

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Penelitian

Penyakit Kardiovaskular (PKV) merupakan sekumpulan penyakit yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas utama di dunia akibat gangguan fungsi jantung dan pembuluh darah antara lain Penyakit Jantung Koroner (PJK) dan stroke, penyakit arteri perifer (PAP) dan lainnya.<sup>1,2</sup> *World Health Organization* (WHO) tahun 2014 melaporkan bahwa PJK dan stroke adalah penyebab mortalitas pertama dan ketiga di dunia, mencapai 17,3 juta dari 54 juta total kematian per tahun.<sup>3,4</sup> Data RISKESDAS tahun 2018 melaporkan bahwa prevalensi tertinggi PKV di Indonesia adalah PJK, sebesar 1,5 % sedangkan stroke sebesar 14,7 ‰ di Kalimantan Timur dengan puncak insidensi pada usia 75 tahun ke atas, perempuan lebih banyak daripada laki-laki dan lebih banyak terjadi di wilayah perkotaan dibandingkan perdesaan.<sup>5</sup>

Dislipidemia berperan sebagai faktor risiko primer PJK dan stroke sebelum faktor risiko lain muncul, yaitu faktor risiko tradisional (hipertensi, merokok, diabetes melitus, obesitas, aktivitas fisik yang kurang, jenis kelamin, dan umur) dan faktor risiko non-tradisional (inflamasi, stress oksidatif, gangguan koagulasi, hiperhomosistein).<sup>6</sup> Dislipidemia adalah kelainan fraksi lipid serum dengan peningkatan kadar kolesterol total (K-Total), Kolesterol-*Low Density Lipoprotein* (K-LDL), dan/atau trigliserida (TG), dapat disertai penurunan Kolesterol-*High density lipoprotein* (K-HDL).<sup>7</sup> Kadar K-HDL serum dikatakan rendah apabila kurang dari 50 mg/dL pada perempuan dan kurang dari 40 mg/dL pada laki-laki.<sup>8</sup>

Dislipidemia menyebabkan disfungsi endotel yang memicu proses aterosklerosis.<sup>9</sup> Aterosklerosis adalah proses patologis kronik yang ditandai oleh pembentukan fibroateroma pada tunika intima arteri sehingga dinding arteri mengalami pengerasan secara progresif karena elastisitas pembuluh darah hilang, penebalan intimal dan stenosis luminal.<sup>9,10</sup> Fibroateroma dibentuk oleh

pembentukan *foam cells* (sel-sel busa), sel-sel radang, dan migrasi sel-sel miosit dari tunika media arteri, serta deposit matriks ekstra sel, yaitu kolagen dan kalsium.<sup>9,10</sup>

Studi Framingham menyatakan terdapat korelasi terbalik antara K-HDL serum dengan risiko PKV sehingga peningkatan kadar K-HDL serum 1,0 mg/dL akan mengurangi risiko PKV sebesar 2-3%. Peningkatan kadar K-HDL dapat diperoleh melalui perubahan gaya hidup yaitu berhenti merokok, menurunkan berat badan hingga berat badan ideal, latihan aerobik intensitas sedang 30 menit dengan frekuensi 4 sampai 6 kali seminggu, diet rendah kalori dan lemak trans.<sup>11,12</sup>

Statin berperan sebagai terapi lini pertama untuk dislipidemia dengan target primer K-LDL.<sup>6,8</sup> Rosuvastatin merupakan statin potensi kuat kompetitif menghambat kerja enzim *3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase* (HMG-CoA *reductase*).<sup>6,13</sup> Potensi penurunan kadar K-LDL serum rosuvastatin tablet 20 mg empat kali lebih efektif dibandingkan Atorvastatin 80 mg yaitu sebesar 52,4% dan 51,1%.<sup>14,15</sup> Rosuvastatin bersifat hidrofilik karena mengandung gugus *polar hydroxyl* dan *methane sulphonamide* sehingga mudah larut dalam air.<sup>14</sup> Rosuvastatin memiliki efek samping antara lain rabdomiolisis, mual, sakit kepala, malaise, konstipasi.<sup>16</sup>

Masyarakat Indonesia sejak dahulu mempercayai tanaman obat sebagai alternatif pengobatan. Delima (*Punica granatum L. flos*) berasal dari Himalaya di India Utara, dapat tumbuh dari dataran rendah hingga ketinggian kurang dari 1000 m di atas permukaan laut.<sup>17,18</sup> Ekstrak bunga delima memiliki banyak manfaat karena mengandung zat aktif biologis, seperti polifenol (asam galat, asam elagat), triterpenoid (asam ursolat), flavonoid (*punica flavone*) dan antosianin.<sup>19</sup> Aktivitas antioksidan dalam ekstrak bunga delima lebih tinggi dibandingkan ekstrak kulit, biji, dan daun delima karena kandungan antosianin dan flavonoid (*punica flavone*) paling tinggi dalam bunga delima diikuti kulit, daun, dan biji delima (bunga > kulit > daun > biji).<sup>20</sup> Antosianin merupakan kandungan tertinggi dalam EEBD yang memiliki efek meningkatkan kadar kolesterol HDL serum.<sup>20</sup> Bunga delima dapat mengobati bronkitis, diabetes, diare, kerusakan hati, obat kumur, dan antiradiasi ultraviolet.<sup>21</sup>

Penelitian sebelumnya oleh Sarker *et al* (2012) menguji efek ekstrak metanol bunga *Punica granatum* L. (EMBD) dosis 500 mg/kgBB/hari per oral terhadap kadar K-HDL serum dua puluh ekor mencit Swiss Webster model hiperlipidemia yang diciptakan dengan induksi eksogen 600 mg/kgBB Poloxamer-407 secara intraperitoneal. Kadar K-HDL serum meningkat secara signifikan ( $p < 0,05$ ) setelah 15 dan 24 jam diberi EMBD dosis 500 mg/kgBB per oral, dan memiliki efek setara dengan atorvastatin dosis 50 mg/kgBB per oral.<sup>17</sup>

Perbedaan penelitian ini dari penelitian sebelumnya ialah penelitian ini menciptakan hewan coba model aterosklerosis yang diinisiasi induksi eksogen vitamin D3 dosis tunggal 700.000 IU/kgBB dengan sonde oral dan pemberian PTU (Propiltiourasil) 0,01% dan PTL dengan CMC 1% selama 14 hari.<sup>22-24</sup> Penelitian ini juga menggunakan variasi dosis hasil konversi EMBD dosis 500 mg/kgBB/hari dari mencit ke tikus, yaitu 350 mg/kgBB/hari, 175 mg/kgBB/hari (setengah dosis) dan 700 mg/kgBB/hari (dua kali dosis) untuk mencari dosis efektif EEED dan kontrol pembanding Rosuvastatin dosis 1,8 mg/kgBB/hari yang memiliki potensi empat kali lipat dibandingkan Atorvastatin, semua perlakuan diberikan secara per oral selama 14 hari.<sup>22-25</sup> Ekstrak etanol bunga delima pada penelitian ini menggunakan bunga delima dalam jumlah yang diperlukan yang berasal dari Desa Mangaran, Kecamatan Mangaran, Kabupaten Situbondo, Jawa Timur, Indonesia.

Penelitian ini perlu dilaksanakan untuk mengetahui apakah EEED dapat meningkatkan kadar Kolesterol-HDL serum tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan model aterosklerosis sehingga diharapkan pemanfaatan bunga delima dapat dipilih sebagai salah satu alternatif terapi dislipidemia.

## 1.2 Identifikasi Masalah

Identifikasi masalah dirumuskan berdasarkan latar belakang untuk menilai Efek Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEED) terhadap kadar Kolesterol-HDL (K-HDL) serum tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan model aterosklerosis, adalah:

- Apakah EEBD dapat meningkatkan kadar K-HDL serum tikus Wistar jantan model aterosklerosis.
- Apakah efektivitas peningkatan kadar K-HDL serum EEBD setara Rosuvastatin.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Penelitian mengenai Efek Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEBD) terhadap peningkatan kadar K-HDL serum tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan model aterosklerosis, yaitu untuk mengetahui:

- Efektivitas EEBD dalam meningkatkan kadar K-HDL serum tikus Wistar jantan model aterosklerosis.
- Efektivitas peningkatan kadar Kolesterol-HDL serum EEBD setara Rosuvastatin.

### 1.4 Manfaat Karya Tulis Ilmiah

Manfaat yang diharapkan dari Karya Tulis Ilmiah ini yaitu:

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

Manfaat akademik yang diharapkan dari penelitian ini bila Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEBD) dapat meningkatkan kadar Kolesterol-HDL serum tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan model aterosklerosis, maka dapat :

- Menambah wawasan dan pengetahuan dibidang terapi herbal untuk mengatasi dislipidemia, khususnya untuk meningkatkan kadar Kolesterol-HDL serum dengan EEBD.
- Menguji efektivitas EEBD terhadap peningkatan kadar Kolesterol-HDL serum dan dibandingkan dengan Rosuvastatin.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat praktis yang diharapkan dari penelitian ini, bila Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEBD) dapat meningkatkan kadar Kolesterol-HDL serum tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan model aterosklerosis. Maka dapat diinformasikan kepada masyarakat bahwa dengan mengonsumsi Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEBD) dapat membantu mengontrol kadar lemak darah dengan meningkatkan kadar Kolesterol-HDL serum

## 1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis Penelitian

### 1.5.1 Kerangka Pemikiran

Dislipidemia dengan peningkatan kadar K-Total, K-LDL dan dapat disertai penurunan kadar K-HDL serum menyebabkan disfungsi endotel.<sup>6</sup> Disfungsi endotel memicu pembentukan plak aterosklerosis pada dinding vaskular.<sup>9</sup> Kolesterol-HDL memiliki korelasi terbalik dengan risiko PKV sehingga peningkatan kadar kolesterol HDL dapat menghambat proses aterosklerosis.<sup>11</sup>

Vitamin D<sub>3</sub> (*Cholecalciferol*) dosis tinggi pada *intake* lebih dari 10.000 IU/hari akan meningkatkan serum 25-hidroksikolekalsiferol D (kalsidiol) secara tajam.<sup>26</sup> *Endocrine society* menyatakan toksisitas vitamin D terjadi apabila kadar serum 25-hidroksikolekalsiferol D (kalsidiol) >150 ng/mL (375 nmol/L).<sup>27</sup> Hipervitaminosis D menyebabkan terjadinya hiperkalsiuria, hiperkalsemia, dan hiperfosfatemia.<sup>26</sup> Hiperkalsiuria dan hiperkalsemia terjadi karena kadar vitamin D yang meningkat berikatan dengan reseptor vitamin D untuk menginduksi proses yang meningkatkan penyerapan kalsium di usus dan meningkatkan resorpsi kalsium di tulang akibat peningkatan aktivitas osteoklas.<sup>26,28</sup> Hiperkalsemia terkait vitamin D menyebabkan penekanan konsentrasi hormon paratiroid (PTH) serum.<sup>26</sup> Kecepatan sekresi PTH sangat menurun ketika konsentrasi ion kalsium (Ca<sup>2+</sup>) melebihi 9-10 mg/100 ml.<sup>29</sup> Hipervitaminosis D juga dapat meningkatkan produksi *Vitamin K-Dependent Proteins* (VKDP) dalam jumlah besar yang tidak aktif (tidak dikarboksilasi) karena vitamin K tidak cukup untuk mengaktivasi VKDP melalui karboksilasi.<sup>30</sup>

Berkurangnya *Matriks Gla Protein* (MGP) fungsional menyebabkan gangguan pengikatan kalsium dalam tulang sehingga mendorong perkembangan lesi kalsifikasi vaskular.<sup>30,31</sup> Dislipidemia menyebabkan disfungsi endotel dan suplementasi vitamin D berlebih bersifat toksik menyebabkan hiperkalsemia, hal ini mendorong perkembangan lesi kalsifikasi vaskular proliferasi dan migrasi otot polos, serta fibrosis sehingga merusak serat elastis medial dan terjadi kekakuan arteri yang berdampak pada penyakit jantung koroner.<sup>9,22-24,32</sup> Kalsifikasi vaskular merupakan proses pengendapan mineral ekstraosseous di pembuluh darah, termasuk arteri besar seperti aorta, arteri karotis, arteri iliaka, dan katup jantung.<sup>33</sup> Suplementasi vitamin D berlebih bersifat toksik karena keadaan hiperkalsemia dapat juga menyebabkan kontraksi otot polos pembuluh darah, pengapuran jaringan lunak (kalsinosis) dan hipertensi sehingga meningkatkan risiko PKV.<sup>28,34</sup>

Hewan coba diciptakan model aterosklerosis yang diinisiasi induksi eksogen vitamin D3 dosis tunggal 700.000 IU/kgBB dengan sonde oral dan pemberian PTU 0,01% dan PTL dengan CMC 1% selama 14 hari atas dasar penelitian sebelumnya oleh Ismawati *et. al* (2017) yang telah melakukan pemeriksaan histopatologi aorta abdominal tikus Wistar dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) dan menemukan, sebagai berikut (1) Tahap inisiasi aterosklerosis terjadi setelah hari ke-2 induksi diet aterogenik yang ditandai dengan ditemukannya *foam cells*; (2) Tahap progresi aterosklerosis terjadi setelah hari ke-4 induksi diet aterogenik yang ditandai dengan ditemukannya kalsifikasi, proliferasi, dan migrasi sel-sel otot polos karena jaringan fibrosis; dan (3) Tahap komplikasi terjadi setelah 2 minggu induksi diet aterogenik yang ditandai dengan ditemukannya lesi aterosklerosis berupa plak ulseratif.<sup>22,23</sup>

Rosuvastatin merupakan statin potensi kuat kompetitif menghambat kerja enzim HMG-CoA *reductase* yang akan berikatan pada situs aktif jalur mevalonat dengan menghambat konversi HMG-CoA menjadi asam mevalonat sehingga menurunkan sintesis kolesterol di hati dan meningkatkan reseptor LDL pada membran hepatosit untuk meningkatkan katabolisme K-LDL yang menyebabkan kadar K-LDL serum berkurang.<sup>6,13</sup> Rosuvastatin juga efektif meningkatkan kadar K-HDL serum, yaitu dengan cara menghambat aktivitas *Cholesteryl ester transfer protein* (CETP)

sehingga dapat mencegah proses aterosklerosis.<sup>35</sup> Potensi penurunan kadar K-LDL serum rosuvastatin tablet 20 mg empat kali lebih efektif dibandingkan Atorvastatin 80 mg yaitu sebesar 52,4% dan 51,1%.<sup>14,15</sup> Rosuvastatin bersifat hidrofilik karena mengandung gugus *polar hydroxyl* dan *methane sulphonamide* yang ditranspor ke hati melalui mekanisme transpor aktif sehingga lebih hepatoselektif.<sup>13,14</sup>

Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEBD) berperan sebagai antihiperlipidemia yang dapat mencegah terjadinya aterosklerosis penyebab PKV karena mengandung kadar antioksidan 2-3 kali lebih tinggi daripada teh hijau dan anggur merah.<sup>17,36</sup> Ekstrak bunga delima mengandung zat aktif biologis, seperti polifenol (asam galat, asam elagat), triterpenoid (asam ursolat), flavonoid (*punica flavone*) dan antosianin.<sup>19</sup> Senyawa asam galat, asam elagat dan asam ursolat berperan sebagai antidislipidemik pada metabolisme lipoprotein jalur *reverse cholesterol transport* dengan cara meningkatkan ekspresi (*ATP-binding cassette transporter A1*) ABCA-1 yang memediasi efluks kolesterol dari makrofag ke HDL *nascent* sehingga terjadi perkembangan HDL menjadi matur (HDL diskoid).<sup>37,38</sup> Senyawa antosianin juga berperan sebagai antidislipidemik pada metabolisme lipoprotein jalur *reverse cholesterol transport* dengan cara inhibisi *Cholesteryl Ester Transfer Protein* (CETP) sehingga dapat mempertahankan kadar kolesterol HDL serum dengan tidak mentransfer inti HDL matur (ester kolesterol) ke partikel lipoprotein lain.<sup>39</sup> Senyawa flavonoid (*punica flavone*) berperan sebagai antidislipidemik pada metabolisme lipoprotein jalur *reverse cholesterol transport* dengan meningkatkan aktivitas enzim *Lecithin Cholesterol Acyltransferase* (LCAT) plasma yang memediasi esterifikasi kolesterol dengan mengubah kolesterol menjadi ester kolesterol yang akan menjadi inti dari HDL sehingga terbentuk HDL yang matur (HDL<sub>3</sub>). Senyawa flavonoid (*punica flavone*) juga berperan sebagai antidislipidemik melalui penghambatan biosintesis kolesterol dan trigliserida seluler melalui penurunan aktivitas enzim HMG-CoA reduktase dan peningkatan aktivitas enzim LPL sehingga penurunan kadar LDL akan meningkatkan kadar HDL.<sup>40-42</sup> Flavonoid (*punica flavone*) dan antosianin dalam bunga delima berperan sebagai antioksidan dengan cara melindungi makrofag dari stress oksidatif dengan meningkatkan ekspresi PON2/Paraoxonase 2 (menghambat pembentukan dan pelepasan spesies oksigen

reaktif (ROS)) mencegah oksidasi LDL sehingga menurunkan pembentukan sel busa dan dapat melemahkan perkembangan aterosklerosis.<sup>20,43</sup>

### 1.5.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian berdasarkan latar belakang dan kerangka pemikiran penelitian Efek Ekstrak Etanol Bunga Delima (EEBD) (*Punica granatum L. flos*) terhadap kadar Kolesterol-HDL serum tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan model aterosklerosis, adalah:

- EEBD dapat meningkatkan kadar K-HDL serum Wistar jantan model aterosklerosis.
- Efektivitas peningkatan kadar K-HDL serum EEBD setara Rosuvastatin.

