada dalam sirkulasi kemudian akan berpindah ke jaringan sebagai makrofag, dan tidak akan kembali lagi ke dalam sirkulasi. Perpindahan monosit ke jaringan berkaitan dengan sistem pertahanan tubuh dalam upaya menghilangkan gangguan yang ada pada jaringan. Dalam peristiwa pembentukan lesi aterosklerotik, makrofag banyak terbentuk pada jaringan dalam upaya untuk menghilangkan akumulasi lipid serta produk oksidasinya sehingga berubah menjadi sel busa (Ross, 1993). Migrasi sel ke jaringan inilah yang mungkin mempengaruhi jumlah monosit di dalam sirkulasi.

Tabel 6. Analisis faktorial jumlah monosit tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik.

Sumber Variasi	df	SS	MS	F Hitung	F Tabel 5%
Jenis kelamin	1	8,45	8,45	5,6*	4,49
Diet	1	6,05	6,05	4,03	
Interaksi	1	1,25	1,25	0,8	
Kesalahan	16	24,2	1,5		
Total	19	39,95			



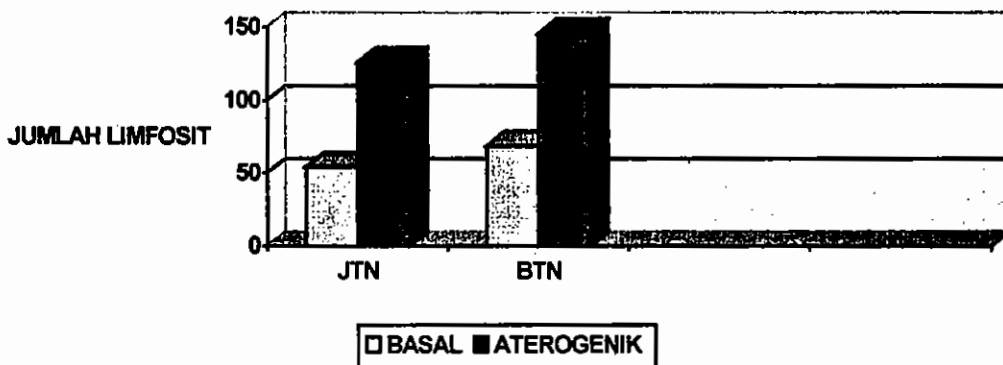
Gambar 5. Jumlah monosit tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik

Hasil penghitungan dan analisis faktorial dari limfosit dalam sirkulasi menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ) antara tikus yang diberi diet basal dan tikus yang diberi diet aterogenik (Tabel 7), baik jenis kelamin maupun pakan yang diberikan dalam diet tidak berpengaruh dalam meningkatkan jumlah limfosit (Gambar 6). Efek nyata terlihat pada interaksi antara jenis kelamin dan diet sehingga dalam penghitungan menunjukkan

perbedaan yang signifikan ( $P < 0,05$ ). Secara umum dikatakan bahwa secara tunggal efek yang diberikan baik jenis kelamin maupun pakan tidak menyebabkan peningkatan jumlah limfosit, namun apabila kedua faktor tersebut berinteraksi maka kemungkinan menimbulkan pengaruh yang lebih besar. Penghitungan limfosit dalam penelitian ini diharapkan bermanfaat dalam penentuan apakah telah terjadi suatu reaksi inflamasi selama proses aterosgenesis. Dari hasil analisis tersebut dapat dijelaskan bahwa reaksi inflamasi/ keradangan yang terjadi tidak jelas terlihat dalam sirkulasi, hal ini dapat dimaklumi mengingat aterosklerosis merupakan proses keradangan lokal dan kronis spesifik pada pembuluh darah seperti yang dikatakan oleh Ross (1993), yaitu bahwa lesi aterosklerotik merupakan suatu bentuk keradangan fibroproliferasif sebagai respon terhadap gangguan pada dinding arteri, sehingga gambaran keradangan tidak jelas terlihat sebagaimana gambaran keradangan akibat infeksi bakterial.

Tabel 7. Analisis faktorial jumlah limfosit tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik.

Sumber Variasi	df	SS	MS	F Hitung	F Tabel 5%
Jenis kelamin	1	369,8	369,8	2,55	4,49
Diet	1	627,2	627,2	4,3	
Interaksi	1	1165,2	1165,2	8,053*	
Kesalahan	16	2315	144,69		
Total	19	4477,2			



Gambar 6. Jumlah limfosit tikus percobaan yang diberi diet basal dan aterogenik

Jumlah total sel darah putih, monosit dan limfosit yang diharapkan akan terjadi peningkatan, namun data yang dihasilkan tidak menunjukkan peningkatan. Aterosklerosis adalah proses keradangan lokal yang bersifat kronis. Keradangan pada jaringan yang sifatnya non infeksiif dan bersifat lokal sebenarnya menyebabkan peningkatan, namun relatif sangat kecil. Penambahan sel radang juga sesuai dengan kebutuhan. Sistem limforetikuler akan membatasi diri hanya sesuai dengan yang dibutuhkan saja. Disamping itu, keberadaan sel radang dalam sirkulasi hanya berlangsung singkat sehingga pemeriksaan darah tidak menunjukkan peningkatan yang berarti. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Kresno (2001), bahwa sel radang yang diproduksi oleh jaringan limfoid seperti sumsum tulang, limpa dan timus yang berada dalam sirkulasi akan segera diangkut melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening ke jaringan perifer dimana gangguan tersebut terjadi.

Hasil pengamatan jaringan jantung tikus percobaan yang mendapatkan diet basal tampak gambaran normal aorta tikus tanpa pertumbuhan plak ateroma (Gambar 7), sedang perlakuan diet aterogenik menunjukkan terbentuknya lesi aterosklerosis pada aorta (Gambar 8). Lesi

aterosklerosis ditandai dengan adanya proliferasi tunika intima pembuluh darah yang berisi kolesterol, zat lipoid dan lipofag. Pembuluh darah yang terkena adalah arteri besar, arteria serebralis, pembuluh koroner, pembuluh ginjal, aorta dan pembuluh pada tungkai (Ganiswarna, 1995). Pada penelitian ini, pembuluh darah yang mengalami aterosklerosis adalah pembuluh aorta. Lesi yang ditunjukkan berupa : plak ateroma dan akumulasi sel lemak pada tunika media dari pembuluh aorta yang sangat jelas. Hal ini sesuai dengan pendapat Mallat *et.al/* (1999) yang mengemukakan bahwa aterosklerosis adalah suatu proses peradangan kronis dari dinding arteri yang menciri dengan adanya akumulasi lipida, sel makrofag, limfosit, otot polos, dan matriks ekstraseluler. Selain dari lesi tersebut, gambaran perubahan jelas terlihat pada lapisan otot jantung, yang ditunjukkan dengan adanya degenerasi otot jantung tikus perlakuan (Gambar 10). Gambaran degenerasi otot jantung yang dipotong membujur memperlihatkan adanya pola degenerasi (pecah-pecah) dan nekrosis ringan dengan sel otot yang tampak membengkak homogen eosinofilik (kardiomiopati). Hal tersebut sangat berbeda bila dibandingkan dengan gambaran histopatologis jantung dari kelompok kontrol, dimana otot jantung tampak dengan alur yang rapi (Gambar 9). Lesi ateroma merupakan tanda-tanda spesifik munculnya aterosklerosis (Gambar 11 dan 12). Proses aterosklerosis akan disertai dengan penebalan dan pengerasan dinding arteri. Gambaran yang tampak dari lesi aterosklerosis disamping adanya proliferasi sel dinding pembuluh darah, biasanya disertai akumulasi sel lemak pada tunika intima dan/ atau media dari pembuluh darah tersebut (Gambar 11 dan 12). Plak aterosklerosis terbentuk sebagai akibat LDL (*Low density lipoprotein*) mengalami oksidasi menjadi LDL teroksidasi, dimana produk oksidasi tersebut akan diangkut oleh makrofag ke dinding pembuluh darah. Sementara itu, kardiomiopati yang disertai gambaran degenerasi sel jantung dan nekrosis disebabkan sel tidak mampu memelihara homeostasis ion dan cairan (Cotran dkk, 1994). Gambaran perubahan dari hasil penelitian ini masih menunjukkan perubahan yang sifatnya ringan, namun demikian proses yang melanjut akan menyebabkan gangguan berat dan permanen. Kebuntuan total dari aorta akan menyebabkan iskhemia, yaitu jaringan jantung menjadi kurang oksigen, dan akhirnya akan mengalami nekrosis secara menyeluruh dan menyebabkan kematian.

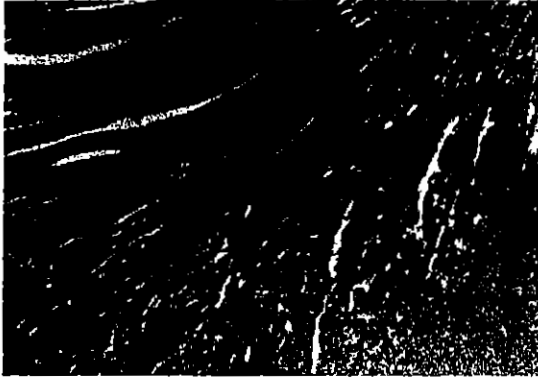


Gambar 7. Aorta tikus dengan diet basal, tampak gambaran normal tanpa pertumbuhan plak ateroma. (A) Lumen (B) Tunika Intima (C) Tunika Media (D) Tunika Adventitia (E) Sel Lemak (HE.100X)



Gambar 8. Aorta tikus perlakuan dengan diet aterogenik. Tampak gambaran plak ateroma. (A) Lumen (B) Plak Ateroma (HE. 100X)





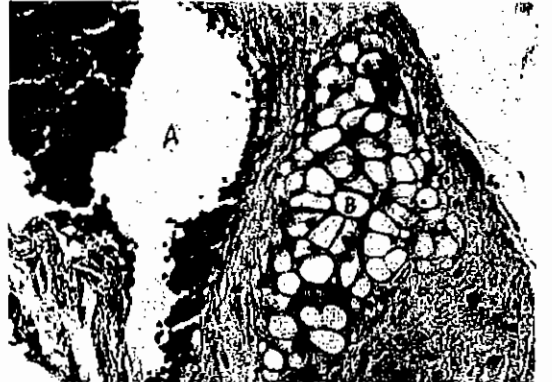
Gambar 9. Potongan membujur otot jantung tikus kontrol, tampak otot jantung dengan alur rapi dan jarak yang teratur. (A) Otot jantung (HE. 40X).



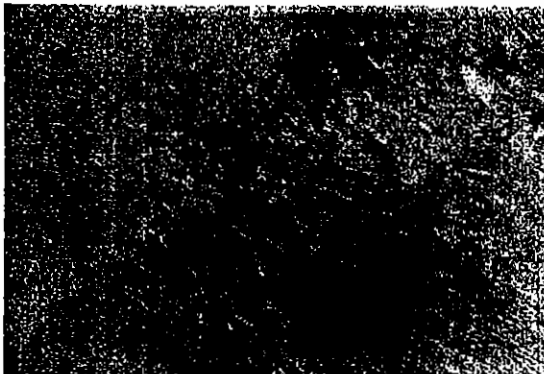
Gambar 10. Potongan membujur otot jantung tikus perlakuan, tampak alur otot dengan jarak lebar, gambaran otot yang mengalami degenerasi. (A) Otot jantung mengalami nekrosis ringan. (HE. 40X)



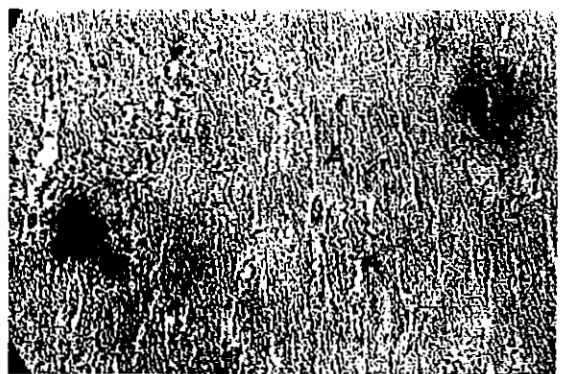
Gambar 11. Aorta tikus perlakuan, tampak sel lemak yang terjebak pada tunika media aorta. (A) Lumen aorta (B) Lemak. (HE 40X)



Gambar 12. Aorta dengan sel lemak dalam tunika media (A). Lumen (B) Sel lemak pada tunika media (HE. 100X).



Gambar 13. Interleukin-1 pada otot jantung tikus perakuan, warna coklat adalah ikatan antigen-antibodi yang terwarnai dengan kromogen, menunjukkan positif IL-1. (A) Otot jantung (B) Positif IL-1 (Imunokimia, 40X)



Gambar 14. Interleukin 1 positif, Pada tikus perlakuan (A) Otot jantung (B) Interleukin 1 (Imunokimia 100X)

Pemeriksaan adanya Interleukin-1 dalam penelitian yang menggunakan teknik imunohistokimia Streptavidin Biotin, menunjukkan hasil yang positif pada semua tikus dalam kelompok perlakuan (Gambar 13 dan 14). Metoda yang menggunakan antibodi anti-interleukin-1 tikus ini didasarkan atas adanya ikatan antara antigen dalam jaringan jantung, yaitu interleukin-1 yang keluar ketika tikus dibuat mengalami aterosklerosis dengan diet aterogenik. Adanya peradangan ringan pada jaringan jantung dan lokal sekalipun akan mengeluarkan mediator radang diantaranya interleukin-1. Interleukin-1 yang selanjutnya dianggap sebagai antigen akan diikat oleh antibodi anti interleukin-1 kemudian ikatan ini dimunculkan dengan bantuan pewarnaan kromogen yang berwarna coklat. Intensitas pewarnaan sangat bergantung dengan jumlah antigen yang muncul. Semakin banyak antigen yang muncul, maka warna yang muncul akan semakin banyak. Lokasi munculnya warna coklat tidak harus dijumpai berdekatan dengan sel penghasil mediator, namun bisa dijumpai di berbagai tempat disekitar jaringan itu. Interleukin-1 sendiri pada aterosklerosis muncul sebagai bukti adanya peradangan yang sifatnya lokal pada pembuluh darah jantung. Kemunculan ini merupakan upaya sel pertahanan tubuh untuk melindungi jaringan dari kerusakan sebagai akibat diet aterogenik. Hal ini mirip dengan reaksi kemunculan interleukin-10 pada penelitian yang dilakukan oleh Mallat dkk (1999). Interleukin-1 yang dihasilkan oleh makrofag dikeluarkan untuk upaya pencegahan gangguan radang pada pembuluh darah.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Diet aterogenik menyebabkan peningkatan berat badan, kadar total kolesterol dan trigliserida, namun tidak menyebabkan peningkatan jumlah total sel darah putih, monosit dan limfosit.
2. Peningkatan berat badan tidak berbeda pada jantan dan betina, namun ada perbedaan yang sangat signifikan pada kadar trigliserida dan kolesterol ( $P < 0,01$ ).
3. Diet aterogenik pada tikus percobaan dalam waktu 3 bulan sudah menyebabkan timbulnya lesi aterosklerosis, akumulasi lemak pada tunika intima dan nekrosis otot jantung.
4. Interleukin-1 terlibat dalam pembentukan lesi aterosklerosis, sebagai mediator peradangan dalam upaya mencegah gangguan yang muncul akibat diet aterogenik.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui peranan mediator radang lainnya seperti TGF  $\beta$ -1, Interleukin lain selain IL-1 dan IL-10, VEGF dan lain-lainnya.

## KEPUSTAKAAN

- Aviram, M., Hussein, O., Rossenbalt, M., Schlezinger, S., Hayek, T and Keidar, S. 1998, *Action of platelets Macrophags and lipoproteins in hypercholesterolemia: Antiatherogenic effect of HMG-CO A Reductase inhibitor therapy*, J. Cardiovascular Pharmacology. 39-45.
- Cotran, R.S., Kumar, V. and Robbins, S.L., 1994, *Robbins pathologic basis of Diseases*. 5 ed, W.B. saunders company, Harcourt Brace Jovanovich Inc, Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo. 911-925; 1011-1016; 1403-1405
- Ganong, W.F., 1999, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 17, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 302.
- Ganiswarna, S.G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, Bagian farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Gaya Baru, Jakarta. 364; 795.

- Kresno, S.B., 2001, *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Edisi 4, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta .63-70.
- Mallat, Z., Besnard, S., Duriez, M., Deleuze, V., Emmanuel, F., Bureau, M.F., Soubrier, F., Esposito, B., Duez, H., Fievet, C., Staels, B., Duverger, N., Scherman, D., and Tedgui, A., 1999, *Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis*, *Circulation Res.* pp.1-13
- Ross, R., 1993, *Atherosclerosis: A Defense Mechanism Gone Awry*, *American Journal of Pathology*, Vol. 143, No. 4, October 1993, pp.987-989.
- Soeharto, I., 2000, *Pencegahan dan Penyembuhan Penyakit Jantung Koroner*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 104-121.