

## ARTI DIAGNOSTIK INDEKS PEROKSIDA TERHADAP KEJADIAN ATEROSKLEROSIS PADA TIKUS PUTIH JANTAN *Sprague Dawley*

### THE DIAGNOSTIC VALUE OF PEROXIDATION INDEX ON ATHEROSCLEROTIC LESION IN MALE *Sprague Dawley* RATS

Guntari Titik Mulyani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta  
Email: guntarititikmulyani@yahoo.co.id

#### ABSTRACT

The objectives of the investigation were to study the pathogenesis of atherosclerotic lesions and diagnostic value of peroxidation index in male *Sprague Dawley* rats. Sixty male *Sprague Dawley* rats, 3 months old, 150g – 200g body weight were allotted randomly into 4 groups of 20 each. The first group was fed normal diet (control); the second group was fed high cholesterol diet (4.5% cholesterol); the third group was fed high fat diet (20% fat) and the fourth group was fed the atherogenic diet that has high cholesterol and high fat diet (4.5% cholesterol and 20% fat). After four weeks, the blood sample was taken out from 5 rats of each group for measuring thio barbituric acid reactive substance (TBARS), and total antioxidant status (TAS). Peroxidation Index (PI) were determined by dividing TBARS value with TAS value. The heart were collected for histopathological analysis. The same procedures were repeated after 8 weeks and 16 weeks. Data analysis showed that after 16 weeks on the experimental diet, the concentration of TBARS in blood of group III was  $4.752 \pm 2.174$  mol/L and concentration of TAS was  $1.080 \pm 0.154$  mmol/L. Atherosclerotic lesion was occurred when PI value were 6.042 dan 17.471. From the result can be concluded that : 1. Feeding high fat diet for 8 – 16 weeks induced atherosclerotic lesion. 2. The high value of IP in male *Sprague Dawley* rats (6.04) can be used as an early indicator of atherosclerotic lesion. 3. Individual variation might be caused by genetic factor.

**Key words:** *Sprague Dawley*, TBARS, TAS, Peroxidation Index

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari arti diagnostik indeks peroksida terhadap kejadian lesi aterosklerosis pada tikus putih jantan ras *Sprague Dawley*. Enam puluh ekor tikus putih jantan ras *Sprague Dawley* berat 150g – 200g digunakan dalam penelitian ini. Tikus dibagi secara random dalam 4 kelompok, masing-masing 15 ekor. Tikus kelompok pertama diberikan ransum basal (normal), tikus kelompok kedua diberi ransum yang mengandung kadar kolesterol tinggi (4,5% kolesterol), tikus kelompok ketiga diberi ransum yang mengandung kadar lemak tinggi (20% lemak), sedangkan tikus kelompok keempat diberi ransum aterogenik yang mengandung kadar lemak dan kolesterol tinggi (20% lemak dan 4,5% kolesterol). Pada minggu ke empat, 5 ekor tikus dari masing-masing kelompok diambil secara acak untuk koleksi sample darah guna pemeriksaan kadar *Thio Barbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) dan *Total Antioxidant Statuse* (TAS). Organ jantung diambil untuk pemeriksaan histopatologi dengan pengecatan hematoksilin eosin guna mengetahui ada tidaknya lesi aterosklerosis serta melihat perubahan lain yang mungkin terjadi. Perlakuan yang sama diulang setelah 8 dan 16 minggu pemberian ransum. Hasil pemeriksaan terhadap kadar TBARS menunjukkan bahwa kadar TBARS tertinggi terjadi pada kelompok yang mendapatkan ransum lemak tinggi selama 16 minggu dan memberikan kadar rerata TBARS  $4,752 \pm 2,174$  mol/L. Antioksidan tertinggi terjadi pada kelompok yang mendapatkan ransum kolesterol tinggi selama 16 minggu, yaitu sebesar  $1,080 \pm 0,154$  mmol/L. Lesi aterosklerosis terjadi pada tikus kelompok III yang diberi ransum lemak tinggi setelah pemberian selama 8 dan 16 minggu. Lesi ini terjadi pada indeks peroksida 6,042 dan 17,471. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa : 1. Ransum lemak tinggi yang diberikan selama 8-16 minggu pada tikus *Sprague Dawley* jantan mampu menginduksi lesi aterosklerosis. 2. Lesi aterosklerosis pada tikus *Sprague Dawley* jantan terbentuk pada saat indeks peroksida mencapai 6,04. Nilai indeks peroksida dapat digunakan sebagai indikator awal terjadinya lesi aterosklerotik. 4. Variasi individu terhadap kejadian aterosklerosis bisa terjadi karena adanya faktor genetik.

**Kata kunci:** *Sprague Dawley*, TBARS, TAS, Indeks Peroksida

## PENDAHULUAN

Lesi aterosklerotik selalu mengawali penyakit kardiovaskuler yang dapat mengakibatkan infark miokardial dan serebral, ganggren pada anggota gerak dan penurunan fungsi organ dan jaringan. Kasus tersebut merupakan salah satu penyebab kematian, cacat dan kerugian ekonomi yang cukup tinggi di negara-negara maju. Di Indonesia, kejadian penyakit kardiovaskuler ini meningkat terus dari tahun ke tahun. Sebagai negara yang sedang berkembang dengan pesat, maka terjadi kenaikan pendapatan penduduk yang umumnya diikuti dengan kenaikan konsumsi lemak pangan. Diantara lemak pangan yang dikonsumsi, ada kecenderungan konsumsi lemak hewani yang banyak mengandung asam lemak jenuh meningkat secara tajam diikuti dengan menurunnya konsumsi serat serta senyawa antioksidan. Suryono dan Djauzi (1993) melaporkan bahwa di Indonesia penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit noninfeksius penyebab kematian yang utama.

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyakit yang sangat kompleks. Beberapa faktor ditetapkan sebagai faktor resiko, seperti stress, hipertensi, hiperkolesterol, rokok, obesitas dan genetik. Konsumsi lemak yang berlebihan, terutama lemak jenuh juga dianggap sebagai salah satu penyebab terjadinya gangguan kardiovaskuler.

Di dalam tubuh, lemak yang berasal dari makanan akan mengalami pemecahan menjadi asam lemak bebas, trigliserid, fosfolipid dan kolesterol, dan akan diangkut dalam bentuk kilomikron. Transport kolesterol berlangsung dalam suatu ikatan dengan lipoprotein. *Low density lipoprotein* (LDL) yang terbentuk dari kolesterol, trigliserid dan apoprotein B adalah lipoprotein utama dalam serum yang mengangkut kolesterol ke sel-sel jaringan; sedangkan *high density lipoprotein* (HDL) yang terbentuk dari kolesterol dan apoprotein A bertugas sebaliknya yaitu mengangkut

kolesterol dari jaringan ke hati.

Penelitian mengenai pencegahan dan pengobatan terhadap penyakit kardiovaskuler telah banyak dilakukan, namun masih merupakan masalah yang sulit karena belum diketahuinya penyebab yang pasti terjadinya terjadinya lesi aterosklerotik pada dinding pembuluh darah. Beberapa ahli mengemukakan pendapat yang sama bahwa lesi aterosklerotik terjadi karena adanya kelukaan jaringan pembuluh darah akibat teroksidasinya LDL oleh radikal bebas. *Low density lipoprotein* yang teroksidasi ini mempunyai sifat kemotaktor terhadap monosit dan limfosit. Pada endotelium. Monosit berubah menjadi makrofag dan memfagositosis LDL yang teroksidasi dan bermigrasi ke subendotelium. Proses yang melanjut akan mengakibatkan terbentuknya sel busa, *fibro-fatty* dan selanjutnya *fibrous-plaque*. Hal ini mengakibatkan terjadinya akumulasi pada dinding pembuluh darah sehingga terjadi penyempitan.

Walaupun produk oksidasi oleh radikal bebas berbahaya, namun juga diperlukan dalam jumlah tertentu karena sangat bermanfaat. Lipid peroksida diduga merupakan satu-satunya bahan yang mengkoordinir kehidupan sel.

Tubuh akan berusaha menekan produk oksidasi yang berlebihan. Pada kondisi normal, produk oksidasi selalu berada dalam batas-batas normal karena terjadi keseimbangan dengan antioksidan; sebaliknya pada kondisi patologis maka keseimbangan itu akan terganggu. Seberapa besar imbalan antara oksidasi dan antioksidan yang harus ada di dalam tubuh untuk mempertahankan kondisi sehat, sampai saat ini belum diketahui secara pasti.

Penelitian ini bertujuan untuk : mendapatkan korelasi nilai indeks peroksida dengan lesi aterosklerosis. Dari korelasi ini diharapkan nilai indeks peroksida memiliki arti diagnostik sebagai indikator lesi aterosklerotik awal.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 60 ekor tikus putih jantan ras *Sprague Dawley* berat 150g – 200g. Ransum yang diberikan berupa ransum basal (normal) untuk kelompok I, ransum yang mengandung kadar kolesterol tinggi (4,5% kolesterol) untuk kelompok II, ransum yang mengandung kadar lemak tinggi (20% lemak) untuk kelompok III, serta ransum aterogenik yang mengandung kadar lemak dan kolesterol tinggi (20% lemak dan 4,5% kolesterol) untuk kelompok IV.

Bahan yang digunakan untuk pengukuran kadar lipid peroksida (malonaldehid) adalah : asam fosfat 0,44 mol/L, larutan TEP standart, aquadest, larutan TBA 42 mmol/l, metanol (HPLC grade) dan ddH<sub>2</sub>O. Bahan yang digunakan untuk mengukur kadar ntioksidan adalah : buffer (phosphat buffer saline 5 mmol/L, pH 7,4), chromogen (memyoglobin 6,1 mol/l), substrat (hydrogen peroxide 250 mol/l) dan standart (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid 2,5 mol/l). Sebelum digunakan perlu dipersiapkan : chromogen dilarutkan dengan 10 ml buffer dan 1 ml substrat dilarutkan dengan 1,5 ml buffer serta standar dilarutkan dengan 1 ml ddH<sub>2</sub>O. Sampel yang digunakan dapat berupa serum yang baru atau plasma yang diperoleh dari darah dengan antikoagulan heparin.

Alat-alat yang dibutuhkan untuk pemeriksaan lipid peroksida (malon-dialdehid) antara lain : tabung polipropilene kapasitas 13 ml, tabung polipropilene kapasitas 2 ml, mikrosentrifus dengan kecepatan tinggi, kolom sep-pak C18, water bath, ice bath, spektrofotometer model 2000 dengan panjang gelombang 532 nm. Untuk pemeriksaan kadar antioksidan tidak dibutuhkan alat secara khusus. Kadar ini dibaca dengan menggunakan spektrofotometer model 2000.

Penelitian ini menggunakan 60 ekor tikus putih jantan ras *Sprague Dawley* berat 150g – 200g Tikus

dibagi secara random dalam 4 kelompok, masing-masing 15 ekor. Tikus kelompok pertama diberikan ransum basal, tikus kelompok kedua diberi ransum yang mengandung kadar kolesterol tinggi, tikus kelompok ketiga diberi ransum yang mengandung kadar lemak tinggi, sedangkan tikus kelompok keempat diberi ransum yang mengandung kadar lemak dan kolesterol tinggi. Pada minggu ke empat, 5 ekor tikus dari masing-masing kelompok diambil secara acak untuk koleksi sample darah guna pemeriksaan kadar *Thio Barbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) dan *Total Antioxidant Statuse* (TAS). Organ jantung diambil untuk pemeriksaan histopatologi dengan pengecatan hematoksilin eosin guna mengetahui ada tidaknya lesi aterosklerosis serta melihat perubahan lain yang mungkin terjadi. Perlakuan yang sama diulang setelah 8 dn 16 minggu.pemberian ransum.

Deteksi terhadap kadar oksidan (lipid peroksida) dilakukan dengan mengukur kadar malondialdehid dalam darah dengan metode ekstraksi asam thiobarbiturat C-18. Sampel yang digunakan berupa darah sebanyak 0,5 ml dengan antikoagulan 0,75 mg K<sub>2</sub>EDTA. Sampel ini disentrifus dan 50 l plasma diambil untuk analisa. Ke dalam tabung poliprolilen 13 ml dimasukkan 750 l asam folat dan selanjutnya ditambahkan 50 l larutan TEP standart/quality control/sampel/aquadest. Kedua macam larutan tersebut dicampur hingga merata dengan menggunakan vorteks. Selanjutnya 250 l 40 mM larutan TBA ke dalam setiap tabung ditambahkan 450 l aquades. Tabung ditutup rapat-rapat, dipanaskan pada suhu 100°C selama 1 jam. Sesudah pemanasan, tabung kemudian ke dalam ice bath untuk didinginkan. Kolom sep-pak C-18 dipersiapkan dengan cara mencuci kolom dengan larutan metanol dengan kecepatan 5ml/min, diikuti dengan aquades dengan kecepatan 5ml/min. Sampel yang telah didinginkan dimasukkan ke dalam kolom sep-pak C-18 yang telah dipersiapkan sebelumnya

menggunakan pipet pasteur. Kolom kemudian dicuci dengan larutan H<sub>2</sub>O. Malondialdehid yang ada di dalam kolom diemulsi dengan menggunakan metanol 4 ml, ditampung dalam tabung reaksi dan selanjutnya dilihat absorpsi terhadap warna merah yang terbentuk dengan menggunakan spektrofotometer model 2000 dengan panjang gelombang 532 nm.

Deteksi kadar antioksidan total dilakukan dengan kit yang diproduksi oleh Randox Laboratories. Prinsip reaksi ini adalah : ABTS<sup>R</sup> (2,2'-azino-di-[3-ethylbenzothiazoline sulphonate]) diinkubasi dengan peroksida (metmyoglobin) dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan menghasilkan suatu kation radikal ABTS<sup>R</sup>. Produk ini relatif stabil dengan warna biru kehijauan yang dapat diukur pada panjang gelombang 600 nm. Antioksidan yang ditambahkan pada sampel menyebabkan penghambatan produksi warna dalam suatu tingkatan, tergantung dari konsentrasinya. Pemeriksaan kadar antioksidan total dilakukan dengan mencampurkan ddH<sub>2</sub>O/standar/sampel sebanyak 20 l dengan 1 ml kromogen. Campuran tersebut dicampur merata dan dibaca serapannya (sebagai A1) pada spektrofotometer type 2000 dengan panjang gelombang 600 nm. Setelah itu ditambahkan substrat 200 l, dicampur merata dan setelah 3 menit dibaca serapannya (sebagai A2). Antioksidan total (mmol/l) dihitung dengan membagi konsentrasi standart dengan selisih A blank dan A standar dikalikan selisih A blank dengan A sampel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian telah dilakukan terhadap 60 ekor tikus Sprague Dawley umur 3 bulan. Perlakuan pakan diberikan selama 4, 8 dan 16 minggu. Pengukuran terhadap kadar oksidan (lipid peroksida) dilakukan dengan mengukur kadar malondialdehid dalam plasma darah dengan metode ekstraksi asam thiobarbiturat C-18 atau Thio Barbituric Acid Reactive Substance

(TBARS). Hasil pengukuran kadar TBARS disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil rerata kadar TBARS (Umol/l) ± SE dalam darah ikus percobaan akibat pemberian ransum selama 4, 8 dan 16 minggu.

Jenis ransum	4 minggu	8 minggu	16 minggu
Basal	1,404±0,158	1,312±0,173	1,468±0,034
Kolesterol tinggi	1,184±0,058	1,160±0,033	1,448±0,015
Lemak tinggi	1,224±0,031	1,746±0,512	4,753±2,174
Aterogenik	1,346±0,141	1,446±0,093	1,634±0,156

Dari hasil tersebut tampak bahwa pemberian ransum lemak tinggi, sejalan dengan waktu pemberian akan memberikan hasil kadar TBARS yang tinggi jika dibandingkan dengan pemberian ransum lemak lainnya. Namun dari hasil ini tampak bahwa simpangan yang terjadi cukup besar, hal ini kemungkinan disebabkan karena faktor genetik dan respon individu yang berbeda. Dari analisis statistik diperoleh gambaran bahwa variasi pemberian ransum saja tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kadar lipid peroksida dalam darah, namun baik waktu maupun interaksi antara waktu dan jenis ransum memberikan perbedaan yang signifikan.

Lemak yang masuk ke dalam tubuh akan dipecah menjadi asam lemak bebas, trigliserid, fosfolipid dan kolesterol dan selanjutnya mengalami emulsi karena adanya garam empedu sehingga membentuk misel campuran. Karena adanya enzim lipase dan fosfolipase A2, lemak akan terdegradasi sehingga memungkinkan terjadinya proses difusi ke dalam epitel usus. Selanjutnya akan terjadi kompleks dengan fosfolipid dan protein yang disebut kilomikron dalam sistem limfatik dan selanjutnya memasuki aliran darah melalui *ductus thoracicus*. Dalam aliran darah lemak akan dihidrolisa oleh anzim apo C-II sehingga secara cepat diserap target jaringan untuk diubah menjadi energi, disimpan dalam jaringan lemak dan sel atau disalurkan ke hati (Balcavage and King, 1995). Konsumsi lemak yang berlebihan akan menyebabkan akumulasi

berlebihan pada target-target organ tersebut. Kelebihan kolesterol di hati akan diangkut oleh *Low Density Lipoprotein* (LDL) menuju ke jaringan tubuh lainnya sehingga menyebabkan hiperkolesterolemia. Di dalam tubuh tidak terdapat sistem *counter balance* terhadap kondisi hiperkolesterol ini, yang ada adalah sistem regulasi yang berupa : (1) membatasi sintesa kolesterol oleh hati dengan menghambat enzim HMGCoA yang esensial untuk biosintesa kolesterol; (2) meningkatkan enzim Cholesterol Acyl Transferase (ACAT) yang akan menyimpan kelebihan kolesterol ini menjadi ester kolesterol atau (3) menurunkan sintesa reseptor LDL untuk mengurangi pemasukan kolesterol dan proteksi dari akumulasi yang berlebihan dari kolesterol (Stein, 1986; Balcavage dan King, 1995).

Dari hasil ini dapat diambil suatu kesimpulan bahwa kolesterol murni yang ditambahkan di dalam ransum tampaknya dengan cepat akan merangsang sistem regulasi sehingga tubuh mengantisipasi kondisi ini, akibatnya jumlah lemak yang mengalami peroksida (nilai TBARS) lebih rendah dari pada kelompok lain.

Pengukuran terhadap kadar antioksidan total dilakukan dengan kit dari Randox Laboratory. Hasil pengukuran kadar antioksidan total pada tikus percobaan akibat pemberian ransum disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil rerata kadar antioksidan total (mmol/l)  $\pm$  SE dalam darah tikus percobaan akibat pemberian ransum selama 4, 8 dan 16 minggu.

Jenis ransum	4 minggu	8 minggu	16 minggu
Basal	0,874 $\pm$ 0,162	0,794 $\pm$ 0,043	0,859 $\pm$ 0,063
Kolesterol tinggi	0,680 $\pm$ 0,072	0,734 $\pm$ 0,036	1,080 $\pm$ 0,164
Lemak tinggi	0,786 $\pm$ 0,136	0,702 $\pm$ 0,047	0,788 $\pm$ 0,043
Aterogenik	0,782 $\pm$ 0,053	0,608 $\pm$ 0,062	0,996 $\pm$ 0,054

Dari keempat kelompok tikus yang diberi ransum yang berbeda tersebut seluruhnya menunjukkan adanya peningkatan kadar antioksidan total sejalan dengan waktu pemberian. Dari analisis statistik yang dilakukan

diperoleh suatu gambaran bahwa waktu pemberian ransum sangat berpengaruh terhadap kadar antioksidan total.

Keen dan Cherr (1994) menjelaskan bahwa sistem pertahanan antioksidan ada bermacam-macam, baik yang enzimatik maupun yang non enzimatik. Enzim yang memiliki kemampuan mengurangi konsentrasi jenis oksigen reaktif antara lain : superoksida dismutase, katalase, selenium-glutation peroksidase dan seruloplasmin. Elemen-elemen penting untuk mendukung sistem pertahanan antioksidan antara lain Cu, Fe, Mn, Se dan Zn. Cara enzimatik yang penting untuk pertahanan oksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain yang bersifat larut lemak dan yang bersifat larut air. Bankson dkk (1993) menjelaskan bahwa plasma protein yang jika berikatan dengan logam transisi mampu bereaksi dengan *chelating agents* sehingga logam yang diperlukan untuk reaksi radikal bebas tidak tersedia. Protein tersebut antara lain : seruloplasmin, ferritin, transferin, mitoglobin, laktoferin, albumin, metalotioneises, haptoglobin dan hemopexin. Ciri penting dari mekanisme antioksidan adalah seri interaksi dari redoks yang berdasarkan siklus antioksidan dan nonredoks berdasarkan antioksidan yang fungsinya penambah atau sinergistik. Ada beberapa faktor pengikat yang penting dalam mengevaluasi potensi biologis faktor-faktor tersebut antara lain : (1) absorpsi, (2) bioavailabilitas, (3) spesifitas dari quenching radikal bebas, (4) kecepatan dari reaksi radikal bebas, (5) lokasi, (6) mobilitas pada daerah hidrofobik, (7) masa hidup, (8) kecepatan regenerasi atau aktivitas kembalinya siklus, dan (9) interaksi dengan antioksidan lain dan kemampuan mengikat logam (Packer, 1995).

Nilai indeks peroksid diperoleh dengan membagi kadar oksidan (lipid peroksida) dengan kadar antioksidan (TAS). Hasil rerata nilai indeks peroksida disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil rerata Indeks Peroksisda ± SE dalam darah tikus percobaan akibat pemberian ransum selama 4, 8 dan 16 minggu.

Jenis ransum	4 minggu	8 minggu	16 minggu
Basal	0,875±0,205	1,674±0,192	1,749±0,143
Kolesterol tinggi	1,781±0,105	1,595±0,788	1,437±0,160
Lemak tinggi	1,764±0,311	2,498±0,896	6,601±3,197
Aterogenik	1,735±0,160	2,532±0,380	1,669±0,209

Analisis statistik dengan *mulifactoria randomized design* pada tingkat signifikansi 95% memberikan gambaran bahwa ransum sangat berpengaruh terhadap nilai indeks peroksisda.

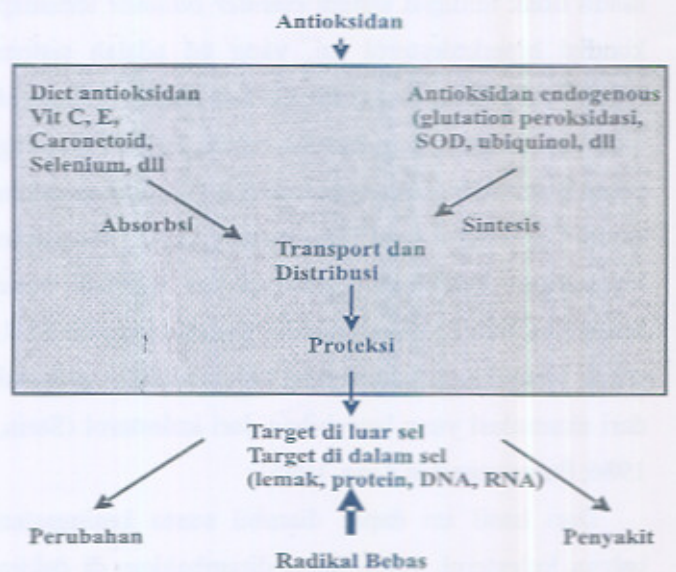
Pengaruh ransum terbesar adalah ransum lemak tinggi. Selanjutnya ransum aterogenik dan dilanjutkan dengan ransum kolesterol tinggi. Nilai indeks peroksisda yang tinggi diduga disebabkan karena peningkatan kadar lipid peroksisda dalam darah tidak dapat diimbangi dengan peningkatan kadar antioksidan, karena penurunan kadar antioksidan dalam darah atau karena keduanya. Pada penelitian ini, nilai indeks peroksisda yang tinggi pada kelompok tikus yang diberi ransum lemak tinggi terjadi karena adanya peningkatan kadar oksidan disertai penurunan kadar antioksidan.

Bankson (1993) mendefinisikan stress oksidatif sebagai suatu gangguan keseimbangan peroksisda dan antioksidan terutama terhadap kerusakan yang potensial. Dijelaskan juga bahwa kunci idealnya adalah keseimbangan antara oksidan yang pembentukannya juga diperlukan untuk berbagai fungsi dalam tubuh dengan antioksidan. Packer (1994) menjelaskan bahwa mekanisme pengaturan antioksidan adalah seri interaksi redoks dari siklus antioksidan dan nonredoks dari antioksidan yang fungsinya meningkatkan dan sinergistik.

Pada pemeriksaan histologik terhadap jantung dijumpai beberapa kelainan antara lain hialinasi, vakuolisasi pada serabut otot polos, kardiomiopati dan atheroma. Pada penelitian ini lesi ateroklerotik ditemukan pada tikus perobaan dengan indeks peroksisda

6,042 dari kelompok tikus yang diberi ransum lemak tinggi setelah pemberian selama 8–16 minggu.

Hubungan antara radikal bebas dan antioksidan dijelaskan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan antara antioksidan dan radikal bebas.

Robbins (1994) menjelaskan bahwa istilah hialin digunakan untuk menjelaskan suatu perubahan dalam sel atau pada celah ekstraseluler yang memberikan suatu masa yang homogen, bening dan pada pemeriksaan histologis dengan pengecatan hematoksilin eosin berwarna pink. Assman (1982) menjelaskan bahwa hipertropik hialinasi atau hialinosis bisa terjadi akibat adanya faktor resiko terhadap ateroklerosis seperti diet aterogenik yang menyebabkan reaksi sel pada dinding pembuluh darah (sel media). Adanya proliferasi pada sel media yang diikuti dengan peningkatan pada sintesa proteoglikan, kolagen, glikoprotein, asam lemak dan kolesterol menyebabkan terjadinya deposisi mesenkimal yang berkembang menjadi fibrosis dan selanjutnya terjadi hialinosis. Lesi ateroklerotik yang terjadi digambarkan pada Gambar 2.

Guyton dan Gotto (1992) menjelaskan bahwa pada kondisi normal, arteri besar memiliki konsentrasi

lipoprotein yang lebih besar dari pada jaringan lain pada tubuh. Akumulasi lemak pada arteri dapat terjadi karena adanya lipoprotein yang memasuki dinding arteri secara transitosi melewati selapis sel endotelium. Cairan interstitial pada intima dari arteri merupakan suatu subyek terhadap situs yang khusus karena secara normal tidak mengandung kapiler atau limfatik dan terikat oleh suatu struktur yang memiliki barier permiabel terhadap transport molekuler. Pada kondisi hiperkolesterolemia dan hipertensi yang akut, permeabilitas dari endotel arteri ini meningkat, kondisi ini dapat meningkatkan proses transitosi dari lipoprotein. Proses konveksi dan difusi diestimasi sama pentingnya dengan transport LDL dalam tunika media aorta.



Gambar 2. Gambaran histologik aorta yang berasal dari seekor tikus yang diberi ransum lemak tinggi. Serabut otot polos aorta tampak mengalami proliferasi (\*).

Konsumsi ransum penginduksi hiperkolesterolemia akan menyebabkan tingginya konsentrasi LDL, termasuk LDL dalam intimal. Kondisi hiperkolesterol ini akan meningkatkan proses transitosi sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi kolesterol dalam sel, hal ini berakibat terjadinya penurunan jumlah reseptor LDL. Kondisi dimana konsentrasi LDL yang tinggi akan menyebabkan LDL ini teroksidasi (Gyton dan Gotto, 1992).

Robbins dkk. (1994) menjelaskan bahwa lemak yang teroksidasi seperti halnya LDL teroksidasi tersebut akan menghasilkan lipid peroksida yang dapat menyebabkan kelukaan pada jaringan karena sifatnya yang sangat toksik. *Low density lipoprotein* yang teroksidasi mempunyai sifat menarik monosit sirkulasi untuk inisiasi dan mengalami perubahan fenotipik menjadi makrofag. Pergerakan makrofag ini kemudian dihambat oleh LDL teroksidasi dengan mencegahnya kembali sirkulasi. *Low density lipoprotein* teroksidasi difagositose oleh makrofag dan bermigrasi ke subendotelium. Proses ini mengakibatkan terbentuknya sel busa yang merupakan lesi aterosklerotik awal dan bersama-sama dengan sel T, otot polos membentuk lapisan lemak. Lapisan lemak ini dapat berkembang menjadi lesi aterosklerotik yang melanjut (Ross, 1993; Steinberg dkk., 1989 dan Bankson dkk., 1993).

Schoen (1994) membagi faktor resiko terhadap aterosklerosis menjadi 2 faktor, yaitu faktor mayor dan faktor minor. Yang termasuk faktor mayor antara lain : diet dan hiperlipidemia (hiperkolesterolemia dan hipertrigliseridemia), hipertensi, merokok dan diabetes; sedangkan yang termasuk faktor minor antara lain : kegemukan, kurang olah raga, sex, peningkatan usia, sejarah keluarga, konsumsi karbohidrat yang tinggi dan hiperhomosistein. Dari faktor tersebut, Assmann (1982) berpendapat bahwa faktor resiko yang tidak dapat berubah adalah usia, sex dan sejarah keluarga.

Pada penelitian ini, nilai indeks peroksida tertinggi terjadi pada tikus dari kelompok diet tinggi lemak yang diberi ransum selama 16 minggu disusul dengan tikus dari kelompok yang diberi ransum lemak tinggi selama 8 minggu.

Tikus dari kelompok ransum lemak tinggi yang memiliki nilai indeks peroksida 10,406 tidak diikuti dengan lesi aterosklerotik, sedangkan tikus dari kelompok diet tinggi lemak yang diberi ransum selama 16 minggu (nilai IP 17,471) dan tikus dari kelompok yang diberi ransum lemak tinggi selama 8 minggu (nilai IP 6,04) diikuti adanya lesi aterosklerotik. Melihat kenyataan tersebut, tampaknya respon individual sangat menentukan kejadian aterosklerosis.

Dari hasil penelitian terhadap 60 ekor tikus percobaan, dapat ditarik beberapa kesimpulan, antara lain:

1. Ransum lemak tinggi (20% dari bahan makanan) yang diberikan selama 8 – 16 minggu mampu menginduksi lesi aterosklerotik.
2. Nilai indeks peroksida yang tinggi ( $\geq 6,04$  pada tikus *Sprague Dawley* jantan) dapat dijadikan indikator awal terbentuknya lesi aterosklerosis.
3. Faktor individual seperti genetis, sangat berpengaruh terhadap kejadian lesi aterosklerosis.

#### DAFTAR PUSTAKA

Assmann, G. 1982. *Lipid Metabolism and Atherosclerosis*. Central Lb of Medical Faculty, University of Münster, Institute for Arteriosclerosis Research at The University of Münster, Federal Republic of Jerman.:1-66.

- Balcavage W.X., King M.W. 1995. *Examination and Broad review Biochemistry*. 1<sup>st</sup>. Appleton and Lange, East Norwalk, Connecticut.:210-221.
- Bankson, D.D; Kestin M, Rifai N. 1993. *Role of Free Raical in Cancer and Atherosclerosis*. Nutrition Support, Vol. 13, no 2.:463-480
- Guyton, J.R., Gotto, A .M. 1992. *The Patogenesis of Atherosclerosis: Lipid Metabolism in Vascular Medicine*. Little, Brown and Company, Bostoon/Toronto/London.:345-365.
- Keen, C.L., Cherr, Z. 1994. *Trace Element and Vitamin Interaction in Free Radical Defence in Antioxidants and Free Radicals*. Proceeding of the XV International Congress of Nutrition.IUNS. 799-803.
- Packer L, Adelaide. 1995. *Antioxidant Defenses in Biological System : An Averview in Proceodings of International Symposium on Natual Antioxidants Molecular Mechanism and Health Effect..* AOCS Press, Champign, Illinois, USA.:9-23.
- Robbins, S.L. Kumar, V. Cotran, R.S. 1994. *Cellular Injury and Celluler Death in Pathological Basis of Disease*. 5 ed. W.B. Sounders Company, Philadelphia.:1-34.
- Ross, R. 1992. *Atherosclerosis: A Defense Mechanism Gone Awry*. American Journal of Pathology. Vol 143, 4 : 987-1002.
- Schoen, F. 1994. *Blood Vessels in Pathological Basis of Disease*. 5<sup>rd</sup>. W.B. Sounders Company, Philadephia.:467-516.
- Stein, E.A. 1986. *Lipids, Lipoproteins and Apolipoproteins in Texbook of Clinical Chemistry*. W.B. Sounders Company, Philadelphia.:829-844.
- Steinberg, D. 1993. *Vitamin E for A Healty Heart*. New Eng. J. Med. 31: 55.