

Penyakit jantung Infark Miokard Akut (IMA) saat ini masih menjadi masalah kesehatan yang utama di dunia. Selain karena prevalensinya yang semakin meningkat, penyakit ini juga telah menjadi penyebab kematian yang utama. Infark Miokard Akut (IMA) diartikan sebagai kematian atau nekrosis jaringan miokardial yang terjadi karena iskemia. Iskemia bisa disebabkan karena adanya sumbatan berupa trombus pada arteri koronaria yang mencegah darah mengalir ke suatu daerah otot jantung. Terbentuknya trombus dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah akibat rupturnya plak aterosklerotik dan sekarang diketahui pula karena faktor infeksi mikroorganisme. Matriks Metalloprotease (MMP) merupakan enzim proteolitik yang diproduksi oleh makrofag maupun neutrofil. Enzim MMP dapat berperan dalam ruptur plak aterosklerosis maupun kerusakan sel endotel sehingga dapat memicu terjadinya Infark Miokard Akut (IMA).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa LPS *Helicobacter pylori* dapat menginduksi neutrofil dalam menghasilkan enzim MMP-9 dan enzim tersebut dapat berperan dalam degradasi kolagen tipe IV. Dengan demikian fragmen kolagen tipe IV hasil degradasi enzim MMP-9 dengan berat molekul 72 kDa dapat menjadi antibodi monoklonal yang berfungsi sebagai diagnostik alternatif dalam mendeteksi penyakit IMA yang berkaitan dengan infeksi *Helicobacter pylori* atau terhadap endotoksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

Penulis berharap buku monograf ini dapat menjadi referensi, acuan dan motivasi bagi peneliti lain untuk mengembangkan diagnostik penyakit IMA ataupun penyakit jantung.



Yayasan Barcode

ISBN 978-623-285-219-5



9 786232 852105

AKTIVITAS NEUTROFIL PENDERITA INFARK MIOKARD AKUT MELALUI DEGRADASI KOLAGEN TIPE IV AKIBAT INDUKSI *Helicobacter pylori*



Mudyawati Kamaruddin

AKTIVITAS NEUTROFIL

PENDERITA INFARK MIOKARD AKUT

MELALUI DEGRADASI KOLAGEN TIPE IV

AKIBAT INDUKSI *Helicobacter pylori*

Mudyawati Kamaruddin

AKTIVITAS NEUTROFIL
PENDERITA INFARK MIOKARD AKUT
MELALUI DEGRADASI KOLAGEN TIPE IV
AKIBAT INDUKSI *Helicobacter pylori*



PENERBIT YAYASAN BARCODE
2020

AKTIVITAS NEUTROFIL
PENDERITA INFARK MIOKARD AKUT
MELALUI DEGRADASI KOLAGEN TIPE IV
AKIBAT INDUKSI *Helicobacter pylori*

Penulis :

Mudyawati Kamaruddin

ISBN : 978-623-285-210-5

Design Cover & Layout:

Sulaiman Sahabuddin

Cetakan pertama : 2020

15 X 23 cm

Diterbitkan pertama kali oleh:

YAYASAN BARCODE

Divisi Publikasi dan Penelitian
Jl. Kesatuan 3 No. 9 Kelurahan Maccini Parang
Kecamatan Makassar Kota Makassar
Email: penerbitbarcode@gmail.com
Website : www.yayasanbarcode.com
HP. 0853-4039-1342

Hak cipta dilindungi oleh undang-undang.
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan cara
apapun tanpa ijin penerbit.

PRAKATA

BISMILLAHIRRAHMAANIRRAHIIM

Penyakit jantung Infark Miokard Akut (IMA) saat ini masih menjadi masalah kesehatan yang utama di dunia. Selain karena prevalensinya yang semakin meningkat, penyakit ini juga telah menjadi penyebab kematian yang utama.

Infark Miokard Akut (IMA) diartikan sebagai kematian atau nekrosis jaringan miokardial yang terjadi karena iskemia. Iskemia bisa disebabkan karena adanya sumbatan berupa trombus pada arteri koronaria yang mencegah darah mengalir ke suatu daerah otot jantung. Terbentuknya trombus dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah akibat rupturnya plak aterosklerotik dan sekarang diketahui pula karena faktor infeksi mikroorganisme. *Matriks Metalloprotease* (MMP) merupakan enzim proteolitik yang diproduksi oleh makrofag maupun neutrofil. Enzim MMP dapat berperan dalam ruptur plak aterosklerosis maupun kerusakan sel endotel sehingga dapat memicu terjadinya Infark Miokard Akut (IMA). Hal ini melibatkan degradasi kolagen yang menyusun membran basal lapisan endotel. Beberapa mikroorganisme baik virus maupun bakteri serta produk mikroorganisme tersebut diduga dapat mengaktivasi MMP. Lipopolisakarida (LPS) merupakan salah satu produk yang dihasilkan oleh bakteri Gram negatif. LPS merupakan komponen membran luar bakteri yang tersusun atas molekul yang kompleks, yaitu suatu fragmen dinding sel outer bakteri gram negatif yang terdiri dari komponen lipid dan polisakarida. LPS diistilahkan sebagai endotoksin, dimana kelompok lipid-nya merupakan antigen yang dapat dikenali oleh sistem

immun nonspesifik sedangkan kelompok polisakarida merupakan antigen yang dikenali oleh sistem imun spesifik.

Buku tesis ini berisi proses inflamasi pada aterosklerosis yang disebabkan oleh infeksi mikroorganisme, dimana mikroorganisme tersebut dapat secara langsung menginvasi sel endotel vaskular atau secara tidak langsung dengan cara *systemic effect* sehingga terjadi sepsis, adalah suatu keadaan dimana terjadi reaksi peradangan sistemik (*Inflammatory systemic reaction*) yang dapat disebabkan oleh invasi bakteri, virus, jamur atau parasit.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran LPS *Helicobacter pylori* dalam mendegradasi kolagen pada penderita IMA melalui aktivasi neutrofil dalam memproduksi enzim MMP, dan dibagi dalam dua tahap, yaitu tahap produksi enzim MMP dan tahap degradasi kolagen tipe IV. Pada tahap produksi enzim MMP dilakukan isolasi neutrofil dari penderita IMA dan darah orang sehat, neutrofil yang diperoleh kemudian dipapar oleh lipopolisakarida *Helicobacter pylori*. Supernatan yang diperoleh dari sentrifus neutrofil setelah dipapar LPS *Helicobacter pylori* diduga mengandung enzim MMP. Uji enzim MMP dilakukan dengan menggunakan metode *gelatin zymography*. Enzim MMP yang diperoleh kemudian dipaparkan pada kolagen tipe IV yang diharapkan terjadi degradasi kolagen tipe IV. Dengan menggunakan SDS-PAGE dan Western blotting diperoleh pita-pita hasil degradasi fragmen kolagen tipe IV yang dipaparkan enzim MMP, hasil yang diperoleh diperbandingkan dengan pita-pita kolagen tipe IV murni. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa LPS *Helicobacter pylori* dapat menginduksi neutrofil dalam menghasilkan enzim MMP-9 dan enzim tersebut dapat berperan dalam degradasi kolagen tipe IV. Dengan demikian fragmen kolagen tipe IV hasil degradasi enzim MMP-9 dengan

berat molekul 72 kDa dapat menjadi antibodi monoklonal yang berfungsi sebagai diagnostik alternatif dalam mendeteksi penyakit IMA yang berkaitan dengan infeksi *Helicobacter pylori* atau terhadap endotoksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

Penulis harapkan buku monograf ini dapat menjadi referensi, acuan dan motivasi bagi peneliti lain untuk mengembangkan diagnostik penyakit IMA ataupun penyakit jantung.

Agustus, 2020

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR PENGANTAR_iii

DAFTAR ISI_vi

BAB I. PENDAHULUAN_1

- A. Latar Belakang_1
- B. Rumusan Masalah_5
- C. Tujuan Penelitian_6
 - 1. Tujuan Umum_6
 - 2. Tujuan Khusus_6
- D. Manfaat Penelitian_6

BAB II. INFARK MIOKARD AKUT (IMA)_7

- A. Pengertian IMA_7
- B. Epidemiologi IMA_8
- C. Klasifikasi IMA_9
 - 1. Non ST-Segmen Elevasi Miokard Infark (NSTEMI)_9
 - 2. ST-Segmen Elevasi Miokard Infark (NSTEMI)_10
- D. Tanda dan Gejala IMA_19
- E. Diagnosis IMA_20
- F. Patomekanisme IMA_21
 - 1. IMA terkait Aterosklerosis_21
 - a. Patofisiologi STEMI_23
 - b. Patofisiologi Fungsi Sistol_25
 - c. Patofisiologi Fungsi Diastol_26
 - d. Regulasi Sirkulasi_26
 - e. *Remodelling* Ventrikel_27
 - f. Ruptur Plak_27
 - g. Komposisi Plak_28
 - h. Ketebalan dan Komposisi *fibrous cap*_30
 - i. Respon Trombotik Terhadap Ruptur Plak_30

- j. Jalur Pembekuan Darah_33
 - 2. IMA Terkait Mikroorganisme_36
- G. Endotel dan Disfungsi Endotel_38
 - 1. Endotel_38
 - 2. Fungsi Endotel_39
 - 3. Disfungsi Endotel_41
 - 4. Peran Stress Oksidatif_42
 - 5. Interaksi Antara NO dan Vasokonstriktor_42
- H. Bakteri *Helicobacter pylori*_43
 - 1. Morfologi dan Habitat *Helicobacter pylori*_44
 - 2. Virulensi dan Patogenisitas_47
 - 3. Lipopolisakarida (LPS)_50
 - 4. Peran *Helicobacter pylori* Pada IMA _50
- I. Sel Makrofag dan Sel Polimorfonuklear (PMN) _54
 - 1. Reseptor Pengenalan Pada Makrofag dan PMN_54
- J. *Matriks Metalloprotease* (MMP)_57
 - 1. Aktivasi MMP_63
 - 2. Gelatinase-B atau MMP-9_63
- K. Komponen Kolagen_65
 - 1. Jenis dan Fungsi Kolagen_66
 - 2. Kolagen Tipe IV_66

BAB III. KONSEP PENELITIAN _70

- A. Kerangka Penelitian_70
- B. Hipotesis Penelitian_72

BAB IV. METODE PENELITIAN _73

- A. Jenis dan Subyek Penelitian_73
- B. Variabel Penelitian_73
 - 1. Variabel Terikat_73
 - 2. Variabel Bebas_73
- C. Prosedur Kerja_74
 - 1. Persiapan Alat dan Bahan_74
 - 2. Produksi Enzim MMP_74
 - a. Uji Lipopolisakarisa *H. Pylori*_74
 - b. Isolasi dan Preparasi Neutrofil_75
 - 3. Produksi dan Uji aktivitas Enzim MMP_76

- a. Elektroforesis_76
- b. *Western Blotting*_77
- 4. Uji Degradasi Kolagen Tipe IV_78
 - a. Elektroforesis_79
 - b. *Western Blotting*_79
- D. Analisa Data_80
- E. Kerangka Operasional Penelitian _81

BAB V. HASIL PENELITIAN_82

- A. Tahap Produksi Enzim MMP_82
 - 1. Pengujian LPS dengan Pewarnaan Perak Nitrat_83
 - 2. Isolasi Neutrofil_88
 - 3. Pengujian Interaksi Antibodi Anti Fragmen Kolagen Tipe-IV_89
 - 4. Produksi dan Pengujian Enzim MMP Aktif Menggunakan SDS PAGE – Gelatin Zymography_89
- B. Tahap Degradasi Kolagen Tipe IV_92
 - 1. Analisis Elektroforesis SDS-PAGE_92
 - 2. Analisis *Western Blotting*_94

BAB VI. PEMBAHASAN_96

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN _103

- A. Kesimpulan_103
- B. Saran_103

DAFTAR PUSTAKA_104

LAMPIRAN_116

GLOSARIUM_134

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit jantung Infark Miokard Akut (IMA) saat ini masih menjadi masalah kesehatan yang utama di dunia. Selain karena prevalensinya yang semakin meningkat, penyakit ini juga telah menjadi penyebab kematian yang utama. Tercatat tahun 2000, sebanyak 16,7 juta penduduk atau sekitar 30,3% dari total kematian di seluruh dunia meninggal karena penyakit IMA. Lebih dari setengahnya dilaporkan dari negara berkembang (Tjang, 2004).

Serangan jantung akut biasanya terjadi karena iskemia dan kematian otot jantung atau dikenal dengan istilah infark yang disebabkan oleh terhambatnya pembuluh darah (oklusi). Oklusi terjadi karena adanya gumpalan darah (trombus) yang menyumbat pembuluh darah yang mensuplai oksigen dan nutrisi menuju jantung.

Terbentuknya trombus disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya oleh pecahnya (ruptur) plak aterosklerotik dan ini ditegaskan oleh Rajagapalan, *et al.* (1996) yang menyatakan sebanyak lebih dari 75% kasus penyempitan arteri koroner (stenosis) disebabkan oleh aterosklerosis. Diketahui aterosklerosis merupakan salah satu penyakit peradangan atau inflamasi (istilah inflamasi akan digunakan dalam buku ini untuk menggantikan istilah peradangan) dimana inflamasi ini merupakan respon utama sistem kekebalan tubuh (sistem imun) karena terdapat infeksi dan iritasi. Inflamasi dipengaruhi dan aktif karena faktor kimia seperti histamin, bradikinin, serotonin, leukotrien dan prostaglandin yang dilepaskan oleh sel yang berperan sebagai mediator radang di dalam sistem kekebalan untuk melindungi jaringan sekitar dari penyebaran infeksi. Menurut Göran (2001), proses aterosklerosis berhubungan dengan reaksi imun dalam hal ini pada lesi aterosklerotik, ditemukan adanya makrofag dan limfosit (dalam jumlah banyak), sel mast serta sel B. Pada proses inflamasi, sel-sel radang yang teraktivasi akan

meningkatkan produksi pro-enzim, yaitu bentuk enzim yang belum aktif. Pro-enzim yang dimaksud diantaranya matriks metalloprotease (MMPs). Pro-enzim ini dapat diubah menjadi enzim aktif yang menyebabkan menipisnya (lisis) kolagen (Romanelli *et al.* 1999). Apabila proses ini terjadi pada permukaan plak aterosklerotik maka serabut kolagen yang melindungi plak kemungkinan besar mengalami lisis sehingga menjadi tipis dan akhirnya mudah ruptur.

Beberapa penelitian telah menghubungkan proses inflamasi pada aterosklerosis dengan infeksi mikroorganisme. Seperti yang telah dijelaskan di atas, bahwa proses aterogenesis menyerupai respon inflamasi kronis terhadap mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut dapat secara langsung menyerang sel endotel vaskular atau secara tidak langsung dengan cara *systemic effect* sehingga terjadi sepsis, yaitu suatu kondisi dimana terjadi reaksi peradangan di seluruh tubuh atau secara sistemik (*Inflammatory systemic reaction*) yang dapat disebabkan oleh invasi bakteri, virus, jamur atau parasit (Ross, 1999).

Banyak laporan penelitian yang menunjukkan adanya bukti-bukti kuat bahwa pada keadaan sepsis terjadi gangguan pembekuan darah (koagulasi) yang juga menjadi faktor terbentuknya trombus. Salah satu penyulit yang paling memberikan efek yang sangat berbahaya pada sepsis adalah terjadinya kerusakan organ (*organ damage*), yang apabila dalam fase lanjut akan melibatkan lebih dari satu organ yang rusak (*multiple organ failure=MOF*). Keadaan MOF ini biasanya berhubungan dengan angka kematian yang tinggi (Suliarni, 2003).

Sehubungan dengan infeksi mikroorganisme terhadap sel endotel, maka terjadi peningkatan sitokin yang mengaktifkan sel-sel inflamasi yang berupa leukosit. Leukosit dan trombosit akan menuju ke daerah dimana infeksi terjadi dan terbentuklah bekuan dan jaringan parut. Sel-sel inflamasi tersebut kemudian akan menghasilkan suatu produk, terutama enzim proteolitik yang dapat melisis membran basalis dan jaringan ikat (Bellanti, 1993).

Kerusakan sel endotel dapat meningkatkan pro-koagulan, perlekatan molekul dan menurunkan fibrolisis (Fong, IW, 2000).

Sehubungan dengan penjelasan di atas, salah satu enzim proteolitik yang dihasilkan oleh sel-sel inflamasi adalah enzim MMP. Enzim MMP ini dapat menguraikan matriks ekstraseluler (ECM). Salah satu enzim MMP yang diduga berperan dalam perubahan biologi yang terjadi pada IMA adalah gelatinase B atau yang dikenal sebagai MMP-9 mempunyai berat molekul 92 kDa dan diidentifikasi sebagai suatu protein yang mengikat gelatin (*gelatin-binding protein*) yang disintesis oleh sel-sel leukosit (Vartio *et al*, 1982). Menurut hasil penelitian Worthly *et al* (2001) bahwa meskipun beberapa enzim terlibat dalam perombakan (destruksi) ECM seperti MMP-1 dan MMP-3, tetapi hanya MMP-9 yang mempunyai hubungan kuat terhadap terjadinya ruptur plak aterosklerotik hingga terjadinya IMA. Dikatakan pula kelebihan MMP-9 mampu menguraikan komponen matriks yang tidak mampu diuraikan oleh enzim proteolitik lainnya.

Dilaporkan bahwa meningkatnya MMP-9 merupakan indikasi semakin memburuknya suatu penyakit. Peningkatan MMP-9 dalam serum pernah dilaporkan pada pasien dengan infark miokard dan tipe angina pektoris yang tidak beraturan. Kadar serum MMP-9 meningkat sesuai dengan peningkatan serum *C-Reaktif Protein* (CRP) dan salah satu factor penyebab peningkatan MMP-9 ini adalah *Low-Density Lipoprotein* teroksidasi (ox-LDL)(Kalela, 2002).

Kolagen tipe-IV merupakan komponen utama dari membran basal vaskular yang mudah rusak oleh aktivitas proteolitik enzim MMP, hal ini disebabkan selain karena lokasinya yang berada paling dekat dengan sirkulasi darah juga karena strukturnya yang mengandung protein globuler (*non-collagenous domain*, tidak fibrilar) yang rentan terhadap berbagai enzim proteolitik (Lee and Libby, 1997; Ortega and Werb, 2002; Cimpean and Caloianu, 1997).

Daerah tersebut lebih fleksibel tetapi lebih rentan terhadap proteolisis (Dostal, D.E. 2005). Selain itu, Kolagen tipe-IV ini juga membentuk struktur rantai utama yang berasosiasi dengan makromolekul seperti laminin yang merupakan kompleks kimia dengan integrin, diketahui integrin ini berperan penting dalam perlekatan dan perpindahan sel-sel leukosit.

Diketahui pula pada saat setelah terjadi cedera pembuluh darah (trauma vaskuler), maka diikuti dengan perlekatan trombosit ke permukaan yang bukan merupakan bagian trombosit, melainkan menempel atau melekat terutama pada serat kolagen di sub-endotelium. Trombosit berikatan ke kolagen melalui *Von Willebrand Factor* (vWF) yang merupakan sub-unit dari faktor koagulasi darah dan juga melalui reseptor GP Ib-vWF. Dengan demikian serabut kolagen berperan esensial dalam menginisiasi terjadi penyakit sumbatan arteri.

Salah satu mikroorganisme yang diduga berkaitan dengan IMA adalah bakteri *Helicobacter pylori*. Bakteri ini merupakan bakteri utama penyebab gastritis kronis pada manusia yang paling umum dijumpai di seluruh dunia yaitu suatu penyakit peradangan pada lambung. Beberapa penelitian mengindikasikan infeksi *Helicobacter pylori* juga dikaitkan dengan penyakit ektragastroduodenal antara lain penyakit kardiovaskuler, khususnya ketika strain *Helicobacter pylori* yang lebih virulen ikut terlibat (Pasceri *et al.* 1998). Selain itu, penelitian seroepidemiologi juga menemukan bahwa ada keterkaitan yang nyata antara pasien seropositif *Helicobacter pylori* dengan penderita aterosklerosis (Ameriso, *et al.* 2001) dan Muliarta, dkk (2005).

Akan tetapi, dalam menginfeksi *Helicobacter pylori* tidak ikut dalam peredaran darah sehingga keterlibatan *Helicobacter pylori* pada penderita aterosklerosis mungkin melalui mekanisme sekunder yaitu dengan cara *systemic effect* yang dapat menimbulkan sepsis. Pada *systemic effect*, mikroorganisme dari kelompok bakteri gram negatif melepaskan endotoksin ke

dalam sirkulasi yang secara tidak langsung dapat merusak endotelium vaskular dengan menstimulasi respon imun (Fong, I.W., 2000). Endotoksin yang ikut dalam peredaran darah akan menimbulkan suatu *echo*, yaitu suatu kondisi dimana terjadinya aktivasi sel-sel yang berhubungan dengan atheroma yang disebabkan oleh produk bakteri, dimana sel-sel yang teraktivasi tersebut akan menghasilkan sitokin sebagai respon terhadap infeksi ekstraseluler. Sitokin akan melepaskan *interleukin-1* (IL-1) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α).

Diketahui *Helicobacter pylori* merupakan bakteri gram negatif yang mempunyai endotoksin berupa lipopolisakarida (LPS). Diketahui LPS ini berhubungan dengan patogenesis dari strain *Helicobacter pylori* karena merupakan antigen yang dapat dikenali oleh sistem pertahanan tubuh baik nonspesifik maupun spesifik serta melibatkan salah satu sistem reseptor berupa *toll-like receptor* (TLR4). Walaupun demikian penelitian tentang LPS *Helicobacter pylori* sehubungan dengan aterosklerosis belum pernah dilaporkan.

B. Masalah Penelitian

Berdasarkan uraian di atas, muncul pokok permasalahan penelitian “Apakah LPS *Helicobacter pylori* dapat menginduksi neutrofil penderita IMA dalam menghasilkan enzim MMP sehingga dapat mendegradasi kolagen tipe-IV ?”

Untuk menjawab pokok permasalahan penelitian tersebut di atas, perlu dilakukan penelitian terhadap beberapa sub permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah enzim MMP yang dihasilkan oleh neutrofil penderita IMA setelah diinduksi oleh LPS *Helicobacter pylori* adalah merupakan enzim MMP aktif ?
2. Apakah enzim MMP aktif yang dihasilkan oleh neutrofil penderita IMA tersebut merupakan enzim MMP-9 ?

3. Bagaimana karakterisasi pita fragment kolagen tipe IV hasil penguraian dari enzim MMP-9 aktif ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui induksi LPS *Helicobacter pylori* terhadap neutrofil penderita IMA dalam menghasilkan enzim MMP dan membuktikan enzim MMP tersebut dalam kapasitasnya menguraikan kolagen tipe-IV.

2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktifnya enzim MMP yang dihasilkan oleh neutrofil penderita IMA.
2. Membuktikan enzim MMP yang dihasilkan neutrofil penderita IMA merupakan MMP-9 aktif.
3. Mengetahui karakteristik pita fragment kolagen tipe IV hasil penguraian oleh enzim MMP-9 aktif berupa berat molekul.

D. Manfaat Penelitian

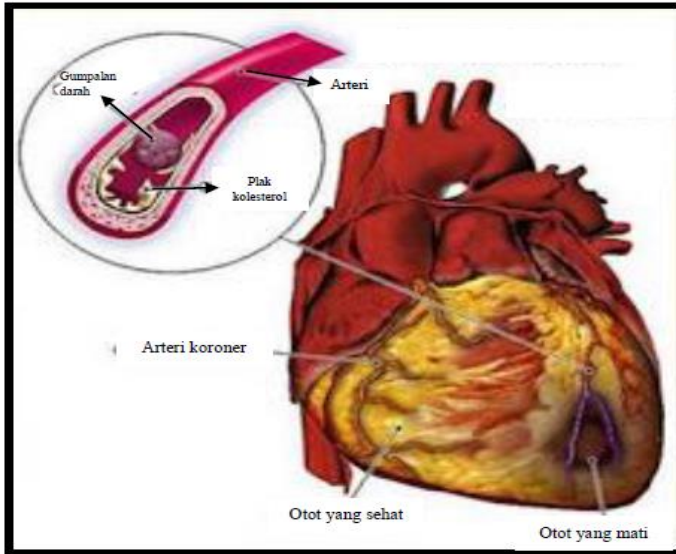
Hasil penelitian ini menjadi sangat penting bagi masyarakat luas, baik dari akademisi maupun masyarakat awam yaitu untuk menambah pemahaman tentang mekanisme terjadinya (patomekanisme) IMA yang berkaitan dengan induksi mikroorganisme khususnya *Helicobacter pylori* (LPS), sehingga masyarakat dapat mewaspadaai setiap infeksi mikroba kemungkinan dapat berakibat ke penyakit jantung. Selain itu, hasil temuan adanya fragmen kolagen tipe-IV yang diinduksi oleh LPS *Helicobacter pylori* diharapkan dapat menjadi marker biokemis bagi penderita IMA yang disebabkan infeksi mikroorganisme khususnya infeksi dari *Helicobacter pylori*.

INFARK MIOKARD AKUT

A. Pengertian Infark Miokard Akut

Infark Miokard Akut (IMA) secara umum diketahui sebagai serangan jantung yang mematikan. Definisi IMA diartikan sebagai kematian atau nekrosis jaringan miokardial yang terjadi karena iskemia, dimana keadaan ketidakseimbangan antara suplai dan kebutuhan oksigen serta nutrien untuk bekerjanya jantung secara normal. Iskemia bisa disebabkan karena adanya sumbatan pada arteri koronaria yang mencegah darah mengalir ke suatu daerah otot jantung (Bajzer, 2005). Dengan demikian sel jantung yang terdapat di daerah tersebut mengalami kekurangan oksigen (O_2) atau mengalami hipoksia. Oleh karena sel ini tidak dapat membuat ATP maka membran menjadi rusak dan terjadi kebocoran enzim dari sel tersebut ke dalam darah.

Kematian sel miokardial pertama kali terjadi pada daerah yang letaknya paling jauh (distal) yaitu endokardium, kemudian oklusi meningkat pada daerah miokardium dan akhirnya daerah epikardium dari miokardial.



Gambar 1. Proses terjadinya IMA dan Serangan Jantung

B. Frekuensi dan Penyebaran Penyakit IMA

Berdasarkan data dari *the World Health Organization* (WHO) tahun 2004, menyatakan bahwa penyakit IMA merupakan penyebab kematian utama di dunia. Terhitung sebanyak 7.200.000 atau sekitar 12,2% kematian terjadi akibat penyakit IMA di seluruh dunia. Sebanyak 1.000.000 orang di Amerika Serikat diperkirakan menderita IMA tiap tahunnya dan 300.000 orang meninggal karena IMA sebelum sampai ke rumah sakit. Jumlah pasien penyakit jantung menjalani rawat inap dan rawat jalan di rumah sakit di Indonesia mencapai 239.548 jiwa. *Case Fatality Rate* (CFR) tertinggi terjadi pada pasien IMA (13,49%) dan kemudian diikuti oleh gagal jantung (13,42%) dan penyakit jantung lainnya (13,37%). Tahun 2013, sekitar 478.000 pasien di Indonesia didiagnosa penyakit Jantung Koroner (PJK). Sedangkan saat ini, prevalensi ST Segment Elevation Myocardial Infarction (STEMI) meningkat dari 25% menjadi 40% dari presentasi semua kejadian infark miokard.

C. Klasifikasi IMA

Infark Miokard Akut dikelompokkan berdasarkan hasil elektrokardiogram (EKG) menjadi 3 kelompok yaitu:

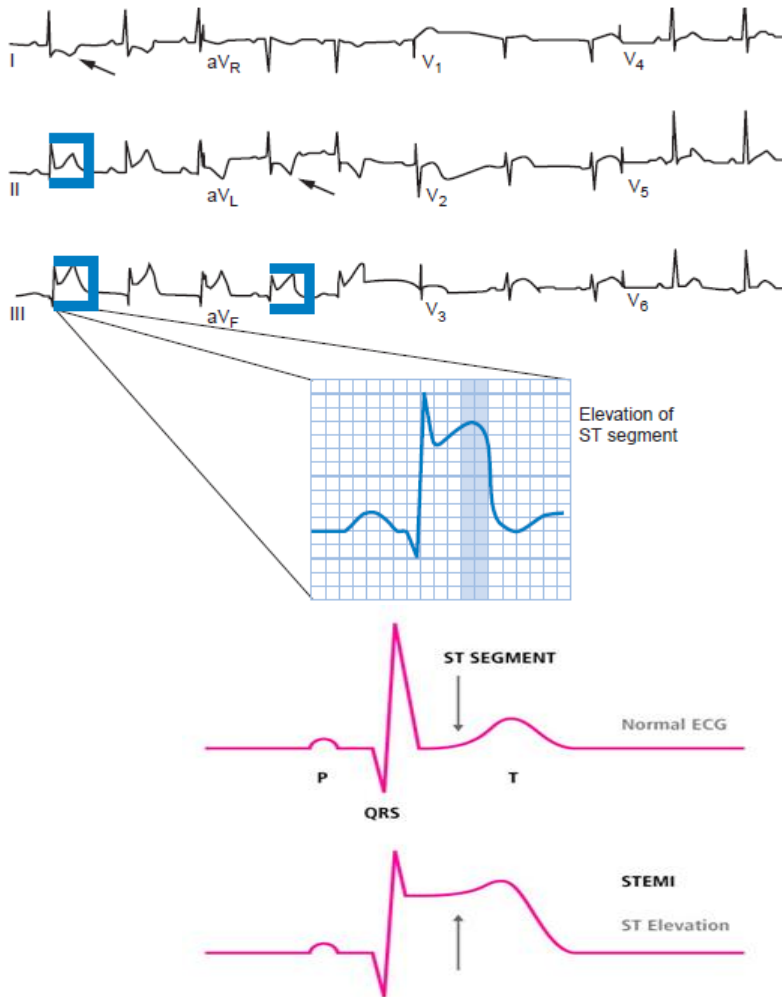
1. Infark Miokard dengan elevasi segmen ST (*ST-segmen Elevasi Miokard Infark* atau STEMI)

Pada kelompok STEMI ini terjadi oklusi total pembuluh darah arteri koroner yang menyebabkan area infark yang lebih luas meliputi seluruh ketebalan miokardium yang ditandai dengan adanya elevasi segmen ST pada EKG.

Keadaan ini memerlukan tindakan revasikularisasi untuk mengembalikan aliran darah dan reperfusi miokard secepatnya, secara mekanis dengan intervensi koroner perkutan primer seperti pemasangan *stent* dan kateter balon. Sedangkan secara medikamentosa dengan menggunakan agen brinolitik.

Diagnosa STEMI ditegakkan jika terdapat keluhan angina pektoris akut disertai elevasi segmen ST yang persisten di dua sadapan yang bersebelahan. Inisiasi tatalaksana revaskularisasi tidak memerlukan menunggu hasil peningkatan marka jantung.

IMA dengan elevasi segmen ST, merupakan bagian dari spektrum sindrom koroner akut (SKA) yang terdiri dari angina pektoris tidak stabil, IMA tanpa elevasi ST, dan IMA dengan elevasi ST. Kelompok IMA-STEMI ini dapat terjadi jika aliran darah koroner menurun secara mendadak akibat terjadinya oklusi trombus pada plak aterosklerotik yang sudah ada sebelumnya. Trombus arteri koroner dapat terjadi secara cepat pada lokasi injuri vaskuler, yang dimana injuri ini dicetuskan oleh beberapa faktor seperti merokok, hipertensi dan akumulasi lipid (Sudoyo, 2010).



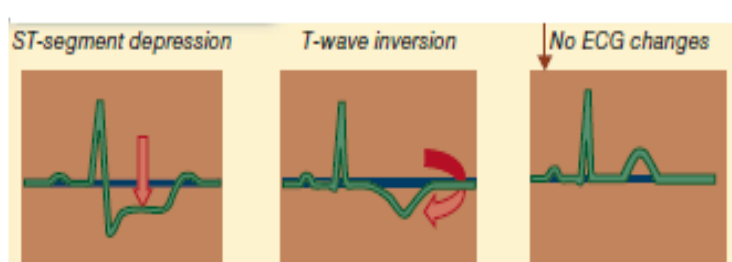
Gambar 2. Perubahan EKG terkait STEMI (Alldredge, 2011)

2. Infark Miokard dengan non elevasi segmen ST (*Non ST-segmen Elevasi Miokard Infark* atau NSTEMI)

Oklusi parsial dari arteri koroner akibat trombus dari plak aterosklerosis, tidak disertai adanya elevasi segmen ST pada EKG. Berdasarkan kejadian infark miokard yang ditandai dengan peningkatan marka jantung. Marka jantung yang

lazim digunakan adalah Troponin I/T atau CK-MB. Bila hasil pemeriksaan biokimia marka jantung terjadi peningkatan bermakna.

Diagnosa NSTEMI ditegakkan jika terdapat keluhan angina pectoris akut tanpa elevasi segmen ST yang persisten di dua sadapan yang bersebelahan. Rekaman EKG saat presentasi dapat berupa depresi segmen ST, inversi gelombang T, gelombang T yang datar, gelombang T pseudo-normalization, atau bahkan tanpa perubahan.



Gambar 3. Perubahan EKG NSTEMI (Dipiro *et al*, 2016)

3. Angina Pectoris tidak stabil (*Unstable angina Pectoris* atau UAP)

Diagnosa angina pectoris tidak stabil sama pada diagnosa pada NSTEMI, hanya saja perbedaannya pada kejadian infark miokard yang ditandai marka jantung tidak meningkat secara bermakna. Pada sindroma koroner akut, nilai ambang untuk peningkatan CK-MB yang abnormal adalah beberapa unit melebihi nilai normal atas (*upper limits of normal*, ULN).

Berdasarkan penelitian berskala luas dalam *interheart study* menunjukkan kadar lipid yang abnormal, riwayat merokok, hipertensi, Diabetes mellitus, obesitas abdominal, faktor psikososial, pola diet, konsumsi alkohol serta aktivitas fisik secara signifikan berhubungan dengan infark miokard akut

baik pada STEMI maupun NSTEMI. Secara garis besar, faktor risiko tersebut terbagi menjadi dua kelompok berdasarkan dapat atau tidaknya dimodifikasi, yaitu:

➤ Tidak dapat dimodifikasi (*Non-Modifiable*)

- Usia

Resiko aterosklerosis koroner meningkat seiring bertambahnya usia. Penyakit yang serius jarang terjadi sebelum usia 40 tahun. Faktor risiko lain masih dapat diubah, sehingga berpotensi dapat memperlambat proses aterogenik. Seluruh jenis penyakit jantung koroner termasuk STEMI yang terjadi pada usia lanjut mempunyai risiko tinggi kematian dan *adverse events*.

- Jenis Kelamin

Laki-laki memiliki risiko lebih besar terkena serangan jantung dan kejadiannya lebih awal daripada wanita. Morbiditas penyakit ini pada laki-laki lebih besar daripada wanita dan kondisi ini terjadi hampir 10 tahun lebih dini daripada wanita. Studi lain menyebutkan wanita mengalami kejadian infark miokard pertama kali 9 tahun lebih lama daripada laki-laki. Perbedaan onset infark miokard pertama ini diperkirakan dari berbagai faktor risiko tinggi yang mulai muncul pada wanita dan laki-laki ketika berusia muda. Wanita sepertinya relatif kebal terhadap penyakit ini sampai menopause, dan kemudian menjadi sama rentannya seperti pria.

Hal diduga karena adanya efek perlindungan esterogen.

- **Ras**
Ras kulit putih lebih sering terjadi serangan jantung daripada ras African American. Kelompok masyarakat kulit putih maupun kulit berwarna, laki-laki mendominasi kematian, tetapi lebih nyata pada kulit putih dan sering ditemukan pada usia muda daripada usia lebih tua. Insidensi kematian dini akibat penyakit jantung koroner pada orang Asia yang tinggal di Inggris lebih tinggi dibandingkan dengan populasi lokal dan juga angka yang rendah pada ras Afro-Karibia.
- **Riwayat Keluarga**
Riwayat keluarga pada kasus penyakit jantung koroner yaitu keluarga langsung yang berhubungan darah pada pasien berusia kurang dari 70 tahun merupakan faktor risiko independen. Agregasi Penyakit Jantung Koroner (PJK) keluarga menandakan adanya predisposisi genetik pada keadaan ini. Terdapat beberapa bukti bahwa riwayat keluarga yang positif dapat mempengaruhi usia onset PJK pada keluarga dekat. Faktor familial dan genetika mempunyai peranan bermakna dalam patogenesis PJK, hal tersebut dipakai juga sebagai pertimbangan penting dalam diagnosis, penatalaksanaan dan juga pencegahan PJK.

- Dapat dimodifikasi (*Modifiable*)
 - Tekanan Darah Tinggi (Hipertensi)
Risiko serangan jantung secara langsung berhubungan dengan tekanan darah, setiap penurunan tekanan darah diastolik sebesar 5 mmHg risikonya berkurang sekitar 16%. Hipertensi adalah peningkatan tekanan darah sistolik sedikitnya 140 mmHg dan atau tekanan diastolik sedikitnya 90 mmHg. Peningkatan tekanan darah sistemik meningkatkan ketahanan pembuluh darah (resistensi vaskuler) terhadap pemompaan darah dari ventrikel kiri. Akibatnya kerja jantung bertambah, sehingga ventrikel kiri mengalami pembesaran (hipertrofi) untuk meningkatkan kekuatan pompa. Bila proses aterosklerosis terjadi, maka penyediaan oksigen untuk miokard berkurang. Tingginya kebutuhan oksigen karena hipertrofi jaringan tidak sesuai dengan rendahnya kadar oksigen yang tersedia. Secara sederhana dikatakan peningkatan tekanan darah mempercepat aterosklerosis dan arteriosklerosis sehingga ruptur dan oklusi vaskuler terjadi 20 tahun lebih cepat daripada orang yang mempunyai tekanan darah normal (normotensi).
 - Diabetes Mellitus
Diabetes Mellitus atau disingkat DM akan menyebabkan proses penebalan membran basalis dari

kapiler dan pembuluh darah arteri koronaria, sehingga terjadi penyempitan aliran darah ke jantung. Insiden serangan jantung meningkat 2 hingga 4 kali lebih besar pada pasien yang dengan DM. Orang dengan diabetes cenderung lebih cepat mengalami degenerasi dan disfungsi endotel. Diabetes mellitus berhubungan dengan perubahan fisik-patologi pada sistem kardiovaskuler. Diantaranya dapat berupa disfungsi endotelial dan gangguan pembuluh darah yang pada akhirnya meningkatkan risiko terjadinya *coronary artery diseases* (CAD).

- Dislipidemia (Kadar Lemak Darah yang tidak Normal)

Abnormalitas kadar lipid serum yang merupakan faktor resiko adalah hiperlipidemia yang merupakan peningkatan kadar kolesterol atau trigliserida serum di atas batas normal. *The National Cholesterol Education Program* (NCEP) menemukan kolesterol LDL sebagai faktor penyebab penyakit jantung koroner. *The Coronary Primary Prevention Trial* (CPPT) memperlihatkan bahwa penurunan kadar kolesterol juga menurunkan mortalitas akibat infark miokard.

Dislipidemia diyakini sebagai faktor resiko mayor yang dapat dimodifikasi untuk perkembangan dan perubahan secara progresif atas terjadinya PJK. Kolesterol ditransfer

dalam darah dalam bentuk lipoprotein, 75% merupakan lipoprotein densitas rendah (*Low Density Lipoprotein* atau LDL) dan 20% merupakan lipoprotein densitas tinggi (*High Density Lipoprotein* atau HDL). Kadar kolesterol HDL yang rendah memiliki peran yang baik pada PJK dan terdapat hubungan terbalik antara kadar HDL dan insiden PJK. Peningkatan kadar lemak berhubungan dengan proses aterosklerosis. Berikut ini faktor risiko dari faktor lipid darah yaitu: total kolesterol plasma > 200 mg/dl, kadar LDL > 130 mg/dl, kadar trigliserida > 150 mg/dl, kadar HDL < 40 mg/dl.

- Berat Badan Berlebihan (*Overweight*) dan Kegemukan (*Obesitas*)

Overweight dan *obesitas* meningkatkan resiko PJK. Sekitar 25 – 49% PJK di negara berkembang berhubungan dengan peningkatan indeks massa tubuh (IMT). *Overweight* didefinisikan sebagai IMT > 25-30 kg/m² dan obesitas dengan IMT > 30 kg/m². Obesitas sentral atau obesitas abdominal adalah obesitas dengan kelebihan lemak berada di daerah bagian perut (abdomen). Biasanya keadaan ini juga berhubungan dengan kelainan metabolik seperti peninggian kadar trigliserida, penurunan HDL, peningkatan tekanan darah, inflamasi sistemik,

resistensi insulin dan diabetes melitus tipe II.

Dari data Framingham menunjukkan bahwa apabila setiap individu mempunyai berat badan optimal, akan terjadi penurunan insiden PJK sebanyak 25% dan stroke/*cerebrovascular accident* (CVA) sebanyak 3,5%. Penurunan berat badan diharapkan dapat menurunkan tekanan darah, memperbaiki sensitivitas insulin, pembakaran glukosa dan menurunkan dislipidemia. Hal tersebut dapat ditempuh dengan cara mengurangi asupan kalori dan menambah aktifitas fisik.

- Riwayat Merokok
Merokok meningkatkan resiko terkena PJK sebesar 50%. Orang yang tidak merokok dan tinggal bersama perokok menjadi perokok pasif memiliki peningkatan resiko sebesar 20 – 30% dibandingkan dengan orang yang tinggal dengan bukan perokok. Di Inggris, sekitar 300.000 kematian karena penyakit kardiovaskuler berhubungan dengan rokok. Penggunaan tembakau berhubungan dengan kejadian miokard infark akut prematur di daerah Asia Selatan. Merokok menaikkan risiko serangan jantung 2 sampai 3 kali. Sekitar 24% kematian akibat PJK pada laki-laki dan 11% pada perempuan disebabkan kebiasaan meroko. Pemeriksaan yang dilakukan pada usia muda

dewasa dibawah usia 34 tahun, dapat diketahui terjadinya atherosklerosis pada lapisan pembuluh darah (tunika intima) sebesar 50%. Berdasarkan literatur yang ada hal tersebut banyak disebabkan karena kebiasaan merokok dan penggunaan kokain.

- Faktor Psikososial
Faktor psikososial seperti peningkatan stres kerja, rendahnya dukungan sosial, personalitas yang tidak simpatik, ansietas dan depresi secara konsiten meningkatkan resiko terkena aterosklerosis. Stress merangsang sistem kardiovaskuler dengan dilepasnya *catecholamine* yang meningkatkan kecepatan denyut jantung dan pada akhirnya dapat menimbulkan vasokonstriksi pembuluh darah koronaria. Beberapa ilmuwan mempercayai bahwa stress menghasilkan suatu percepatan dari proses aterosklerosis pada arteri koroner. Perilaku yang rentan terhadap terjadinya penyakit koroner (kepribadian tipe A) antara lain sifat agresif, kompetitif, kasar, sinis, keinginan untuk dipandang, keinginan untuk mencapai sesuatu, gangguan tidur, kemarahan di jalan, dan lain-lain. Baik ansietas maupun depresi merupakan prediktor penting bagi PJK.
- Aktivitas Fisik
Olah raga secara teratur akan menurunkan tekanan darah sistolik,

menurunkan kadar katekolamin di sirkulasi, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, meningkatkan kadar HDL lipoprotein, memperbaiki sirkulasi koroner dan meningkatkan percaya diri. Diperkirakan sepertiga laki-laki dan dua per tiga perempuan tidak dapat mempertahankan irama langkah yang normal pada kemiringan gradual (3 mph pada gradien 5%). Olah raga yang teratur berkaitan dengan penurunan insiden PJK sebesar 20 – 40%. Olah raga secara teratur sangat bermanfaat untuk menurunkan faktor risiko seperti kenaikan HDL-kolesterol dan sensitivitas insulin serta menurunkan berat badan dan kadar LDL-kolesterol. Pada latihan fisik akan terjadi dua perubahan pada sistem kardiovaskuler, yaitu peningkatan curah jantung dan redistribusi aliran darah dari organ yang kurang aktif ke organ yang aktif.

- **Gaya Hidup**
Resiko terkena infark miokard meningkat pada pasien yang mengkonsumsi diet yang rendah serat, kurang vitamin C dan E, dan bahan-bahan polisitemikal.

D. Tanda Dan Gejala IMA

Infark miokard akut menimbulkan gejala yang unik pada tiap-tiap pasien secara individu. Derajat gejalanya (simptom) berkisar dari tidak ada sama sekali sampai kematian mendadak. Infark miokard

asimtomatik biasanya diabetik. Berikut ini beberapa simptom karakteristik infark miokard yang biasa terjadi.

1. *Chest pain* (nyeri dada), digambarkan sebagai sensasi tekanan pada seluruh atau pada bagian tengah thorak.
2. Radiasi nyeri dada dapat mencapai rahang/gigi, pundak, lengan dan atau punggung.
3. Dispnea atau nafas pendek.
4. Gangguan epigastrik dengan atau tanpa mual dan muntah
5. Diaporesis atau berkeringat
6. Sinkop atau hampir sinkop (pingsan atau hampir pingsan tanpa adanya penyebab lain).

IMA dapat terjadi kapan saja sepanjang hari, tetapi kebanyakan terjadi pada beberapa jam setelah bangun pagi dan atau setelah melakukan aktivitas fisik. Hampir 50% pasien menderita angina pectoris sebelum mengalami infark.

E. Diagnosis IMA

Diagnosis langsung IMA dapat dilakukan pada penderita yang memiliki sejumlah faktor risiko aterosklerosis disertai dengan gejala yang konsisten tidak adanya aliran darah ke jantung. Pasien yang dicurigai menderita IMA dapat segera dikonfirmasi dengan beberapa pemeriksaan. Tes tersebut meliputi pemeriksaan elektrokardiografi (EKG), tes darah dan ekokardiografi.

Tes darah dilakukan untuk mendeteksi adanya kematian sel-sel miokardial. Sel-sel jantung mengandung enzim dan protein-protein tertentu, misalnya kreatinin phosphokinase, troponin dan mioglobin di dalam membran yang berkaitan dengan fungsi khusus seperti kontraksi. Bila satu sel otot jantung mati, membran sel akan kehilangan integritasnya dan enzim-enzim tersebut dapat dideteksi dengan analisis sampel darah. Konsentrasi enzim dalam

sampel darah dan perubahan konsentrasi dalam sampel dari waktu ke waktu berkorelasi dengan jumlah sel otot jantung yang mati. Tabel 1. di bawah ini menunjukkan nilai normal tes darah untuk deteksi IMA (Bajzer, 2005).

Konsep terkini serangan jantung akut diyakini merupakan implikasi proses inflamasi yang melibatkan respon imunitas yang kompleks. Alasannya, beberapa marker inflamatori ditemukan meningkat pada penyakit jantung akut, diantaranya adalah *C-reactive protein*, *Interleukin-6*, *ligan CD40*, *molekul adhesi*, *endotoksin bakteri*, *Heat-shock protein 60* dan *pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A)* (Naghavi, *et al.*, 2003; Muhlestein, *et al.*, 2000).

Tabel 1. Nilai Normal Tes Darah untuk Deteksi IMA

Analisis	Rentangan normal
Total creatinine phosphokinase (CPK)	30 – 200
CPK, fraksi MB	0,0 – 8,8 ng/ml
CPK, persen fraksi MB dari total CPK	0 – 4 %
CPK, fraksi MB2	< 1 U/L
Troponin I	0,0 – 0,4 ng/mL
Troponin T	0,0 – 0,1 ng/mL

F. Proses Terjadinya IMA

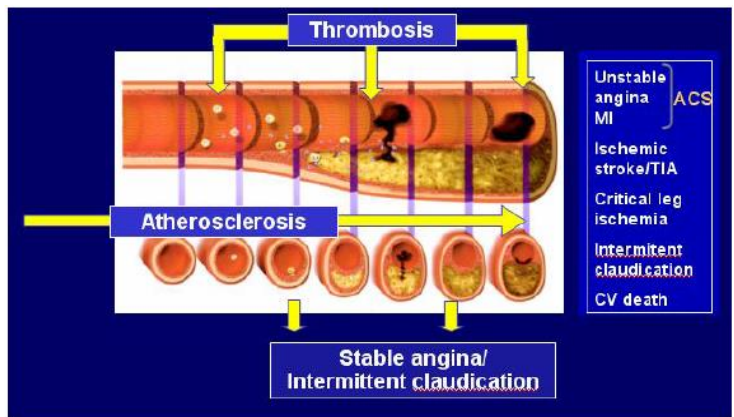
Telah diketahui penyebab utama gangguan suplai oksigen dan nutrien ke jantung adalah adanya trombus. Terbentuknya trombus dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah akibat pecahnya (ruptur) plak aterosklerotik dan sekarang diketahui pula karena faktor infeksi mikroorganisme.

1. IMA Terkait Aterosklerosis

Sebagian besar kasus IMA terkait dengan aterosklerotik sehingga faktor risiko aterosklerotik berarti merupakan faktor risiko IMA pula. Aterosklerotik merupakan penyakit yang sangat kompleks, sejauh ini yang baru diketahui adalah faktor resikonya yang bersifat multifaktorial antara

lain dislipidemia, hipertensi, merokok, diabetes mellitus, obesitas dan inaktivasi. Kemudian ditambah dengan faktor genetik, ras, stres, asam urat, agregasi trombosit, fibrinogen, penyalahgunaan alkohol dan pengaruh radikal bebas atau ROS (Ross, 1999).

Terjadinya IMA yang berkaitan dengan aterosklerosis diawali oleh rupturnya plak ateroma yang kemudian akan memicu terbentuknya trombus. Aterosklerotik adalah suatu penyakit koroner yang ditandai oleh timbulnya plak ateroma, suatu tungkuk pada dinding arteri. Timbulnya plak ateroma ini menyebabkan penyempitan lumen arteri dan apabila plak mengalami ruptur akan menimbulkan trombosis yang dapat menghambat lumen arteri (Falk *et al.* 1995). Gangguan aliran darah ini dapat menyebabkan terjadinya iskemik dan kematian jaringan di daerah aliran arteri, khususnya pada daerah-daerah yang miskin sirkulasi kolateral seperti jantung dan otak. Keadaan ini sering menyebabkan kematian.



Gambar 4. Perjalanan Proses IMA Terkait Aterosklerosis (Depkes, 2008)

Perkembangan plak aterosklerotik terjadi dalam beberapa tahun sampai beberapa dasawarsa.

Plak aterosklerotik merupakan struktur yang aktif (dinamik), yang integritas strukturnya tergantung pada remodeling secara terus menerus dari ECM. Perubahan struktur ECM secara umum juga turut andil dalam proses aterogenesis dan aterosklerosis yang berdampak patologis sehingga memunculkan manifestasi klinis. Peranan ECM telah banyak diketahui antara lain ialah turut berperan dalam pengaturan perlekatan sel (regulasi adhesi sel), migrasi dan proliferasi seluler dalam perkembangan penyakit vaskular.

Pada proses aterosklerosis para peneliti membagi gambaran vascular sebagai berikut:

- 1). Fase menengah yaitu fase lesi vascular morfologi IV dan V

Pada fase IV telah terbentuk ateroma, pada fase V ada perubahan pada ECM dengan terbentuknya fibroateroma, pada fase ini terdapat plak fibrolipid, plak fibrous yang berisi plak inti lemak.

- 2). Fase lanjut yang terdiri dari fase VI dan VII.

Pada fase lanjut fase VI berpengaruh pada permukaan dinding dalam vaskular dan pada fase VII, dinding vaskular mengalami kalsifikasi sehingga plak bersifat keras dengan lumen yang menyempit.

a. Patofisiologi STEMI

Lapisan endotel pembuluh darah koroner yang normal akan mengalami kerusakan karena berbagai faktor resiko, antara lain: faktor pergerakan aliran darah atau hemodinamik seperti hipertensi, zat vasokonstriktor, mediator seperti sitokin, rokok, diet aterogenik, kadar gula darah berlebih, dan oksidasi LDL-C. LDL teroksidasi

menyebabkan kematian sel dan menghasilkan respon inflamasi.

Terjadi pula respon angiotensin II, yang menyebabkan penyempitan lumen pembuluh darah yang disebut vasokonstriksi atau vasospasme, dan menyetuskan efek protrombik dengan melibatkan platelet dan faktor koagulasi. Kerusakan endotel memicu terjadinya reaksi inflamasi, sehingga terjadi respon protektif dan terbentuk lesi *fibro-fatty* dan fibrous, serta plak aterosklerotik. Plak aterosklerotik yang terbentuk dapat menjadi tidak stabil dan mengalami ruptur dan menyebabkan sindroma koroner akut. Infark terjadi jika plak aterosklerotik mengalami fisur atau robekan, ruptur, atau ulserasi (lesi yang berbentuk seperti kawah) sehingga terjadi trombus mural (gumpalan darah yang terbentuk dan melekat pada dinding dalam jantung) pada lokasi ruptur yang mengakibatkan oklusi arterikoroner, sehingga pasokan oksigen terhambat. Penelitian menunjukkan bahwa plak aterosklerotik cenderung mudah mengalami ruptur jika *fibrous cap* tipis dan mengandung inti kaya lipid (*lipid rich core*). Gambaran patologis klasik pada STEMI terdiri atas *fibrin rich red thrombus*, yang dipercaya menjadi dasar sehingga STEMI memberikan respon terhadap terapi trombolitik. Reaksi koagulasi diaktivasi oleh pajanan *tissue activator* pada sel endotel yang rusak. Faktor VII dan X diaktivasi, mengakibatkan konversi pro-trombin menjadi trombin, yang kemudian mengkonversi fibrinogen menjadi fibrin. Arteri koroner yang terlibat akan mengalami oklusi oleh trombus yang terdiri atas agregat trombosit dan fibrin. IMA dengan elevasi ST terjadi jika aliran

darah koroner menurun secara mendadak akibat oklusi trombus pada plak aterosklerotik yang sudah ada sebelumnya.

Penyebab lain infark miokard tanpa aterosklerosis koronaria antara lain emboli arteri koronaria, kelainan arteri koronaria kongenital, vasospasme koronaria terisolasi, areritis traumatik, gangguan hematologik, dan berbagai penyakit inflamasi sistemik.

b. Patofisiologi Fungsi Sistol

Daerah miokard yang mendapat perdarahan dari arteri koroner yang tersumbat akan mengalami penurunan fungsi dan kontraktilitas, yaitu kemampuan sel-sel otot jantung dalam memberikan reaksi terhadap rangsang kontraksi. Adapun empat macam kontraksi abnormal yang mungkin terjadi adalah: 1) *dysynchrony* (disinkronkan); 2) *hypokinesis* (hipokinesia atau kurangnya mobilitas); 3) *akinesis* (hilangnya gerakan); dan 4) *dyskinesis* (gerakan yang tidak terkendali, seperti pada lidah, bibir atau wajah dll). Karena adanya daerah yang mengalami infark, maka akan terjadi kompensasi yaitu berupa terjadinya hiperkinesis dari daerah miokard yang tidak mengalami infark serta terjadi peningkatan aktivitas saraf simpatis dan mekanisme “*Frank-Starling*“. Terjadinya hiperkinesis ini dinilai tidak efektif, karena adanya kontraksi dari daerah miokard yang tidak mengalami infark ini akan menimbulkan *dyskinesis* daerah miokard yang mengalami infark. Peningkatan kerja daerah miokard yang tidak mengalami infark tersebut berlangsung selama kurang lebih dua pekan setelah terjadinya infark. Pasien dengan IMA sering kali menunjukkan berkurangnya kontraksi

miokard pada daerah yang tidak mengalami infark. Hal ini terjadi karena adanya obstruksi arteri yang mendarahi daerah yang tidak mengalami infark tersebut dan berkurangnya pembuluh darah kolateral karena terjadi sumbatan atau oklusi, kejadian ini disebut iskemik jarak jauh. Jika iskemik miokard yang terjadi luas, maka akan terjadi penurunan fungsi pompa ventrikel kiri, *cardiac output* (curah jantung), dan volume stroke, dan terjadi peningkatan *end-systolic volume*. Semakin tinggi *end-systolic volume* (sisa darah yang terdapat di ventrikel) berbanding lurus dengan rata-rata kematian akibat IMA.

c. Patofisiologi Fungsi Diastol

Fungsi diastol pada ventrikel kiri agak sedikit diubah, yaitu pada awalnya akan terjadi peningkatan pengisian volume ventrikel kiri, dan pada akhirnya akan terjadi penurunan pengisian volume ventrikel kiri. Derajat abnormalitas diastolik ini berbanding lurus dengan luasnya daerah infark miokard, yaitu semakin luas terjadinya infark miokard maka abnormalitas diastolik ini akan semakin berat.

d. Regulasi Sirkulasi

Penurunan fungsi ventrikel kiri menyebabkan menurunnya volume stroke, dan terjadinya peningkatan tekanan pengisian ventrikel. Penurunan volume stroke ventrikel kiri ini akan menyebabkan penurunan tekanan aorta dan tekanan perfusi koroner.

Ketidakmampuan pengosongan ventrikel kiri menyebabkan peningkatan *preload* atau beban awal dimana otot jantung diregangkan sebelum ventrikel kiri berkontraksi, sehingga ventrikel kiri mengalami pemuatan atau

terdilatasi dan perfusi kembali normal, dan menormalkan kembali fungsi ventrikel kiri. Mekanisme kompensasi ini mengembalikan volume stroke menjadi normal, akan tetapi terjadi penurunan fraksi ejeksi, yaitu terjadi penurunan jumlah darah yang dipompa selama setiap kontraksi dari ventrikel. Namun dilatasi ventrikel kiri ini menyebabkan juga peningkatan *afterload* atau beban akhir yaitu tahanan yang harus dihadapi saat darah dikeluarkan dari ventrikel. Peningkatan *afterload* tidak hanya akan menurunkan volume stroke tetapi juga meningkatkan konsumsi oksigen miokard, yang nantinya akan mengakibatkan iskemik miokard, dan pada akhirnya akan terjadi kematian sel (nekrosis). Apabila sebagian besar ventrikel kiri sudah mengalami nekrosis, maka akan terjadi kegagalan pompa jantung, yaitu keseluruhan ventrikel kiri akan menurun dan mekanisme kompensasi dilatasi ventrikel menjadi tidak efektif.

e. Remodelling Ventrikel

Remodelling ventrikel adalah perubahan besar, bentuk dan ketebalan dari seluruh segmen ventrikel yaitu daerah yang mengalami infark dan daerah yang tidak mengalami infark sebagai akibat dari infark miokard. Proses ini dapat mempengaruhi fungsi ventrikel dan prognosis. Dua komponen yang paling bertanggung jawab untuk proses remodeling ini adalah adanya dilatasi ventrikel kiri dan hipertrofi daerah miokard yang tidak mengalami infark.

f. Ruptur Plak

Awal terbentuknya trombus karena adanya ruptur plak. Plak yang cenderung mudah ruptur memiliki inti lemak yang besar, sedikit

sel otot polos, jumlah makrofag yang banyak, lapisan fibrous yang tipis dengan ketidakteraturan bentuk dan letak kolagen dan konsentrasi faktor jaringan yang tinggi (Sargowo, D. 2006). Walaupun inti lemak lebih trombogenik daripada matriks kolagen, tetapi trombogenisitas inti lemak ditentukan oleh faktor katalitik jaringan (Shah, P.K.1997).

g. Komposisi Plak

Karakteristik histomorfometrik yang berhubungan dengan ruptur plak berdasarkan sebagai berikut:

- 1) Bentuk inti yang kaya lipid (*lipid core*) yang besar dan lunak;
- 2) *Fibrous cap* yang tipis;
- 3) Infiltrasi aktif (perembesan aktif) sel-sel inflamatori ke dalam plak dan *fibrous cap*
- 4) Pertumbuhan jaringan darah yang baru dan tidak normal (Neovaskular) dalam plak meningkat.

Plak aterosklerotik *mature* berisi dua komponen utama yaitu *core* yang kaya akan lipid dan matriks ekstraseluler yang berisi kolagen dan protein matriks lain. Plak yang mempunyai jumlah matriks ekstraseluler yang lebih besar biasanya lebih stabil. Matriks ekstraseluler biasanya terbuat oleh sel otot polos dan terutama terdiri dari kolagen, elastin, proteoglikan dan glikosaminoglikan sedangkan inti lemak yang biasanya lunak membentuk massa seluler dalam matriks kolagen dari plak. Inti lemak dari plak yang mudah ruptur mempunyai konsentrasi kolesterol ester yang tinggi terutama asam lemak tak jenuh. Kadar asam lemak tak jenuh yang rendah ditemukan pada tepi plak yang lepas dibandingkan dengan bagian tengahnya. Perbandingan (proporsi)

perbedaan relatif dari asam lemak dapat mempengaruhi platelet (trombosit) disekitarnya dan pembentukan trombus (Sargowo, D. 2006).

Pecahnya (disrupsi) plak merupakan gambaran inti dari sindroma aterotrombotik. Ruptur dari kerentanan plak (*vulnerable plaque*) sering terjadi dan hal ini diikuti trombosis luminal dan hemoragi dalam ateroma, menyebabkan perkembangan lesi yang sangat cepat. Disrupsi plak pada permukaan plak terjadi paling sering pada penutup (*cap*) yang tipis dan infiltrasi makrofag yang berlebihan sehingga menjadi sangat lemah, hal ini disebut *cap shoulder*. Pada bagian yang lemah tersebut, biomekanikal dan hemodinamik terkonsentrasi dan menyerang permukaan plak.

Faktor resiko disrupsi plak dihubungkan dengan gambaran faktor dari dalam (intrinsik) plak dan faktor dari luar yang disebut stress ekstrinsik yang dapat memicu ruptur plak, adalah:

- **Faktor Intrinsik (Faktor dari Dalam)**

Disrupsi plak aterosklerotik umumnya terjadi pada *fibrous cap* yang paling tipis, pada daerah itu terdapat infiltrasi *macrophage-derived foam cells*. Ketebalan dan komposisi *fibrous cap* sangat bervariasi dan kolagen memegang peranan penting pada komposisi *fibrous cap* tersebut.

Penelitian patologi menunjukkan bahwa pada plak yang mengalami disrupsi sedang terjadi inflamasi dan terjadi infiltrasi makrofag yang berlebihan pada bagian *shoulder* dari *fibrous cap*. Mekanisme yang penting adalah produksi enzim yang mendegradasi matriks (Worthley *et al.*, 2001).

- **Faktor ekstrinsik (Faktor dari Luar)**

Lesi aterosklerotik dalam sistem arteri koronari merupakan subyek untuk gangguan mekanikal dan hemodinamik yang dapat memicu ruptur plak. Pemicu ruptur plak tersebut antara lain, tekanan darah, tekanan pulsa, kontraksi jantung, spasmus dan stress aliran darah (Pasterkamp and Falk, 2000).

- h. Ketebalan dan Komposisi *Fibrous cap***

Ketebalan *fibrous cap* sangat bervariasi, tetapi sangat tipis pada daerah shoulder dimana sering terjadi disrupsi pada daerah itu. *Fibrous cap* yang disrupsi cenderung mempunyai beberapa matriks yang dibentuk oleh sel otot polos, matriks tersebut berupa kolagen dalam jumlah kecil dan glikosaminoglikan, merupakan jenis polisakarida yang tidak bercabang panjang, melainkan terdiri dari unit disakarida berulang, dan *fibrous cap* tersebut diinfiltrasi oleh sel inflamatori (makrofag, Limfosit T dan *mast cells*) hingga terjadi plak yang utuh.

- i. Respon Trombotik terhadap Ruptur Plak**

Trombus koroner merupakan hasil dari interaksi antara dinding arteri dengan aliran darah yang terjadi secara dinamis dan terutama akibat terjadinya ruptur plak. Komponen trombogenik plak yang utama adalah kolagen dan inti lemak. Trombogenik yang lebih besar dari inti lemak mungkin berhubungan dengan faktor jaringan atau *tissue factor* yang aktif. faktor jaringan ini merupakan suatu glikoprotein transmembran prokoagulan yang diproduksi oleh makrofag di dalam plak aterosklerosis. Pada waktu terpapar dengan

aliran darah, faktor jaringan tersebut berinteraksi dengan faktor VIIa dan membentuk kompleks yang mengaktifkan faktor X. Faktor Xa yang teraktivasi akan menginisiasi kaskade trombogenik dengan membelah protrombin menjadi trombin.

- **Aktivasi platelet**

Di dalam plak, *lipid-laden macrophage* memproduksi *tissue factor* dalam jumlah besar. Adanya ruptur plak aterosklerosis menyebabkan paparan kolagen subendotelial dan plak terhadap aliran darah. Kolagen merupakan penggerak utama platelet (agonis platelet) yang paling kuat. Kontak dengan kolagen menyebabkan platelet menjadi aktif.

Permukaan platelet yang teraktivasi merupakan permukaan katalitik yang penting dalam beberapa reaksi koagulasi yang akan menghasilkan trombin (Davies, 1997).

- **Perlekatan Platelet**

Von Willebrand factor (vWF) merupakan protein perlekatan yang terdapat dalam plasma dan subendotelial. Platelet yang belum teraktivasi dapat berinteraksi dengan bentuk vWF subendotelial. Platelet menuju vWF subendotelial sehingga terjadi perlekatan platelet (*adhesi platelet*). *Adhesi platelet* merupakan stadium awal terbentuknya trombus yang kaya akan platelet, diinisiasi adanya ikatan vWF dengan platelet GP-Ib-IX. Reseptor platelet GP-Ib-IX merupakan reseptor utama untuk protein ligan subendotelial vWF.

Adhesi platelet pada vWF subendotelial diikuti aktivasi platelet. Perlekatan platelet akan terpapar dengan sejumlah agonis, antara lain kolagen dan *high shear circulation* pada pembuluh stenotik.

Faktor-faktor tersebut mengaktifasi berbagai jalur *signal transduction* dalam sel dan akhirnya merubah bentuk platelet, menstimulasi prokoagulan, aktivasi platelet, peningkatan sekresi platelet dan agregasi platelet.

Dalam regulasi adhesi, sel ECM melibatkan interaksi molekular yang berakibat terjadinya perlekatan sel-sel darah dengan sel-sel vaskular, dimana berbagai molekul ECM seperti *glycoprotein* dan *proteoglycan* dapat berlekatan dengan protein plasma, growth factor, sitokin, dan berbagai enzim yang kemudian interaksi inti mempengaruhi atau memodulasi metabolisme sel-sel dinding vaskular (Davies, 1997).

- **Penggumpalan Platelet (Agregasi Platelet)**

Agregasi platelet merupakan stadium akhir pembentukan *platelet-rich thrombus*, merupakan bentuk kritis dari patogenesis ACS. Aktivasi platelet melalui berbagai agonis menstimulasi perubahan reseptor GP IIb-IIIa menjadi bentuk yang mampu berinteraksi dengan protein adhesif dalam plasma (fibrinogen dan vWF). Reseptor GP IIb-IIIa akan membentuk ikatan divalent dengan fibrinogen dan vWF. Pada kondisi *high shear-stress*, vWF berperan penting dalam proses adhesi dan agregasi platelet. Ikatan platelet dengan adhesif protein plasma dalam jumlah besar akan menghasilkan *platelet-rich thrombus* (Davies, 1997).

- **Aktivasi Tahapan Proses Penggumpalan Darah (Kaskade Koagulasi)**

Pada saat platelet teraktivasi, diperlukan peningkatan kemampuan untuk mengkatalisa interaksi antara faktor-faktor koagulasi yang teraktivasi (tabel 2). Faktor-faktor tersebut disirkulasi dalam bentuk prekursor inaktif (zymogen). Ruptur plak aterosklerotik dapat mengaktivasi kaskade koagulasi sehingga menyebabkan terbentuknya aktivator protrombin, setiap zymogen akan dirubah mnejadi bentuk aktif dan kemudian mengaktivasi urutan zymogen selanjutnya. Proses akan diakhiri dengan terbentuknya trombin. Suatu enzim merubah protein terlarut fibrinogen menjadi bentuk protein tidak terlarut fibrin, dan terbentuk pembekuan darah (Guyton and Hall, 1997).

j. Jalur Pembekuan Darah

Aktivator protrombin atau proses awal pembekuan secara umum dibentuk melalui dua cara, walaupun dalam kenyataannya kedua cara tersebut saling berinteraksi secara konstan satu sama lain. Kedua cara tersebut adalah:

➤ **Jalur ekstrinsik pembekuan darah**

Mekanisme ekstrinsik sebagai awal pembekuan aktivator protrombin dan dimulai dengan rusaknya dinding pembuluh darah seperti rupturnya plak.

- **Pelepasan faktor jaringan (tissue factor)**

Jaringan yang rusak akan melepaskan beberapa faktor yang disebut faktor jaringan atau tromboplastin jaringan. Faktor ini terdiri dari fosfolipid membran

jaringan dan kompleks lipoprotein yang mengandung enzim proteolitik.

- **Aktivasi Faktor X**

Kompleks faktor jaringan dengan kompleks lipoprotein kemudian bergabung dengan faktor VII dan bersamaan dengan hadirnya ion kalsium. Faktor VII bekerja sebagai enzim yang mengaktivasi faktor X menjadi Xa (a menunjukkan bentuk teraktivasi).

- **Efek Faktor Xa**

Faktor Xa segera berikatan dengan fosfolipid dan faktor V membentuk senyawa yang disebut aktivator protrombin. Dalam beberapa detik, senyawa tersebut memecah protrombin menjadi trombin (Guyton and Hall, 1997).

➤ **Jalur Intrinsik pembekuan darah**

Mekanisme pembekuan darah kedua untuk pembentukan aktivator protrombin dan merupakan awal proses pembekuan, dimulai dengan terjadinya trauma pada darah itu sendiri, atau darah kontak dengan kolagen pembuluh darah yang rusak.

- **Pengaktifan Faktor XII dan Pelepasan Fosfolipid Trombosit oleh Darah yang Terkena Trauma**

Trauma darah atau kontak darah dengan kolagen pembuluh darah dapat mengubah dua faktor pembekuan yang penting dalam darah yaitu faktor XII dan trombosit. Apabila Faktor XII terganggu maka akan berubah menjadi bentuk enzim proteolitik, yaitu Faktor XIIa. Trauma pada darah akan merusak trombosit dan trombosit akan

melepaskan fosfolipid yang mengandung lipoprotein yang disebut dengan Faktor 3 pembekuan.

- **Pengaktifan faktor XI**
Faktor XIIa bekerja secara enzimatik terhadap Faktor XI dan terbentuk Faktor Xia yang merupakan langkah kedua jalur intrinsik. Reaksi ini memerlukan kininogen HMW dan dipercepat oleh prekalikrein.
- **Pengaktifan faktor IX**
Faktor Xia bekerja secara enzimatik terhadap faktor IX dan mengaktifkannya menjadi Faktor IXa.
- **Pengaktifan Faktor X**
Faktor Ixa bekerja sama dengan Faktor VIIa, fosfolipid trombosit dan Faktor 3 trombosit mengaktifkan Faktor X.
- **Faktor Xa**
Langkah dalam jalur intrinsik ini pada prinsipnya sama dengan langkah terakhir jalur ekstrinsik. Faktor Xa bergabung dengan faktor V, fosfolipid trombosit dan jaringan membentuk suatu kompleks yang disebut protrombin aktivator yang akan mengawali pemecahan protrombin menjadi trombin (Guyton and Hall, 1997).

Tabel 2. Faktor-faktor Pembekuan darah dan Sinonimnya

Faktor Pembekuan	Sinonim
Fibrinogen	Faktor I
Protrombin	Faktor II
Tissue faktor	Faktor III, tromboplastin jaringan
Kalsium	Faktor IV
Faktor V	Proaccelerin, faktor labil, Ac-globulin (Ac-G)
Faktor VII	Akselator konversi protrombin serum (SPCA), faktor stabil

Faktor VIII	Faktor antihemolitik (AHF), globulin antihemolitik (AHG), faktor A antihemolitik.
Faktor IX	Komponen tromboplastin plasma (PTC), faktor B
Faktor X	Faktor stuart, faktor stuart-Prower
Faktor XI	Anteseden tromboplastin plasma, faktor C antihemolitik
Faktor XII	Faktor Hageman
Faktor XIII	Faktor stabilisasi fibrin
Prekalikrein	Faktor Fletcher
Kininogen dengan berat molekul besar	Faktor Fitzgerald, HMWK
Trombosit	-

Sumber: Guyton and Hall, 1997

2. IMA Terkait Mikroorganisme

Akhir-akhir ini berkembang paradigma baru yang menyebutkan bahwa infeksi mikroorganisme melalui burden patogen berperan pada pembentukan dan perkembangan aterosklerosis dan IMA. Hasil penelitian epidemiologis, patologis dan mikrobiologis mendukung hubungan infeksi dengan aterosklerosis dan IMA. Agen infeksius yang banyak diteliti antara lain *Chlamydia pneumoniae*, *Herpes simplex virus* (HSP), *Helicobacter pylori*, *Cytomegalovirus* (CMV) dan bakteri oral (Fong, 2000; O'Connor, *et.al.*, 2001; Deliargiris, *et.al.*, 2000; Muhlestein, *et.al.*, 2001).

Rupturnya *atherosclerotic fibrous cap* dapat pula dipengaruhi oleh aktivitas sel-sel inflamatori dari sirkulasi darah. Infeksi mikroorganisme telah diketahui dapat menginduksi berbagai sitokin proinflamatori (Hajishengallis *et.al*, 2002; Lopez-virella, 1997; Ross, 1999) dan ini diduga berkaitan dengan meningkatnya sintesis MMP.

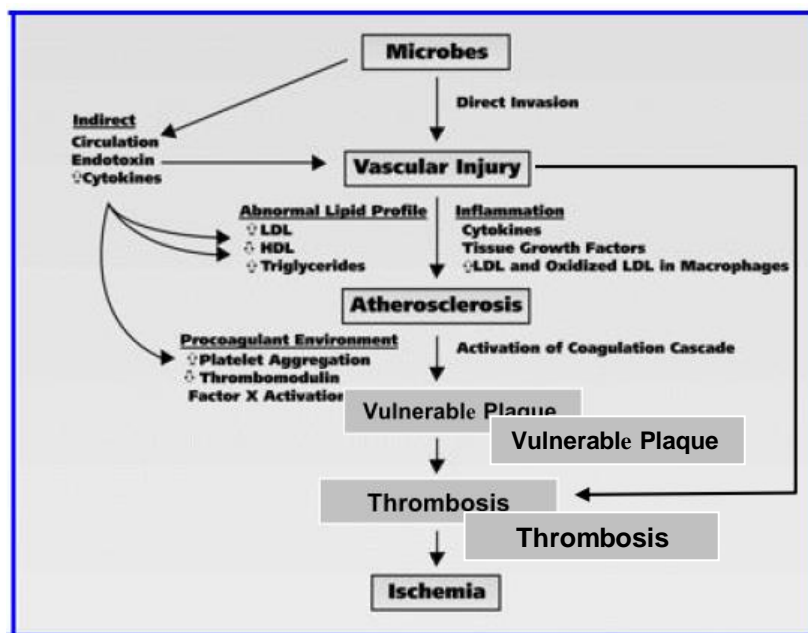
Selain berperan dalam ruptur plak aterosklerotik juga diketahui infeksi mikroorganisme dapat

menyebabkan trombus melalui kerusakan sel endotel. Menurut Fong (2000) beberapa kemungkinan agen infeksi dapat menginduksi terjadinya IMA yaitu, invasi mikroorganisme secara langsung pada pembuluh darah akan menyebabkan respon inflamasi yang menyebabkan peningkatan limfosit dan makrofag serta terjadi peningkatan produksi sitokin dan faktor pertumbuhan jaringan.

Selain itu, pelepasan produk mikroorganisme seperti lipopolisakarida dapat meningkatkan pengikatan ester kolesterol oleh makrofag menjadi sel busa. Adapun Molekular mimikri heat shock protein-60 yang dihasilkan oleh mikroorganisme juga akan menginduksi reaksi autoimun.

Secara tidak langsung dengan *systemic effect*, produk yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti LPS dapat menimbulkan suatu *echo*, yaitu suatu kondisi dimana terjadinya aktivasi sel-sel yang akan menghasilkan sitokin sebagai respon terhadap LPS yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut. *Echo* ini dapat menyebabkan kerusakan endotel, Sel-sel inflamatori yang teraktivasi akan meningkatkan ekspresi permukaan *tissue factor* sehingga prokoagulan meningkat. Selain itu terjadi penghambatan aktivator plasminogen sehingga menurunkan trombomodulin endotel dan heparin sulfat proteoglikan, peningkatan produksi sitokin dengan aktivasi marker inflamatori dan stimulasi prokoagulan akan menyebabkan terjadinya trombosis dan akhirnya IMA.

Mekanisme infeksi mikroorganisme yang menginduksi aterosklerotik dan penyakit arteri koroner seperti yang diperlihatkan pada gambar 1, menunjukkan dua jalur yaitu secara langsung menyerang dan mengakibatkan *vascular injury*, dan secara tidak langsung yaitu dengan memproduksi endotoksin ke sirkulasi darah yang akan menstimulasi terjadinya aktifnya perangkat sistem imun dalam tubuh.



Gambar 5. Mekanisme Infeksi Mikroorganisme dalam Menginduksi Aterosklerosis dan Penyakit Arteri Koroner (Fong I.W., 2000)

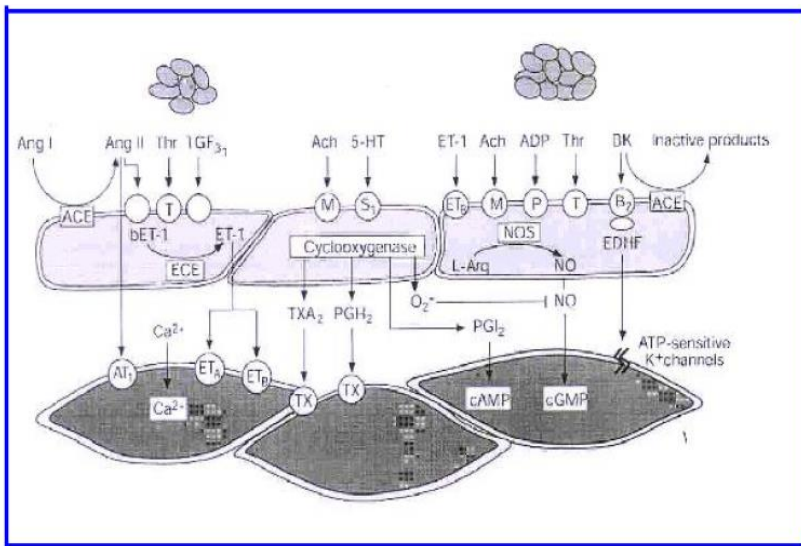
G. Endotel Dan Disfungsi Endotel

1. Endotel

Endotel adalah lapisan sel epitelial yang berasal dari mesoderm yang membatasi dinding pembuluh darah dan dinding pembuluh limfe. Endotel terletak di antara sirkulasi darah dan pembuluh darah. Pada orang dewasa dengan berat badan 70 kg, endotel meliputi area seluas 700 m² dengan berat 11,5 kg. Endotel sebagai organ vasoaktif telah banyak dibicarakan oleh berbagai ahli sehingga endotel makin dikenal perannya bukan hanya dalam mensekresi substansi yang mengatur struktur dan tonus pembuluh darah namun juga beberapa fungsi lain seperti pengaturan hemodinamik, metabolisme, inflamasi, dan proses trombogenik.

2. Fungsi Endotel

Fungsi utama endotel adalah : 1). mengatur tonus pembuluh darah, 2). mengatur adesi leukosit dan inflamasi, dan 3). mempertahankan keseimbangan antara trombosis dan fibrinolisis.



Gambar 6. Faktor-faktor yang Menimbulkan Relaksasi dan Kontraksi yang dihasilkan Endotel (Luscher, *et al.* 1997)

Keterangan: Ang I/II=angiotensin I/II, Thr=thrombin, TGF1= transforming growth factor 1, Ach= asetilkolin, 5-HT=5-hydroxy triptamine, serotonin, ET-1=endothelin-1, ADP=adenosine diphosphate, BK=bradikinin, ACE=angiotensin converting enzyme, ECE=endothelin converting enzyme, TXA2=tromboxane A2, PGH2=prostaglandin H2, O₂⁻=superoxide, L-Arg=L-Arginin, NOS=nitric oxide synthase, NO= nitric oxide, EDHF= endothelium derived hyperpolarizing factor, ETA/B= endothelin receptor type A/B, AT1=angiotensin receptor type 1, TX=thromboxane, PGI2=prostasiklin I2, cAMP=cyclic adenosin mono phosphate, cGMP= cyclic guanosine mono phosphate

Fungsi endotel ini dilakukan oleh substansi-substansi khusus yang dikelompokkan dalam 2 golongan besar yaitu *Endothelium Derived Relaxing Factors (EDRFs)* dan *Endothelium Derived Contracting Factors (EDCFs)* (Gambar 2).

➤ **Endothelium Derived Relaxing Factors (EDRFs)**

Substansi yang tergolong EDRFs adalah : *nitric oxide (NO)*, prostasiklin, dan faktor relaksasi hiperpolarisasi (*Endothelium Derived Hyperpolarizing Factor, EDHF*) (Sowinski, 2000). NO merupakan EDRFs terpenting yang terbentuk dari transformasi asam amino L-arginin menjadi sitrulin melalui jalur L-arginine-nitric oxide dengan bantuan enzim NO sintetase (NOS). NO diproduksi atas pengaruh asetilkolin, bradikinin, serotonin, dan bertindak sebagai reseptor endotel spesifik (Taddei *et al.*, 2002; Moncada *et al.*, 1993).

NOS diaktivasi oleh adanya robekan pada pembuluh darah dan estrogen, sebaliknya aktivasi NOS dihambat oleh asam amino dalam sirkulasi dan oleh ADMA (*asymmetrical dimethylarginine*). Pada pembuluh darah, sintesis NO mempengaruhi tonus pembuluh darah sehingga berperan pada pengaturan tekanan darah (Goligorsky *et al.*, 2001; Sargowo D. 1999; Kadirvelu, 2002) selain itu pada sistem saraf pusat NO merupakan neurotransmitter yang menjalankan beberapa fungsi termasuk pembentukan ingatan.

Prostasiklin dihasilkan endotel sebagai respons adanya *shear stress* dan hipoksia. Prostasiklin meningkatkan cAMP pada otot polos dan trombosit. NO dan prostasiklin secara sinergistik menghambat agregasi trombosit sehingga dengan adanya kedua zat ini terjadilah penghambatan aktivasi trombosit secara maksimal.

➤ **Endothelium Derived Contracting Factors (EDCFs)**

Endotel juga menghasilkan faktor kontraksi yang disebut EDCFs seperti ET-1 (endotelin-1), tromboksan A2 (TXA2), prostaglandin H2(PGH2) , dan angiotensin II. Pembuluh darah intramiokard lebih sensitif terhadap efek vasokonstriksi ET-1 daripada arteri koronaria, sehingga endotel berperan penting dalam pengaturan aliran darah koroner. Hingga kini terdapat 3 isoform endotelin, yaitu: endotelin-1, endotelin-2, dan endotelin-3. Telah ditemukan dua reseptor endotelin, yaitu reseptor ETA dan ETB. Reseptor ETB berperan dalam pembentukan NO dan prostasiklin, hal ini menjelaskan mengapa endotelin memiliki efek vasodilatasi sesaat. ET-1 menyebabkan vasodilatasi pada konsentrasi rendah dan terus menerus menimbulkan kontraksi pada konsentrasi tinggi sehingga dapat menyebabkan iskemi, aritmi dan kematian (otot) jantung.

Angiotensin II menyebabkan proliferasi dan migrasi sel otot polos melalui reseptor AT1, selain itu angiotensin II memproduksi vasokonstriktor poten dan menyebabkan retensi garam dan air. Hal ini merupakan komponen utama dalam patogenesis berbagai penyakit vaskuler seperti hipertensi.

3. Disfungsi Endotel

Pada keadaan tertentu seperti penuaan, menopause, dan keadaan patologis seperti hipertensi, diabetes melitus, aterosklerosis, sel endotel teraktivasi untuk menghasilkan faktor konstriksi seperti EDCF (TXA2, PGH2) dan radikal bebas yang menghambat efek relaksasi NO. Radikal bebas dapat menghambat fungsi endotel dengan menyebabkan rusaknya NO. Ketidakseimbangan antara faktor kontraksi dan relaksasi yang terjadi pada endotel inilah yang disebut disfungsi endotel (Luscher, *et al.* 1997; Kadirvelu, 2002). Sumber

lain menyebutkan disfungsi endotel merupakan perubahan fungsi sel endotel yang berakibat pada kegagalan availabilitas NO, sehingga disfungsi endotel harus dibedakan dari kerusakan endotel yang berarti terjadinya kerusakan anatomi endotel (Selvinna, 2005).

Letak endotel pada pembuluh darah sangat menguntungkan tapi juga sekaligus merugikan, karena pada keadaan hipertensi, diabetes melitus, dan hiperlipidemia, endotel menjadi sasaran (*target organ*) dari kerusakan akibat penyakit-penyakit tersebut.

4. Peran Stres Oksidatif

Pendapat lain tentang mekanisme terjadinya kerusakan NO adalah produksi stres oksidatif. Stres oksidatif yang berupa ROS (*Reactive Oxygen Species*) terutama anion superoksida ini dapat bergabung dan menghancurkan peroksinitrat yang menghasilkan NO, sehingga terjadi efek negatif terhadap struktur dan fungsi pembuluh darah (Taddei, *et al.* 2002). Pendapat tentang peran stres oksidatif tersebut didukung oleh adanya bukti bahwa asam askorbat, yang merupakan *scavenger* radikal bebas, dapat meningkatkan respons terhadap asetilkolin pada sirkulasi perifer dan pada arteri koroner epikardial dan arteri brakial pasien hipertensi esensial.

Kemungkinan lain dari mekanisme penurunan produksi NO adalah terbentuknya analog L-arginin yaitu ADMA (NGNG dimethyl-L-arginine) yang merupakan kompetitor endogen bagi NOS. Belakangan ditemukan bahwa kadar ADMA plasma berhubungan dengan tekanan arteri rata-rata dan faktor risiko kardiovaskuler lain (Sargowo, D., 1999 dalam Selvinna, 2005).

5. Interaksi antara NO dan Vasokonstriktor

Interaksi antara sistem NO dan vasokonstriktor endotel, terutama ET-1 dan angiotensin II, berperan dalam patogenesis disfungsi endotel. Walaupun pada pasien hipertensi tidak terdapat peningkatan kadar ET-1 plasma, namun terjadi peningkatan aktivitas

vasokonstriktor ET-1 akibat penurunan NO. NO mampu menghambat produksi dan aktivitas ET-1, dan pada hipertensi esensial kemampuan inhibisi ini menghilang karena adanya penurunan produksi NO.

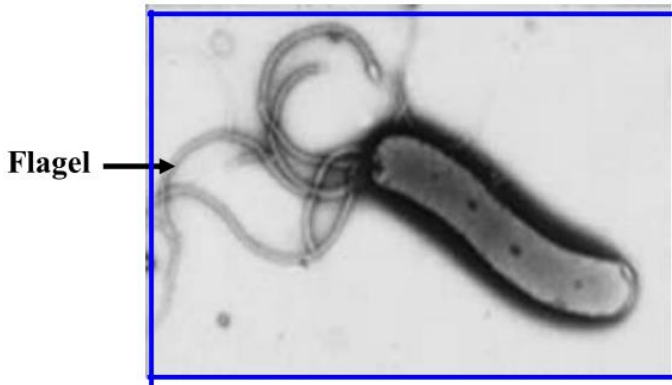
Angiotensin II memiliki efek yang berbeda pada sistem NO. Walaupun reseptor AT1 menyebabkan penurunan NO, namun stimulasi AT2 menyebabkan sintesis NO pada endotel. Dengan demikian apakah angiotensin II akan mempengaruhi fungsi atau disfungsi endotel, tergantung dari efek reseptor mana yang lebih dominan (Selvinna, 2005).

H. Bakteri *Helicobacter pylori*

1. Morfologi dan Habitat *Helicobacter pylori*

Helicobacter adalah nama genus bakteri yang berbentuk spiral atau batang bengkok (Soemohardjo, dkk., 2002) atau sinusoidal/bentuk S lengkung dengan 1-2 wavelength, berujung tumpul, berukuran lebar 0,5-0,1 μm dan panjang 3-3,5 μm (Shears and Hart, 1996; Skirrow, 1995; warren and Marshall, 1983). *Helicobacter pylori* bersifat *pleiomorfik*, pada kondisi tertentu yang kurang menguntungkan seperti pada kultur tua, akan berubah menjadi bentuk kokoid (Jerris, 1995; Shears and Hart, 1996; Warren and Marshall, 1983).

Helicobacter pylori bersifat motil, memiliki empat hingga tujuh flagella berselubung (Jerris, 1995; Shears and Hart, 1996; Koneman, *et al.*, 1992) dengan bulbus terminal (Shears and Hart, 1996), terletak unipolar (Jerris, 1995) seperti pada gambar 3 di bawah ini.



Gambar 7. Morfologi Bakteri *Helicobacter pylori*
(Helicobacter Foundation, 2004)

Habitat utama *Helicobacter pylori* adalah mukosa lambung manusia (Jerris, 1995; Skirrow, 1995) pada permukaan epitelium yang mensekresi mukus (Koneman, *et al.*, 1992).

Distribusi *Helicobacter pylori* pada lambung adalah kontinyu, berbercak atau fokal (Warren and Marshall, 1983). Tiap bagian lambung dapat dikolonisasi, namun antrum lambung merupakan tempat tersering (Skirrow, 1995) dan beberapa peneliti melaporkan bahwa *Helicobacter pylori* dapat bermigrasi.

2. Virulensi dan Patogenisitas

Faktor virulensi dibutuhkan oleh *Helicobacter pylori* untuk keberhasilan kolonisasi dan bertahan hidup dalam mukosa lambung. Faktor-faktor tersebut antara lain adalah bentuk helikoidal dan motilitas flagella, molekul adhesin, enzim urease, protease, *Lipopolisakarida*, *Vacuolating cytotoxin A* (VacA), *Cytotoxin associated gen A* (CagA) dan *Neutrophil activating Protein* (NAP).

Bentuk helikoidal dan flagella *Helicobacter pylori* membantu bakteri masuk ke dalam mukosa lambung. Setelah tertelan, *Helicobacter pylori* harus menyeberang rongga mulut dan traktus esofageal, masuk ke dalam lingkungan lambung dan melakukan penetrasi ke lapisan mukus yang menutupi mukosa lambung. Motilitas flagella diperlukan untuk kolonisasi. Dengan flagella bakteri dapat berenang menembus kekentalan mukus lambung dan mencapai pH yang lebih netral di mukus di bagian basal (Dunn, *et al.*, 1997).

Urease sangat esensial untuk kolonisasi *Helicobacter pylori* dalam mukosa lambung karena urease merubah menjadi *bicarbonate* dan *ammonia* yang bersifat basa kuat sehingga dapat menetralsir asam disekitar *Helicobacter pylori* dan melindunginya dari asam lambung. Karena enzim inilah *Helicobacter pylori* mampu bertahan dalam keasaman lambung untuk waktu yang cukup panjang sehingga dapat berkembangbiak dan berkolonisasi dalam mukosa lambung. (Dunn, *et al.*, 1997).

VacA merupakan toksin utama yang disekresi oleh *Helicobacter pylori*, dihasilkan oleh kira-kira 50% strain *Helicobacter pylori*. Toksin ini mengikat membran plasma sel target dan diinternalisasi setelah pembentukan lubang (*pore*). Di dalam sel, toksin menginduksi reorganisasi endosom dan lisosom, perluasan fusi membran dan swelling (pembengkakan) membentuk vakuola dan memfasilitasi pertahanan intraseluler *Helicobacter pylori*. Vakuola menyusun reservoir *Helicobacter pylori* yang sulit untuk diakses dengan antibiotik dan sel-sel inflamasi. Kerusakan intraseluler disebabkan oleh toksin mungkin mempengaruhi processing antigen oleh sel limfosit B yang berkontribusi terhadap lamanya infeksi *Helicobacter pylori*.

Sekitar 50 - 70% strain *Helicobacter pylori* mensintesa CagA. CagA dikode oleh satu gen yang

disebut *cag Pathogenicity Island* (cagPA), fragmen genom 37 kb yang mengandung 29 gen. Beberapa diantaranya menyandi komponen yang diprediksi sebagai aparatus sekresi tipe IV yang mentranslokasikan protein CagA ke dalam sel host (Blaser and Atherton, 2004). Status CagA dihubungkan dengan pathogenitas strain *Helicobacter pylori*. Strain *Helicobacter pylori* yang mengekspresikan CagA menyebabkan inflamasi mukosa lambung yang lebih luas. Protein yang dikode oleh cagPAI ini terbukti memicu respon inflamasi berat pada hospes (Kimmel, *et al.*, 2000). Protein tersebut terlibat dalam dua proses utama, yaitu induksi produksi interleukin-8 (IL-8) dan translokasi CagA dari bakteri ke dalam sel hospes (Serbaum and Michetti, 2002). Dan ini diduga dapat menginduksi sintesis MMP.

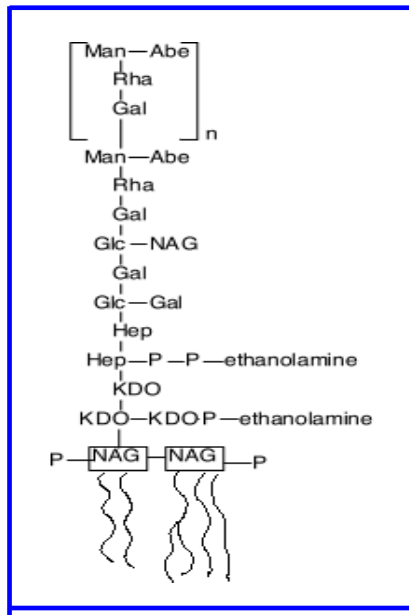
Neutrophil activating protein (NAP) merupakan protein permukaan *Helicobacter pylori* dengan berat 150 kDa yang berkontribusi untuk aktivasi fagosit (Evans, *et al.*, 1995). Bentuk ini mempunyai berbagai fungsi antara lain dapat bertindak sebagai adhesin yang memediasi pengikatan ke mukus, merupakan faktor kemotaktik untuk neutrofil dan monosit, meningkatkan adesi netrofil ke sel endotel, menginduksi netrofil untuk menghasilkan *Reactive Oxygen Radical* (ROS), dapat mengaktivasi sel mast dengan melepaskan cytokine proinflamatori dan berperan pada penyerapan iron oleh *Helicobacter pylori* (iron adalah nutrien esensial untuk bakteri) (Dunn, *et al.*, 1997).

Heat-shock protein 60 atau *Hsp60* merupakan protein yang dihasilkan oleh *Helicobacter pylori*, mempunyai berat molekul 60 kDa dan dapat menginduksi respon inflamasi melalui jalur *Toll-like reseptor* atau TLR. Jalur signaling yang digunakan dengan TLR ini mengaktivasi NF- κ B yang akhirnya mengekspresikan gen-gen yang mengkode protein yang penting dalam berbagai komponen respon imun non-spesifik yang meliputi sitokin inflamatori (TNF- α , IL-1

dan IL-12) (Takenaka, R. *et al.* 2004). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Benagiano, M. *et al.* (2005) bahwa sel endotel arteri yang mengalami aterosklerosis memperlihatkan ekspresi HSP60, hal ini diduga karena adanya *molecular mimicry* dari mikroorganisme yang menjadi target sel T autoreaktif dan sel T *cross-reactive* terhadap HSP60 mikroba melalui *molecular mimicry* tersebut.

3. Lipopolisakarida (LPS)

Seperti yang dijelaskan sebelumnya bahwa produk mikroorganisme dapat berperan sebagai aktivator sel-sel inflamatori. Salah satu produk mikroorganisme adalah Lipopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri gram negatif.



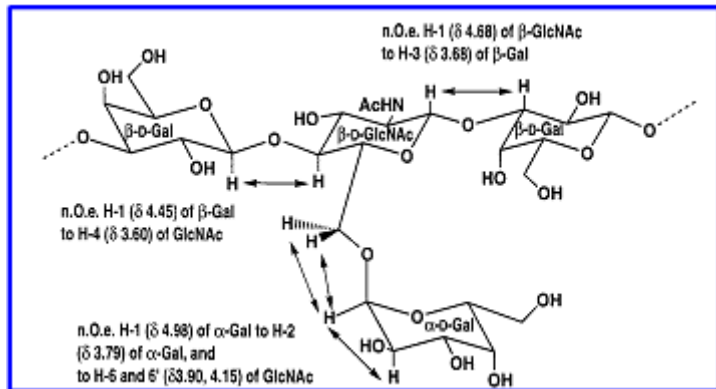
Gambar 8. Struktur dasar Lipopolisakarida

Lipopolisakarida atau LPS merupakan komponen membran luar bakteri yang tersusun atas molekul yang kompleks, yaitu suatu fragmen dinding

sel outer bakteri gram negatif yang terdiri dari komponen lipid dan polisakarida yang dibagi dalam 3 area, yaitu rantai O-spesifik, *core* dan lipid.

Rantai *core*-oligosakarida, yang terdiri dari rantai gula pendek (sekitar 10 sampai 15) sedangkan komponen lipid yang dikenal sebagai lipid A yang terdiri dari *fatty acid*. *Fatty acid* ini bervariasi tiap spesies mikroba dan bersifat hidrofobi (Aspholm M, 2004). Struktur dasar LPS seperti yang diperlihatkan pada gambar 4 di atas.

Struktur LPS *H. pylori* merupakan rantai O-spesifik yang bertipe *smooth-form LPS*, tipe LPS ini berhubungan dengan patogenesis dari strain *Helicobacter pylori*. Sedangkan struktur lipid-A *H. pylori* mempunyai struktur yang unik yang terdiri dari satu kelompok fosfat (pada karbon-1 GlcN) dan asam lemak jenuh yang lebih panjang dari *E. coli* sekitar 16 dan 18 atom karbon. (Lee, E dan Moran, A.P., 1993).



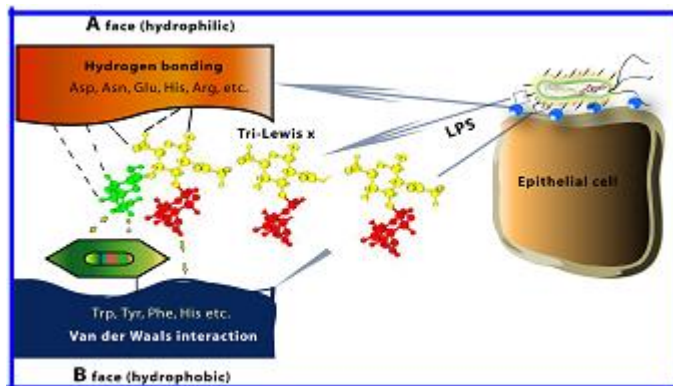
Gambar 9. Struktur Lipopolisakarida *Helicobacter pylori*

Berdasarkan struktur LPS *H. pylori* di atas (gambar 9), maka LPS diistilahkan sebagai endotoksin, dimana kelompok lipid-Anyanya merupakan antigen yang dapat dikenali oleh sistem imun nonspesifik sedangkan kelompok polisakarida merupakan antigen yang dikenali oleh sistem imun spesifik. Selain itu LPS *H. pylori* dapat mengekspresikan antigen golongan

darah Lewis sehingga dapat membantu interaksi bakteri gram negatif dan host (Abbas, 1991 dan Jafar M, 2004).

Interaksi LPS *Helicobacter pylori* dan host diduga terjadi ketika bakteri *Helicobacter pylori* menginfeksi host dan pengikatan *Helicobacter pylori* pada dinding epitel terjadi melalui LPS bakteri ini, kemudian terjadi interaksi spesifik dengan molekul *lectin-like adhesin* pada permukaan bakteri *Helicobacter pylori*.

Selain itu, LPS *Helicobacter pylori* dapat memediasi adesi bakteri *Helicobacter pylori* ke laminin dalam *basement membrane* dengan pengikatan asam sialik spesifik (Valkonen *et al*, 1994).



Gambar 10. Interaksi protein antara lektin *H. Pylori* dan protein membran outer host (Jafar Mahdavi, 2004)

Jadi dapat dikatakan bahwa LPS *Helicobacter pylori* merupakan mediasi terjadinya interaksi protein antara bakteri *Helicobacter pylori* dan sel eukariotik. Hal ini terjadi karena LPS *Helicobacter pylori* mengekspresikan antigen golongan darah Lewis yang meliputi *Lea*, *Leb*, *Lex*, *sialyl Lex*, *Ley* dan *H-type-1 i-antigen*. Interaksi molekuler yang dimediasi oleh

interaksi protein LPS dan protein bakteri dapat dilihat pada gambar 6.

4. Peranan *Helicobacter pylori* pada IMA

Helicobacter pylori penyebab gastritis telah dihubungkan dengan IMA aterosklerotik dan penyakit serebrovasculer. Hal ini dikarenakan teridentifikasinya DNA bakteri ini pada spesimen aterosklerotik (Ameriso, *et al.*, 2001).

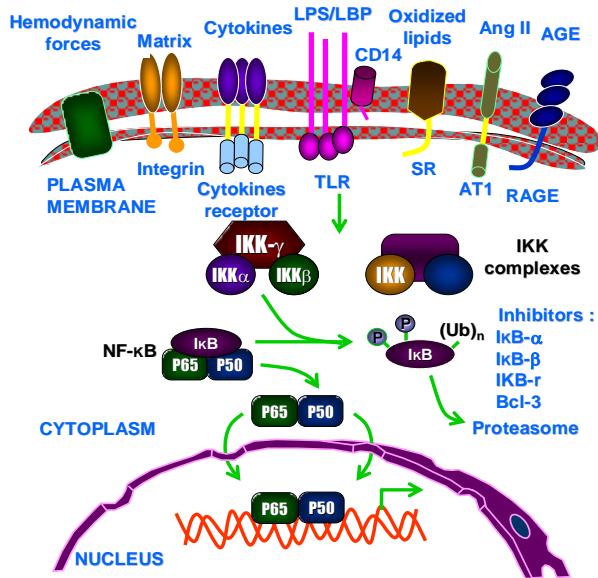
Sejumlah studi epidemiologis telah menyatakan hubungan *Helicobacter pylori* seropositif dengan penyakit jantung koroner tetapi masih sedikit bukti yang tersedia kemungkinan adanya *Helicobacter pylori* dalam aliran darah atau jaringan vaskuler (Danesh, *et al.*, 1997).

Ameriso, *et al.*, (2001), telah mendeteksi adanya *Helicobacter pylori* pada lesi karotid aterosklerosis dan menghubungkannya dengan bentuk respon sel-sel inflamatori. DNA *Helicobacter pylori* ditemukan pada 20 dari 38 plak aterosklerosis. Sepuluh dari plak yang positif DNA juga menunjukkan bukti infeksi *Helicobacter pylori* secara morfologi imunohistokimia. Studi tersebut melengkapi bukti hubungan antara infeksi *Helicobacter pylori* dan aterosklerosis. Ekspresi molekul adhesin pada sel endotel dan otot polos adalah komponen kunci respon inflamasi pada lesi aterosklerosis.

Beberapa laporan mengindikasikan infeksi *Helicobacter pylori* dalam penyakit arteri koroner, khususnya ketika strain yang lebih virulen ikut terlibat yaitu strain CagA⁺ (Pasceri, *et al.*, 1998). Seropositif untuk *Helicobacter pylori* telah dipostulatkan menjadi faktor risiko independen untuk stroke iskhemik. Dalam penelitiannya Gabrielli, *et al.*, (2003) menunjukkan asosiasi independen antara infeksi strain *Helicobacter pylori* CagA⁺ dan stroke aterosklerotik, sedangkan Pietrojusti, *et al.* (2002) menunjukkan bahwa hanya strain *Helicobacter pylori* CagA⁺ yang diasosiasikan

dengan ischemic stroke pada penderita stroke aterosklerotik. Mayr, *et al.* (2000), meneliti bahwa infeksi dengan strain *Helicobacter pylori* CagA⁺ secara signifikan meningkatkan risiko aterosklerosis dini pada arteri carotid, menyatakan bahwa asosiasi infeksi *Helicobacter pylori* dengan aterosklerosis terbatas pada genotip yang lebih virulen.

Diketahui LPS yang dibawa oleh bakteri gram negatif dapat menstimulasi respon seluler dan melibatkan sistem *toll-like reseptor* (TLR)4 pada sel leukosit mamalia. Pada waktu LPS berikatan dengan *Lipopolysaccharide Binding Protein* atau LBP, mengakibatkan terbentuknya asosiasi kompleks antara LPS-CD14 yang akan memfasilitasi terikatnya LPS pada TLR4. Selain itu protein asesoris ekstraseluler yang disebut MD2 juga berikatan dengan kompleks LPS-CD14 yang akan mengefisiensikan signaling yang diinduksi LPS. Kemudian TLR4 akan mengaktifkan Nuclear Factor Kappa Beta atau NF- κ B yang selanjutnya sel-sel inflamatori seperti sitokin, kemokin, TNF akan terekspresikan (Abbas, 2005).



Gambar 11. Jalur Signaling yang dipicu oleh TLR yang akan menghasilkan Ekspresi Gen Inflammatori Respon (Hansson, G.K. 2001)

Apabila bakteri lisis akibat sistem pertahanan tubuh maka LPS yang dikeluarkan masih bersifat virulen pada host tersebut. LPS masuk ke sirkulasi darah yang menyebabkan produksi sitokin, seperti IL-1 dan TNF dari makrofag dan *natural killer* (NK) juga meningkat yang selanjutnya sitokin ini akan mengaktifkan fagosit dan menstimuli reaksi seluler imun non-spesifik untuk menyerang LPS. TNF yang diproduksi oleh sitokin akan mengerahkan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel-sel tersebut untuk menyingkirkan LPS. Selain itu TNF merangsang sel endotel vaskuler dalam mengekspresikan molekul adhesi untuk leukosit. Molekul terpenting adalah selektin dan ligan untuk integrin leukosit dan TNF merangsang makrofag mensekresi kemokin dan menginduksi kemotaksis dan penggerakan leukosit sehingga memproduksi kemokin

subfamili CC dan CXC. Apabila masing-masing melepaskan mediator maka akan timbul efek sistemik seperti panas, neutrofilia dan protein fase akut. Proses inflamasi akut ini berjalan sampai LPS dapat disingkirkan.

Sebagaimana telah diuraikan di atas bahwa diduga mikroorganisme patogen tertentu terlibat dalam patogenesis terbentuknya trombus, salah satunya adalah *Helicobacter pylori*, tetapi peran infeksi tersebut masih belum jelas apakah proses ini primer atau sekunder (Epstein, *et al.*, 2000). Meskipun tidak diketahui secara meluas, *Helicobacter pylori* dapat juga mempengaruhi sistem organ di luar traktus gastrointestinal. Saat ini diketahui bahwa *Helicobacter pylori* dapat menginfeksi kulit, liver dan jantung dan bahwa infeksi tersebut menghasilkan sejumlah kondisi penyakit yang berbeda-beda. Lagipula, infeksi *Helicobacter pylori* dapat mempengaruhi buruknya status gizi pada anak-anak maupun orang dewasa (Lacy and Rosemore, 2001). Selain itu mungkin peran infeksi *Helicobacter pylori* terhadap penyakit IMA dapat dihubungkan dengan keadaan sepsis.

➤ Sepsis

Sepsis merupakan suatu penyakit yang sangat berbahaya dan mempunyai angka kematian yang tinggi. Banyak laporan yang menunjukkan bahwa pada sepsis terjadi gangguan pembekuan, dimana dapat menyebabkan terjadinya komplikasi suatu sindroma *Disseminated Intravascular Coagulation* (DIC). Mekanisme yang amat penting dalam patogenesis DIC pada sepsis adalah aktivasi dari jalur pembekuan ekstrinsik pada sistem pembekuan darah, sedangkan jalur instrinsik pada sepsis tidak memainkan peran yang dominan. Dari jalur ekstrinsik tersebut maka banyak laporan yang menunjukkan bahwa *tissue factor* (TF) banyak terlibat didalam kejadian DIC pada sepsis. Hal ini terbukti

bahwa inhibisi dari TF oleh *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI) dapat mencegah terjadinya DIC (Suliarni. 2003).

Sepsis adalah suatu keadaan dimana terjadi reaksi peradangan sistemik (*Inflammatory systemic reaction*) yang dapat disebabkan oleh invasi bakteri, virus, jamur atau parasit. Banyak laporan yang menunjukkan adanya bukti-bukti kuat bahwa pada sepsis terjadi gangguan pembekuan darah (*coagulation*) atau gangguan keseimbangan reaksi peradangan (*inflammatory reaction*) (Cate HT, 2000).

Salah satu penyulit yang paling memberikan efek yang sangat berbahaya pada sepsis adalah terjadinya kerusakan organ (*organ damage*), yang apabila dalam fase lanjut akan melibatkan lebih dari satu organ (*multiple organ failure=MOF*). Keadaan MOF ini biasanya berhubungan dengan angka kematian yang tinggi. Pada masa lalu dianggap bahwa MOF tersebut suatu keadaan yang semata-mata hanya diakibatkan oleh terjadinya penumpukan fibrin pada *micro-thrombus* yang terbentuk. Dari keadaan inilah dianggap sebagai awal dari proses yang memacu terjadinya *Disseminated Intravascular Coagulation (DIC)*.

I. Sel Makrofag dan Sel Polimorfonuklear (PMN)

Pada manusia, fungsi fagositosis yaitu penelanan dan penghancuran sel ataupun produk mikroorganisme terutama dilakukan oleh fagosit mononuklear (makrofag) dan polimorfonuklear yaitu neutrofil, dan dalam jumlah kecil oleh eosinofil. Neutrofil berperan pada awal dari respon imun non spesifik sedangkan makrofag berfungsi pada akhir dari respon tersebut (1-2 hari setelah infeksi). Neutrofil bermigrasi lebih cepat daripada makrofag namun makrofag lebih aktif sebagai fagosit. Neutrofil adalah populasi sel darah putih yang paling banyak di dalam sirkulasi, tetapi masa hidupnya hanya sekitar 6 jam. Walaupun demikian

Neutrofil dapat bermigrasi lebih cepat daripada makrofag ke tempat patogen berada dengan cara kemotaksis. Jika neutrofil tidak ditarik ke tempat peradangan dalam periode tersebut, maka akan mengalami apoptosis dan biasanya akan difagositosis oleh resident macrophages di dalam hepar atau limpa (Bellanti dalam Winarsih,S., 2005).

Sistem fagosit mononuklear adalah kelompok sel monotipe yang terbesar di dalam tubuh yang secara efektif dapat menyisihkan benda-benda asing dan puing-puing darah dari jaringan. Fagosit mononuklear terdiri dari monosit dalam sirkulasi darah dan makrofag yang terdapat dalam berbagai jaringan tubuh. Didalam darah monosit hanya berada dalam waktu singkat (1-2 hari), kemudian masuk ke dalam jaringan dan berdiferensiasi lebih lanjut menjadi makrofag. Makrofag adalah penghuni tetap jaringan subepitelial, dalam interstitial dari organ parenkim dan lapisan sinusoid vaskuler dalam hepar, limpa dan dalam sinus limfatik dalam kelenjar limfoid. Tidak seperti halnya sel fagosit neutrofil, masa hidup makrofag lebih lama (beberapa bulan sampai beberapa tahun) dan dapat melakukan pembelahan sel ditempat inflamasi terjadi (Abbas *et al.*, 2005).

Sistem pertahanan tubuh terhadap adanya invasi bakteri sangat tergantung pada sirkulasi neutrofil. Respon neutrofil terhadap partikel-partikel yang dianggap sebagai benda asing adalah dengan memproduksi radikal-radikal oksigen (Halliwell, 1984).

Neutrofil merupakan jenis leukosit yang paling banyak ditemukan pada sirkulasi darah dan berperan sebagai pertahanan pada daerah yang terkena infeksi bakteri atau injuri (Fuster, *et al.*, 1996). Neutrofil memiliki bermacam-macam senyawa antimikrobial, yang dapat digunakan untuk membunuh mikroba. Aktivitas bakterisida neutrofil normalnya disertai dengan pembentukan spesies-spesies oksigen reaktif (ROS) dan metabolit-metabolit aktif melalui mekanisme yang bersifat oksidatif sehingga dihasilkan metabolit-metabolit oksigen yang bersifat toksik (radikal bebas). Mekanisme non-oksidatif diperankan oleh peptida-

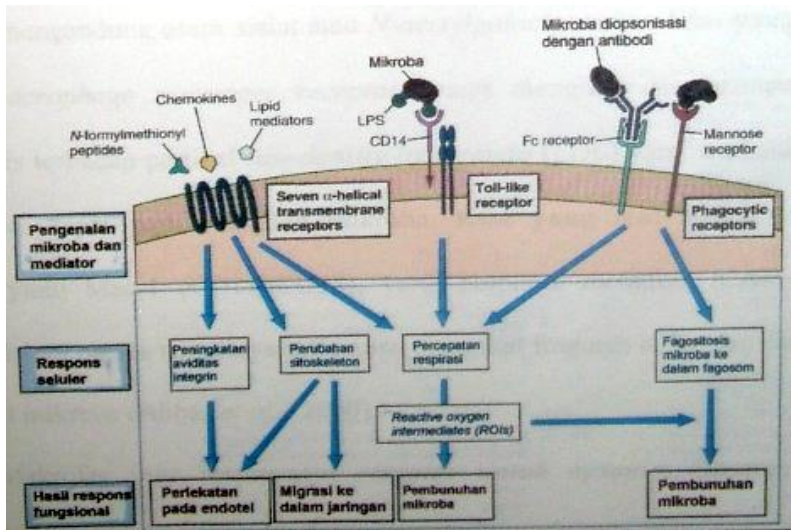
peptida atau domain peptida yang lebih besar (Carranza, 2000; Dreosti, 1991).

Selain produksi radikal bebas, stimuli bakterial pada neutrofil menyebabkan pelepasan enzim-enzim proteolitik ke milieu ekstraseluler, diantaranya enzim serin proteinase elastase, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Elastase dapat menghidrolisa protein host pada matriks ekstraseluler, misalnya elastin, fibronektin dan kolagen tipe III dan IV dan protein-protein plasma misalnya komplemen dan faktor-faktor pembekuan darah. Neutrofil diketahui juga dapat mengaktifkan MMP dan merusak inhibitor MMP (TIMP) (Creemers, et al., 2001).

Stimuli bakterial pada neutrofil dan makrofag juga menginduksi dalam jumlah besar produksi enzim MMP yang dapat menyebabkan destruksi matriks ekstraseluler. MMP disekresi oleh neutrofil dalam bentuk zimogen yang tidak aktif dan membutuhkan aktivasi sebelum mereka dapat mendegradasi matriks ekstraseluler (Hansen, 1995; Romanelli, 1999; Shah, et al., 2001).

1. Reseptor Pengenalan pada Makrofag dan PMN

Neutrofil dan makrofag mengenali mikroba melalui beberapa reseptor yang berhubungan dengan fungsinya untuk merangsang migrasi sel-sel ke tempat infeksi dan merangsang produksi substansi mikrobisidal untuk membunuh mikroba (Gambar 7). *Seven transmembrane α -helical receptors* dari fagosit mengenali produk mikroba dan mengenali mediator-mediator yang dihasilkan dalam respons terhadap infeksi. Neutrofil dan makrofag (pada kadar lebih rendah) juga mengekspresikan reseptor *Seven transmembrane α -helical receptors* untuk khemokin tertentu (IL-8), untuk pecahan komplemen C5a dan untuk mediator lipid termasuk *platelet activating factor* (PAF), prostaglandin E dan leukotrien B4 (LTB4).



Gambar 12. Reseptor dan Respons Fungsional dari Sel Fagosit Ikatan Ligan-Reseptor pada Membran Sel Fagosit akan Mengaktivasi Respon Seluler untuk Merangsang Reaksi Radang dan Eradikasi Mikroba (disadur dari Abbas et al., 2005)

Pengikatan ligan pada reseptor ini akan menginduksi migrasi sel-sel dari darah melalui endotelium, dan produksi substansi mikrobisidal melalui aktivasi proses respiratory burst (Abbas, 2000 dalam Winarsih S., 2005)

J. Matrix Metalloproteases

Matrix metalloproteases atau MMP merupakan keluarga enzim yang mampu mendegradasi *extracellular matrix* atau ECM. MMP ini mempunyai aktivitas proteolitik yang luas setelah diaktifkan. MMP juga disebut sebagai *matrixin* yaitu suatu keluarga endoprotease yang terikat dengan *Zinc* dan mempunyai sekuens signal N-terminal yang diikuti oleh pro-peptida (*signal peptida*). Pro-peptida ini berfungsi menjaga

enzim dalam keadaan latent pada tahap inaktif hingga dirupsasi.

Enzim MMP pertama kali ditemukan adalah *collagenase* atau MMP-1 pada ekor suatu *tadpole* yang mengalami metamorfosis dan sekarang terdapat 24 MMP vertebrata yang telah diidentifikasi, 23 diantaranya ditemukan pada manusia (Visse and Nagase, 2003). Anggota dari keluarga enzim MMP mempunyai banyak ciri khas umum, secara genetik mereka berbeda tetapi secara struktural sangat berhubungan. Sekuens asam amino mereka merupakan homologous satu sama lain, kesemuanya mempunyai *zinc-binding* dengan motif HEXGHXXGXXH pada daerah katalitik sedangkan pada N-terminal terdapat signal peptide. Berdasarkan spesifitas, similaritas sekuens dan daerah MMP vertebrata dibagi menjadi enam kelompok, yaitu *collagenase*, *gelatinase*, *stromelysin*, *matrilysin*, *membrane-type MMP* dan MMP lain (tabel 3 dan gambar 8). MMP dapat pula diklasifikasi berdasarkan struktur mereka ke dalam delapan sub-kelompok yaitu *simple hemopexin domain-containing* MMP (MMP-1, -3, -8, 10, -12, -13, -18, -19, -20, -22 dan -27), *gelatin-binding* MMP (MMP-2 dan -9), *furin-activated secreted* MMP (MMP-11 dan -28), *vitronectin-like insert* MMP (MMP-21), *minimal domain* MMP (MMP-7 dan -26), *type I transmembrane* MMP (MMP-14, -15, -16 dan -24), GPI-linked MMP (MMP-17 dan -26) dan *type II transmembrane* MMP (MMP-23) (Egeblad & Werb 2002).

Tabel 3. Matrix Metalloprotease (MMP) vertebrata dan substrat

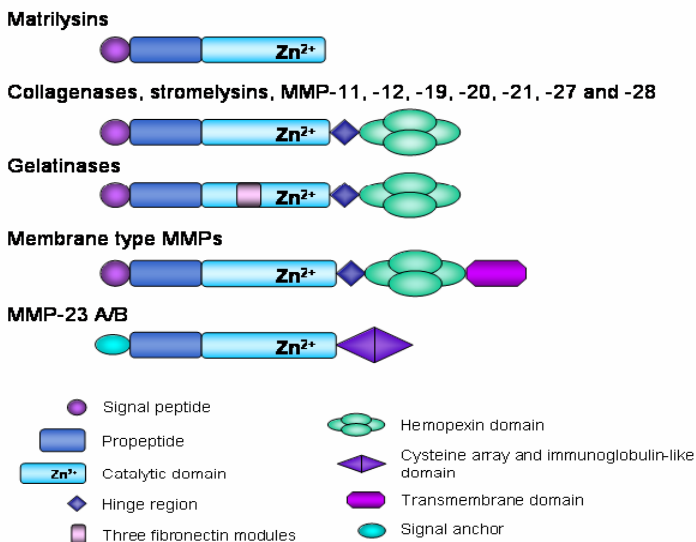
Nama	Nama Umum	Substrat
MMP-1	Collagenase-1	Coll III>I>II, VII, VIII, X,XI, Gel, En, Tn, Per, Lm, Ag, Cas, proTNF- α ,proIL-1 β , IL-1 β , IGF-BP, proMMP-1 and -2, α 1-PI, α 1-ACT, α 2-MG,MCPs.
MMP-2	Gelatinase A, 72-kDa gelatinase, 72-kDa type IV collagenase	Gel, Coll I, III, IV, V, VII, X, XI, El, Fn, Lm, Ag, Vn, Dc, Pl, proTGF- β 1,proTNF- α , proIL-1 β , IGF-BP, FGF-R1, proMMP-1, -2 and -13, α 1-PI, α 2-MG, MCP-3.
MMP-3	Stromelysin-1, transin-1	Ag, Ln, Fn, Coll III, IV, V, IX, X, XI, XVIII, Gel, Dc, En, Per, Tn, Vn,Fb, El, Lm, Cas, proTNF- α , pro-HB-EGF, proIL-1 β , Per, Pl, E-cadherin,IGF-BP, proMMP-1, -3, -7, -8, -9, and -13, α 1-PI, α 1-ACT, α 2-MG,MCP-3.
MMP-7	Matrilysin, PUMP-1,	Fn, Lm, Coll I, IV, V, IX, X, XI, XVIII, Gel, Ag, En Tn, Vn, Dc, Fb, Cell surface FasL, proTNF- α , E-cadherin, β 4 integrin, Pl, proMMP-1, -2, -7, and -9, α 1-PI, α 2-MG.
MMP-8	Collagenase-2, neutrophil collagenase	Coll I>II>III, VII, X, Gel, En, Ag, Tn, proTNF- α , IGF-BP, proMMP-8, α 1-PI, α 2-MG, MCP-1.
MMP-9	Gelatinase B, 92-kDa Gelatinase	Gel, Coll I, IV, V, VII, X, XI, XVIII, El, Dc, Fn, Lm, Ag, Vn, Cas, proIL-8, PF-4, proTGF- β 1, proTNF- α , proIL-1 β , FGF-R1, Pl, proMMP-2, -9 dan -13, α 1-PI, α 2-MG, ICAM-1.
MMP-10	Stromelysin-2, transin-2	Coll I, III, IV, V, Gel, El, Cas, Fn, Lm, Pgl, proMMP-1, -8 dan -10.
MMP-11	Stromelysin-3	Fn, Lm, Ag, IGF-BP, α 1-PI, α 2-MG.
MMP-12	Metalloelastase,macrophage elastase	El, Coll I, IV, Fn, Lm, Pgl, Fb, Pl, proTNF- α , α 1-PI.
MMP-13	Collagenase-3	Coll II>III>I, VII, X, XVIII, Gel, En, Tn, Ag, Lm, proTNF- α , proMMP-9 dan 13, α 1-ACT, α 2-MG, MCP-3.

MMP-14	MT1-MMP	Coll I, II, III, Gel, Fn, Lm, Vn, Ag, Cell surface CD44 dan tTG, proTNF- α , proMMP-2 and -13, pro α v integrin, α 1-PI, α 2-MG, MCP-3.
MMP-15	MT2-MMP	Pgl, proMMP-2, Cell surface tTG, proTNF- α .
MMP-16	MT3-MMP	Coll III, Fn, proMMP-2, Cell surface tTG, proTNF α .
MMP-17	MT4-MMP	Gel, Fb, proMMP-2, proTNF- α .
MMP-18 (frog)	Collagenase-4	Coll I, II, III, Gel.
MMP-19	RASI, stromelysin-4	Coll I, IV, Gel, Lm, Fn, Tn, En, Ag, Fb, Cas.
MMP-20	Enamelysin	Amg, Ag, Coll XVIII, Lm.
MMP-21	Xenopus MMP (human homolog)	Gel
MMP22(chicken)	Chicken homolog of MMP-27	-
MMP-23	Cysteine array (CA) MMP	Gel
MMP-24	MT5-MMP	Fn, Pgl, Gel, proMMP-2.
MMP-25	MT6-MMP	Coll IV, Gel, Fn, Pgl, Ln-1, Fb, proMMP-2 and -9, α 1-PI.
MMP-26	Matrilysin-2, endometase	Coll IV, Gel, Fn, Fb, IGF-BP, proMMP-9, α 1-PI
MMP-27	-	-
MMP-28	Epilysin	Cas

Sumber: Sternlicht & Werb 2001, Overall 2002, Visse & Nagase 2003, Pirilä et al. 2003)

Catatan: Singkatan yang digunakan: α 1-ACT, antichymotrypsin; α 1-MG, macroglobulin; α 1-PI, α 2-proteinase inhibitor; Amg, amelogenin; Ag, aggregan, Cas, casein; Coll, collagen; Dc, decorin; El, elastin; En, entactin; Fb, fibrin/fibrinogen; FGF-R, fibroblast growth factor receptor; Fn, fibronectin; Gel, gelatin; HB-EGF, heparin binding epithelial growth factor-like growth factor; ICAM, intercellular cell adhesion molecule; IGF-BP, insulin-like growth factor binding protein; IL, interleukin; Lm, laminin; MCP, monocyte chemoattractant protein; MMP, matrix metalloproteases.

MMP membelah ikatan peptida dengan rantai *hydrophobic side*, seperti Leu, Ile, Met, Phe atau Tyr. Walaupun fungsi utama MMP adalah mendegradasi ECM di dalam jaringan dan remodeling, MMP juga menjadikan ECM sebagai reservoir molekul aktif secara biologi yang diproses dan dilepaskan oleh MMP, oleh karena itu ECM dapat mengubah fenotif dan *cellular behavior* (Visse and Nagase, 2003).

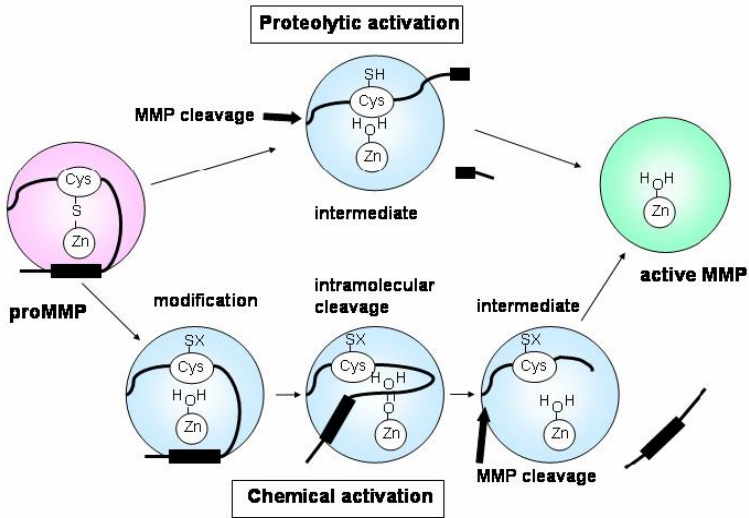


Gambar 13. Struktur domain MMP (dimodifikasi dari Egeblad and Werb 2002, Visse and Nagase 2003)

MMP terlibat dalam berbagai kondisi fisiologi dan patologi. Pada kondisi fisiologi MMP berperan pada reproduksi, mulai dari ovulasi hingga implantasi blastosit, perkembangan embrionik dan morfogenesis organ. Selain itu MMP dibutuhkan selama proses penyembuhan penyakit, angiogenesis, remodeling tulang, pertumbuhan syaraf, perkembangan kelenjar mammary, inflamasi dan apoptosis.

Sedangkan pada kondisi patologi, MMP dihubungkan dengan berbagai penyakit destruktif jaringan seperti aterosklerosis, kanker, arthritis, penyakit kulit, *liver fibrosis*,

penyakit ginjal, periodontitis dan *ulcerasi gastric* (Kähäri & Saarialho-Kere 1997, Nagase & Woessner 1999).



Gambar 14. Mekanisme aktivasi MMP. Pada *proteolytic activation*, suatu protease membelah *bait region* (persegi hitam) dalam propeptida (garis hitam tebal) akan menyebabkan MMP *intermediate catalytic site zinc* dipisahkan dari kelompok *sulfhydryl cysteine residue* dalam propeptida. Selama tahap kedua MMP-molecule yang lain (panah hitam tebal) mendegradasi propeptida, menyebabkan MMP aktif. *Chemical activation* memodifikasi *cysteine switch sulfhydryl* (tahap 1), menghasilkan aktivasi partial dari MMP dan pembelahan intramolekuler dari propeptida (tahap 2). Pada tahap selanjutnya sama dengan *proteolytic activation*, MMP yang lain memidahkan propeptida (Modifikasi dari Visse & Nagase 2003)

1. Aktivasi *Matrix Metalloproteinases* (MMP)

Semua MMP dihasilkan sebagai proenzim inaktif dan disekresikan menjadi *extracellular milieu* sebagai *latent proform* yang membutuhkan proses lanjut menjadi protease yang aktif. Pada zymogen yang latent, terdapat suatu kelompok *cysteine sulfhydryl* yang tidak berpasangan pada posisi 73 dari domain

propeptida di dalam *conserved region* PRCG(V/N)PD. Kelompok *cysteine sulfhydryl* tersebut berikatan dengan *catalytic zinc-ion*. Selama aktivasi MMP, ikatan tersebut didisrupsi dan dipindahkan oleh molekul air (Visse & Nagase 2003).

MMP dapat diaktifkan dalam suatu *stepwise activation* (gambar 10) oleh proteinase atau agen kimia, seperti *thiol-modifying agents* (4-aminophenylmercuric acetate dan senyawa merkuri lain), senyawa gold (I), glutation oksidasi, SDS, agen kaotropik, oksigen yang diperoleh dari radikal bebas, pH yang rendah dan perlakuan temperatur yang tinggi (Nagase *et al.* 1997, Visse & Nagase 2003). Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, sitokin inflamatori dan faktor pertumbuhan yang dihasilkan selama terjadi aterosklerosis dapat mengaktifkan ekspresi MMP. MMP yang aktif selama aterosklerosis antara lain dari kelompok stromelysin-1 (MMP-3), gelatinase-B (MMP-9) dan collagenase (MMP-1 dan MMP-8) (Visse & Nagase 2003).

2. Gelatinase B atau MMP-9

Gelatinase B atau yang dikenal sebagai MMP-9 mempunyai berat molekul 92 kDa dan diidentifikasi sebagai suatu *gelatin-binding protein* yang disintesis oleh leukosit (Vartio *et al.*, 1982), oleh cDNA yang diklon dari transform fibroblast paru-paru (Wilhelm *et al.*, 1989) dan dari sel fibrosarkoma (Huhtala *et al.*, 1991). Selama aktivasi, enzim latent 92 kDa diubah menjadi bentuk yang aktif dengan beberapa ukuran bentuk 63-82 kDa. Kadang-kadang MMP-9 berikatan dengan suatu ligan atau substrat yang menyebabkan pelepasan propeptida dari *active site* ke aktivasi tanpa proteolisis dan juga tidak ada perubahan dalam ukuran molekuler yang biasanya dibutuhkan pada waktu aktivasi. Ekspresi MMP-9 diinduksi oleh pemicu yang adekuat. Diketahui monosit, neutrofil, sel dendritik,

limfosit, sel endothelial, sel epitel dan osteoblast dapat memproduksi gelatinase B (Opdenakker *et al.*, 2001).

Menurut hasil penelitian Worthy *et al* (2001), menyatakan bahwa meskipun beberapa enzim terlibat dalam destruksi ECM (misalnya MMP-1 dan MMP-3), tetapi hanya MMP-9 yang mempunyai hubungan kuat terhadap terjadinya ruptur plak aterosklerotik. Dikatakan bahwa MMP-9 mampu mendegradasi komponen matriks yang tidak mampu didegradasi oleh enzim proteolitik lainnya. MMP-9 merupakan MMP yang paling banyak dihasilkan oleh makrofag dan bersama dengan MMP yang dihasilkan oleh *smooth muscle cell* atau SMC berperan pada rupturnya plak secara akut (Loftus *et al.*, 2000).

Meningkatnya MMP-9 merupakan indikasi semakin memburuknya suatu penyakit. MMP-9 banyak dihubungkan dengan inflamasi arteri. Peningkatan MMP-9 dalam serum pernah dilaporkan pada pasien dengan infark miokard dan unstable angina. Kadar serum MMP-9 meningkat sesuai dengan peningkatan CRP serum dan dikatakan bahwa ox-LDL menyebabkan up-regulation MMP-9 (Kalela, 2002). Konsentrasi, produksi dan ekspresi MMP-9 meningkat signifikan pada plak karotid yang tidak stabil. Diduga MMP-9 yang dihasilkan oleh makrofag dan SMC berperan pada rupturnya plak secara akut. Level MMP-9 meningkat dalam darah perifer, pada pasien dengan *acute coronary syndrome* (Kai *et al.*, 1998).

Stromelysin, interstitial collagenase dan 92-kDa gelatinase B ditemukan dalam bentuk aktif dalam plak aterosklerotik. Peningkatan MMP-9 pada lesi aterosklerotik koronari mendukung fakta bahwa sintesis secara aktif dari MMP tersebut oleh makrofag dan SMC berhubungan erat dengan meningkatnya degradasi ECM dan terjadinya ruptur plak (Brown *et al.*, 1995). Henney *et al* dalam Loftus *et al.* (2000), menemukan mRNA dari MMP-9 pada plak koroner sedangkan Gilas dalam Loftus *et al* (2000), menemukan adanya

peningkatan MMP-9 disekitar inti lemak plak, baik dalam bentuk laten maupun aktif. Konsentrasi, produksi dan ekspresi MMP-9 meningkat signifikan pada plak karotid yang tidak stabil. MMP-9 mungkin dapat menjadi kandidat untuk tujuan farmakoterapi untuk menstabilkan plak pada pasien dengan penyakit arteri koroner dan mencegah terjadinya sindrom iskemik akut (Loftus *et al.*, 2000).

K. Komponen Kolagen

Beberapa penelitian tentang IMA melaporkan bahwa plak aterosklerotik yang tidak stabil banyak dihubungkan dengan adanya enzim proteolitik yang dapat menghancurkan *Extracellular Matrix* (ECM) sehingga terjadi ruptur plak (Bajzer, 2005). ECM merupakan struktur kompleks yang mengelilingi dan mensupport sel dan ditemukan pada jaringan mammalia. Protein ECM merupakan protein terbanyak dalam tubuh (\pm 50%). Penyusun utama ECM adalah kolagen.

Banyak faktor yang meregulasi sel otot polos (*Smooth Muscle Cells* atau SMC) dalam mensintesis kolagen misalnya adanya faktor pertumbuhan atau *growth factor* dan sitokin, SMC secara normal dikelilingi atau dibenam dalam kelimpahan molekul kolagen. Dengan demikian kolagen kemungkinan memberi pelayanan sebagai perekat protein sehingga sangat berpengaruh pada perilaku SMC, misalnya substrat kolagen type I meningkatkan perlekatan dan proliferasi SMC yang seringkali bermigrasi ke arah lapisan intima sehingga dapat mempersempit lumen vaskular.

1. Jenis dan Fungsi Kolagen

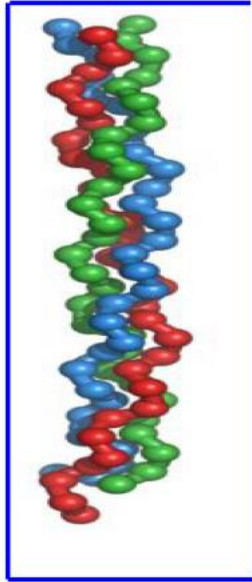
Kolagen utama tubuh adalah tipe I – V, kolagen tipe I, II dan III terdapat lebih banyak dibanding tipe lainnya dan mempunyai struktur fibriler yang mirip. Sedangkan kolagen tipe-IV banyak dijumpai pada membran basal di bawah lapisan endotel dan epitel yang berfungsi sebagai penyokong.

2. Kolagen Tipe-IV

Kolagen tipe-IV merupakan komponen utama dari membran basal vaskular yang letaknya berada di bawah lapisan sel endotel pembuluh darah, kolagen tipe-IV ini membentuk struktur *backbone* yang berasosiasi dengan makromolekul seperti laminin yang merupakan ligan dari integrin, diketahui integrin ini berperan penting dalam sel adesi dan migrasi sel-sel leukosit.

Kolagen tipe IV mempunyai bentuk retikulum dimensional atau *Type IV Collagen forms sheet-like membranes* dan merupakan *non fibrous collagen*, pada bentuk *triple-helix* diselingi oleh daerah *non-helical*. Daerah tersebut lebih fleksibel tetapi lebih rentan terhadap proteolisis (Dostal, D.E. 2005).

Kolagen tipe-IV terdiri dari enam produk gen yang berbeda, yaitu $\alpha 1-\alpha 6$ yang membentuk suatu trimer. Setiap rantai alfa tersusun oleh 3 domain, yaitu *cystein-rich N terminal 7S domain*, *central triple helix domain*, *globular C-terminal non collagenous NC1 domain* (gambar 11).

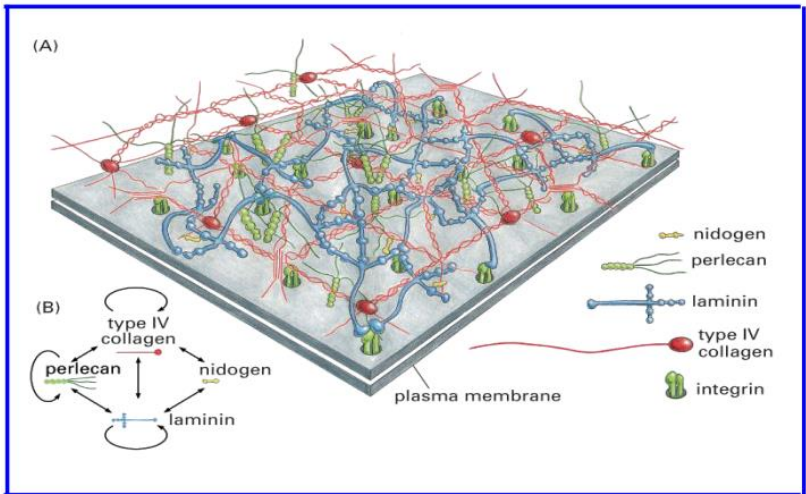


Gambar 15. *Tropocollagen triple helix*
(Wikipedia free encyclopedia)

Pada tahapan aterosklerosis, kolagen type IV banyak terdapat dalam membran basalis dengan berbagai lapisan terutama pada endotel sel acapkali menimbulkan hipertrofi membran basali yang berkaitan dengan permeabilitas pada vaskular endotel dan metabolisme dinding vaskular, hal ini ada hubungan dengan interaksi kolagen tipe-IV dengan laminin dan integrin pada lamina basal, interaksi tersebut dapat dilihat pada gambar 16.

Daerah-daerah vaskular yang kaya kolagen memiliki konsekuensi untuk mudah terjadinya trombosis. Hal ini disebabkan pada saat setelah terjadi trauma vaskuler, maka diikuti dengan perlekatan trombosit ke permukaan non-trombosit, dimana trombosit menempel atau melekat terutama pada serat kolagen di subendotelium. Dengan demikian serabut

kolagen berperan esensial dalam menginisiasi terjadi penyakit sumbatan arteri.



Gambar 16. Hubungan Spasial antara Kolagen Tipe-IV, Laminin dan Integrin pada Lamina Basal (Dostal, D.E. 2005).

Degradasi kolagen tipe IV dapat terjadi secara langsung oleh protease yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau bila terdapat inflamasi yang signifikan, akan terjadi degradasi yang lebih besar oleh aktivitas MMP (Romanelli, *et al.*, 1999). Kolagen tipe IV mudah rusak oleh aktivitas kolagenase dari sirkulasi, selain karena lokasinya yang berada paling dekat dengan sirkulasi darah juga karena strukturnya yang mengandung protein globuler (*non-collagenous domain*, tidak fibrilar) yang rentan terhadap berbagai kolagenase (Lee and Libby, 1997; Ortega and Werb, 2002; Cimpean and Caloianu, 1997).

Bentuk kolagen tipe-IV adalah retikulum dimensional dan struktur triple helix membuat struktur kolagen kaku dan dapat menjaga integritas jaringan. Karakteristik kolagen tipe-IV adalah adanya beberapa

non-collagenous domain. Kolagen tipe-IV mempunyai fungsi dalam meregulasi adhesi, migrasi sel dan terutama hubungannya dengan degradasi ECM. Degradasi kolagen membran basalis dapat terjadi pada beberapa kondisi fisiologi dan patologis, misal pada perkembangan embrio atau tumorigenesis. Degradasi kolagen membran basalis akan menghasilkan fragmen-fragmen kolagen (Ortega and Werb, 2002).

KONSEP PENELITIAN

A. Konsep Penelitian

Di dalam membangkitkan respon imun, sel bakteri *Helicobacter pylori* yang dimatikan dapat menimbulkan respon imun yang mungkin efektif, tetapi memberikan efek samping oleh karena komponen LPS pada dinding sel bakteri (Arai *et al.* dalam Winarsih, S. 2005).

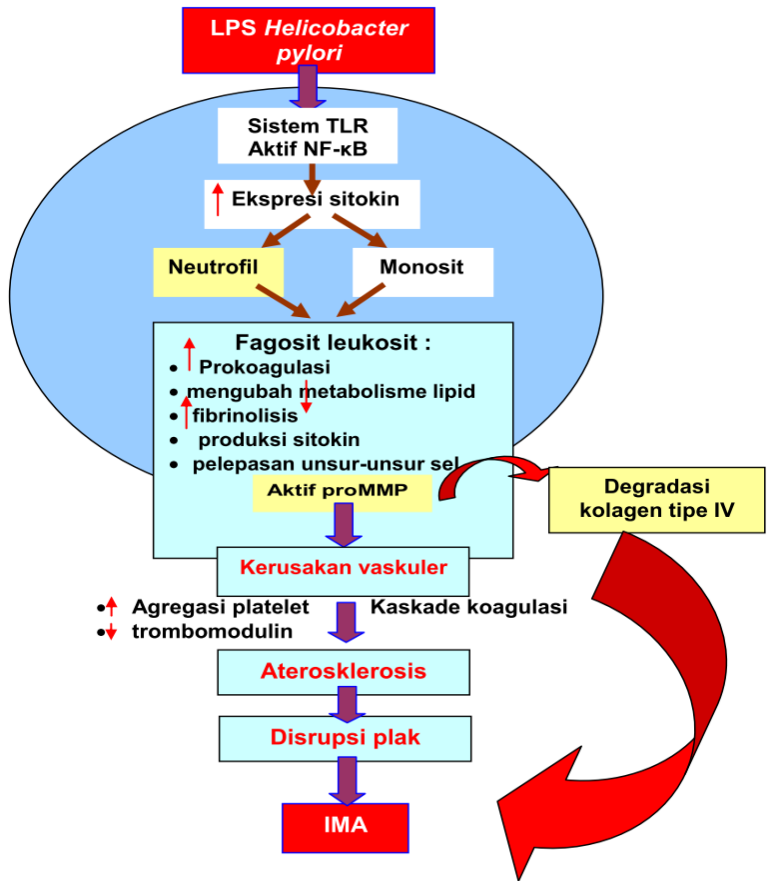
Pada tinjauan pustaka telah disebutkan bahwa LPS bertanggung jawab pada patogenisitas *Helicobacter pylori*. Hal ini didukung dengan struktur LPS *H. pylori* (gambar 6) yang terdiri dari kelompok lipid A merupakan antigen yang dapat dikenali oleh sistem imun nonspesifik sedangkan kelompok polisakarida merupakan antigen yang dikenali oleh sistem imun spesifik serta melibatkan sistem *toll-like reseptor* (Abbas, 2005).

Diketahui LPS bakteri gram negatif yang merupakan endotoksin dapat menimbulkan efek sistemik pada host sehingga mempengaruhi fungsi lokal sel-sel dinding vaskular, menurunkan sistem resistensi vaskuler, mengaktifkan endotelium yang sehubungan dengan evolusi dan pembentukan ateroma yang pada akhirnya menyebabkan disrupsi plak.

Neutrofil merupakan garis depan sistem pertahanan seluler terhadap invasi dan produk yang dikeluarkan oleh mikroorganisme. Dalam melaksanakan fungsinya, neutrofil akan memfagosit partikel-partikel dengan aktif melepaskan unsur-unsur pokok sel, salah satunya adalah enzim protease. Enzim MMP-9 merupakan keluarga enzim protease yang dapat merusak membran basalis dan jaringan ikat (Bellanti, J.A.,1985). Ekspresi MMP-9 ini dapat diinduksi oleh pemicu yang adekuat. Diketahui monosit, neutrofil, sel dendritik, limfosit, sel endothelial, sel epitel dan osteoblast dapat memproduksi gelatinase B (Opendakker *et al.*, 2001).

Diketahui Komponen utama membran basalis tersusun dari kolagen tipe IV. Kolagen tipe-IV ini letaknya

berada di bawah lapisan sel endotel pembuluh darah, sehingga apabila sel endotel mengalami injuri akibat invasi mikroorganisme atau sel inflamatori maka kolagen tipe IV akan mudah terdegradasi. Kolagen tipe IV mempunyai bentuk retikulum dimensional atau *Type IV Collagen forms sheet-like membranes* dan merupakan *non fibrous collagen*, pada bentuk *triple-helix* diselingi oleh daerah *non-helical*. Daerah tersebut lebih fleksibel tetapi lebih rentan terhadap proteolisis (Dostal, D.E. 2005).



Gambar 17. Kerangka Konsep penelitian

B. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang masalah, tinjauan pustaka, kerangka konseptual dan tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini, maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian, bahwa:

”LPS *Helicobacter pylori* mampu mengaktivasi neutrofil penderita IMA dalam mengaktifkan enzim MMP dan MMP tersebut secara in vitro dapat mendegradasi kolagen tipe IV.”

Apabila hipotesis di atas benar maka mekanisme terjadinya IMA akibat mikroorganismenya semakin lebih jelas.

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Subyek Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental *in vitro*, *post test only control group design*. Penelitian ini terfokus pada aktivitas neutrofil penderita IMA, selain itu digunakan pula neutrofil darah orang sehat sebagai pembanding. Jumlah sampel neutrofil yang digunakan adalah 8 sampel, masing-masing 4 sampel neutrofil penderita IMA dan 4 sampel neutrofil darah orang sehat.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini ialah fragmen kolagen, suatu aktivitas degradasi atau fragmentasi kolagen tipe IV yang disebabkan oleh kerja enzim proteolitik (MMP) yang berasal dari neutrofil.

Metode pengukuran untuk aktivitas kolagen tipe IV menggunakan metode *Soluble Biotinylated Collagen Assay* (SBA) pada gel *Sodium Dodecyl Sulphat Poliacrilamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) dilanjutkan dengan *Western blot*.

Parameter yang diukur adalah aktivitas MMP dan fragmentasi kolagen tipe IV, yang ditunjukkan dengan terjadinya fraksinasi atau munculnya pita-pita dengan jumlah dan berat molekul tertentu.

2. Variabel Bebas

Pada penelitian ini digunakan LPS *Helicobacter pylori* sebagai variabel bebas. *Helicobacter pylori* adalah bakteri gram negatif mikroaerofilik yang menyebabkan penyakit gastrointestinal.

C. Prosedur Kerja

1. Persiapan Alat dan Bahan

Semua alat-alat yang digunakan disterilkan dengan *autoclave* dan bahan-bahan yang digunakan ditimbang sesuai dengan kadar yang diperlukan.

2. Produksi Enzim MMP

a. Uji Lipopolisakarida *Helicobacter pylori*

Lipopolisakarida *Helicobacter pylori* diperoleh dari Laboratorium sentral Biomedik Rumah Sakit Umum Mataram, NTB. Uji LPS *Helicobacter pylori* dilakukan dengan SDS-PAGE dan dilanjutkan dengan pengecatan perak nitrat (AgNO_3). Uji ini dilakukan untuk mengetahui berat molekul LPS *Helicobacter pylori* yang akan digunakan dalam mengaktivasi neutrofil dalam memproduksi enzim MMP (Triwikatmani, C. 2004).

Sampel LPS yang diperoleh dari ekstraksi LPS *Helicobacter pylori* dimasukkan dalam efendorf dicampur dengan *reducing sample buffer* (RSB) dengan perbandingan 1 : 1 kemudian dipanaskan pada air mendidih dengan suhu 100°C selama 5 menit. Setelah dipanaskan sampel dimasukkan pada sumuran yang berisi separating gel 10% dan gel *dirunning* dengan *tris-glycine SDS running buffer*, dan *dirunning* pada kondisi voltase konstan (120 V), kuat arus 30 – 40 mA/gel dalam 90 menit. *Running* diakhiri pada saat warna biru *bromophenol blue* berada pada bagian bawah gel. Kemudian gel difiksasi dengan menggunakan larutan campuran 100 ml etanol, 25 ml asam asetat glasial dalam 250 ml akuades steril selama 30 menit sambil *dishaker*. Selanjutnya dilakukan tahap *sensitizing* yang mengandung larutan etanol 75 ml, glitaraaldehid 25% sebanyak 1.25 ml, 10 ml Sodium thiosulphate 5%, sodium asetat 17 gr dalam 250

ml akuades steril, tahap *sensitizing* ini dilakukan selama 30 menit. Kemudian gel dicuci dengan akuades steril 3 x 5 menit dilanjutkan dengan tahapan reaksi perak yang berisi 25 ml larutan silver nitrate 2.5%, 0.1 ml formaldehida 37% dalam 250 ml akuades steril selama 20 menit. Gel dicuci lagi dengan akuades steril selama 2 x 1 menit. Tahapan *developing* dilakukan hingga band-band sampel muncul pada gel. Larutan *developing* berisi 6.25 gr sodium carbonate, 0.05 ml formaldehida 37% dalam 250 ml akuades steril. Tahapan *developing* dihentikan dengan larutan 3.65 gr EDTA Na₂.2H₂O dalam 250 ml akuades steril selama 10 menit dan gel dicuci dengan akuades steril selama 3 x 5 menit. Tahap akhir dilakukan dengan memasukkan gel dalam larutan 75 ml etanol, 11.5 ml gliserol 87% dalam 250 ml akuades steril selama 2 x 30 menit sambil *dishaker*.

b. Isolasi dan Preparasi Neutrofil

Isolasi neutrofil dengan menggunakan darah vena peripheral yang diambil dan dikumpulkan dalam tabung *heparin*. Cara isolasi neutrofil dengan menggunakan metode *Histopaque* (*Sigma-Leukocyte separation*). *Histopaque-1119* sebanyak 3 ml dimasukkan ke dalam tabung *Falcon* 15 ml kemudian tambahkan 3 ml *Histopaque-1077* secara hati-hati di atas *Histopaque-1119* melalui dinding tabung. Darah sebanyak 6 ml dilapiskan secara hati-hati di atas lapisan *Histopaque-1077*. Kemudian disentrifus 1600 rpm selama 30 menit akan terbentuk 2 cincin, cincin pertama adalah monosit atau platelet sedangkan cincin kedua adalah granulosit atau neutrofil. Kedua cincin tersebut diambil secara hati-hati dan ditempatkan pada tabung yang terpisah. Ditambahkan 10 ml HBSS steril ke

dalam tabung neutrofil dan disentrifus 700 rpm selama 10 menit, supernatan dibuang dan pelet diresuspensi, dilakukan 2 kali. Kemudian pelet yang dihasilkan adalah neutrofil murni. Metode ini sesuai dengan *Leukocyte separation* dari Sigma-Aldrich yang telah dilakukan oleh Armiyanti (2006).

Untuk mengetahui perbedaan profil neutrofil sebelum dipapar LPS *Helicobacter pylori* dan setelah dipapar LPS *Helicobacter pylori* maka neutrofil yang diperoleh dari isolasi darah penderita IMA dan darah sehat, masing-masing diambil setetes dari pelet yang diperoleh dan dioleskan setipis mungkin di atas *object glass* dan dikeringanginkan. Kemudian olesan neutrofil tersebut diberi pewarnaan giemsa dan diamati di bawah mikroskop.

3. Produksi dan Uji Aktifitas Enzim MMP Menggunakan SDS-PAGE – Gelatin Zymography

a. Elektroforesis

Pada produksi dan uji aktivitas enzim MMP diperlakukan dalam 2 kelompok perlakuan yaitu neutrofil yang diisolasi dari penderita IMA dan neutrofil yang diisolasi dari darah orang sehat. Stimulasi sekresi dan aktivasi MMP pada neutrofil penderita IMA dan neutrofil darah sehat dilakukan dengan cara memasukkan LPS *Helicobacter pylori* ke dalam neutrofil dan diinkubasi selama 1 jam pada 37°C. Kemudian disentrifus dingin 4°C pada 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diduga mengandung enzim MMP diambil dan dimasukkan dalam effendorf baru. Prosedur ini dilakukan bertujuan untuk memproduksi dan mengaktifkan MMP oleh

neutrofil. Metode ini sesuai dengan yang dilakukan oleh Nyberg, P. (2005).

Supernatan yang diduga mengandung enzim MMP diuji dengan menggunakan metode gelatin zymography. Supernatan dicampur dengan *tris-glycine SDS buffer*, dan dibiarkan pada suhu ruang 10 menit tanpa dipanasi. Sampel dimasukkan pada sumuran yang telah berisi gel dengan 0.1% gelatin dan gel dirunning dengan *tris-glycine SDS running buffer*, dan dirunning pada kondisi voltase konstan (125 V), kuat arus (awal: 30 – 40 mA/gel dan akhir: 8 – 12 mA/gel) dalam 90 menit. *Running* diakhiri pada saat warna biru *bromophenol blue* berada pada bagian bawah gel. Gel direnaturasi pada *Zymogram renaturing buffer* pada suhu ruang selama 30 menit sambil diagitasi. Gel dipindahkan ke *Zymogram developing buffer* pada suhu ruang dengan agitasi lembut selama 30 menit kemudian gel dimasukan pada *Zymogram developing buffer* yang baru kemudian diinkubasi pada 37°C semalam. Gel distaining dengan *comassie brilliant blue*. Pita yang berwarna putih pada gel yang berwarna biru menandakan aktivitas gelatinase. Metode ini sesuai dengan Leber T.M and Balkwill F.R. (1997).

b. Western Blotting

Hasil elektroforesis yang dilakukan pada supernatan yang diduga mengandung enzim MMP dilanjutkan dengan uji imunoblotting. Hal ini dilakukan untuk mengetahui respon antibodi anti MMP-9 terhadap pita MMP yang diperoleh dari gel elektroforesis. Pada Western blotting ini, pita yang terbentuk pada gel elektroforesis dipindahkan ke membran nitrocellulose (NC)

menggunakan alat *semi dry blotter* buatan Biorad. Cara memindahkan pita adalah menggunakan aliran listrik sebesar 300 mA selama 120 menit dengan 20 volt. Setelah waktu pemindahan dicapai maka dilakukan pengecatan menggunakan pewarna *ponco* 2% selama 30 menit. Kemudian membran NC dibilas dengan akuades untuk menghilangkan warna merah *ponco*. Membran NC direndam dalam blotto 5% (5% susu krim dalam Tris Buffered Saline atau TBS) selama semalam pada 4°C. Inkubasi dilanjutkan pada suhu ruang selama 2 jam sambil *dishaker*. Kemudian membran NC dibilas dalam TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit. Selanjutnya membran NC diinkubasi dengan antibodi anti MMP-9 dalam TBS dengan perbandingan 1 : 500 selama 2 jam sambil *dishaker*. Membran NC dicuci dengan TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit. Kemudian diinkubasi dengan antibodi sekunder- IgG rabbit yang telah dilabel biotin dalam TBS dengan perbandingan 1 : 1000 selama 1 jam sambil *dishaker*. Membran NC dicuci dengan TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit, selanjutnya diinkubasi dengan *Streptavidin Horseradish peroksidase* (SAHRP) dalam TBS dengan perbandingan 1 : 1000 selama 60 menit pada suhu ruang sambil *dishaker* dan dibilas dengan TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit. Membran NC direndam dengan TMB substrat selama 10–30 menit pada ruangan gelap. Membran NC dibilas dengan akuades dan dikeringangkan. Kemudian hasilnya di analisa.

4. Uji Degradasi Kolagen Tipe IV

Sebelum supernatan (neutrofil yang dipapar dengan LPS *Helicobacter pylori*) ditambahkan ke kolagen, terlebih dahulu substrat kolagen tipe IV dilabel dengan biotin (*biotinylated collagen substrate*)

kemudian diinkubasikan bersama dengan supernatan yang diperoleh, perlakuan ini bertujuan untuk melihat degradasi kolagen tipe-IV.

a. Elektroforesis

Supernatan yang dipaparkan pada kolagen tipe-IV yang telah dilabel biotin dengan perbandingan 1:2, diinkubasi selama 18 jam pada suhu ruang. Ditambahkan RSB dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 3 menit. Sampel dimasukkan pada sumuran yang telah berisi gel kemudian *dirunning* dengan *tris-glycine SDS running buffer*, dan *dirunning* pada kondisi voltase konstan (120 V), kuat arus 30 mA dalam waktu 90 menit. Pemisahan (*running*) diakhiri pada saat warna biru *bromophenol blue* berada pada bagian bawah gel. Pita-pita hasil fragmentasi kolagen tipe-IV diamati dengan pewarnaan *comassie blue R-250* (larutan *staining*) dilakukan dengan merendam gel dalam larutan *staining* selama 2 jam, kemudian penghilangan warna dilakukan dengan merendam gel dalam larutan *destaining* sambil digoyang dengan menggunakan *shaker* sampai gel menjadi jernih. Pita-pita yang muncul pada gel elektroforesis tersebut dihitung berat molekulnya yang dibandingkan dengan berat molekul kolagen tipe-IV yang murni.

b. Western Blotting

Hasil elektroforesis degradasi kolagen tipe IV dipindahkan ke membran NC menggunakan alat *semi dry blotter* buatan Biorad. Cara memindahkan pita seperti yang dilakukan blotting pada uji MMP, adalah menggunakan aliran listrik sebesar 300 mA selama 120 menit dengan 20 volt. Setelah waktu pemindahan dicapai maka dilakukan pengecatan menggunakan pewarna *ponco* 2% selama 30 menit. Kemudian membran NC dibilas dengan akuades

untuk menghilangkan warna merah *ponco*. Membran NC direndam dalam blotto 5% (5% susu krim dalam Tris Buffered Saline atau TBS) selama semalam pada 4°C.

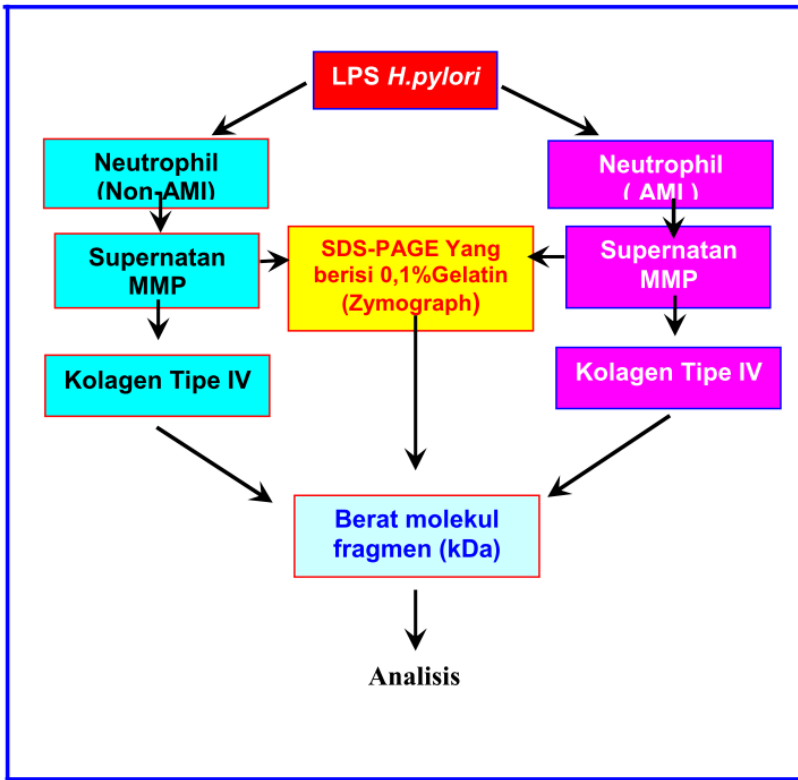
Inkubasi dilanjutkan pada suhu ruang selama 2 jam sambil *dishaker*. Kemudian membran NC dibilas dalam TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit. Selanjutnya membran NC dinkubasi dengan antibodi poliklonal anti kolagen tipe IV yang diperoleh dari mencit yang diimunisasi dalam TBS-skim dengan perbandingan 1 : 300 selama 2 jam sambil *dishaker*. Membran NC dicuci dengan TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit. Kemudian diinkubasi dengan antibodi sekunder-IgG mouse yang telah dilabel biotin dalam TBS dengan perbandingan 1 : 1000 selama 1 jam sambil *dishaker*. Membran NC dicuci dengan TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit, selanjutnya diinkubasi dengan *Streptavidin Horseradish peroksidase* (SAHRP) dalam TBS dengan perbandingan 1 : 1000 selama 60 menit pada suhu ruang sambil *dishaker* dan dibilas dengan TBS-Tween 5% sebanyak 2x10 menit.

Membran NC direndam dengan TMB substrat selama 10–30 menit pada ruang gelap. Membran NC dibilas dengan akuades dan dikeringanginkan. Kemudian hasilnya di analisa.

5. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa pita-pita hasil SDS-PAGE dan Western blotting dianalisa dengan menggunakan analisa regresi diperoleh dari *Retardation factor* (Rf) standar dan logaritma massa molekul relatif yang bertujuan untuk menentukan berat molekul tiap pita-pita yang diperoleh.

6. Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 18. Kerangka Operasional Penelitian

HASIL PENELITIAN

Data penelitian yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, grafik, foto atau gambar dan disusun sesuai dengan urutan penelitian yang terdiri dua tahap penelitian, ialah tahap produksi enzim MMP yang diinduksi oleh LPS *Helicobacter pylori* melalui neutrofil dan tahap degradasi kolagen tipe-IV oleh MMP yang diproduksi oleh neutrofil karena adanya induksi LPS (*in vitro*) kemudian dilanjutkan isolasi antibodi anti fragmen kolagen tipe-IV yang diproduksi oleh kelinci yang diinduksi oleh antigen fragmen kolagen tipe-IV (*in vivo*).

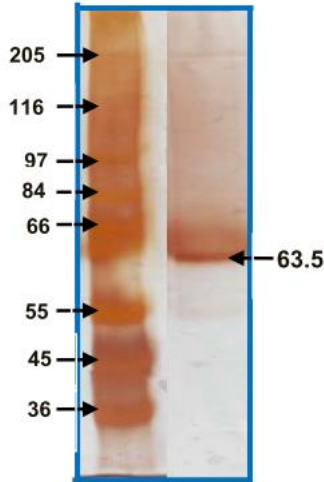
A. Tahap Produksi Enzim MMP

Pada tahap produksi enzim MMP, dilakukan isolasi neutrofil dari darah penderita IMA dan orang sehat yang dipapar oleh LPS *Helicobacter pylori* yang diperoleh dari Laboratorium Sentral Biomedik Rumah Sakit Umum Mataram. LPS *Helicobacter pylori* yang diperoleh tersebut terlebih dahulu diuji dengan menggunakan pewarnaan perak nitrat.

1. Pengujian LPS dengan Pewarnaan Perak Nitrat

Pengujian LPS *Helicobacter pylori* dengan pewarnaan perak nitrat bertujuan untuk mengetahui keberadaan pita LPS *Helicobacter pylori* yang digunakan dalam memproduksi enzim MMP. Adapun pewarnaan perak nitrat dilakukan karena dapat menghasilkan pita LPS yang lebih jelas dan tajam dibandingkan dengan jika menggunakan pewarnaan *comassie brilliant blue*.

Adapun hasil yang diperoleh dari pewarnaan perak nitrat dapat dilihat pada gambar 19 di bawah ini, menunjukkan pita LPS *Helicobacter pylori* berada pada berat molekul 63.5 kDa.



Gambar 19. Hasil SDS-PAGE 10% LPS *Helicobacter pylori* dengan menggunakan Pewarnaan Perak Nitrat

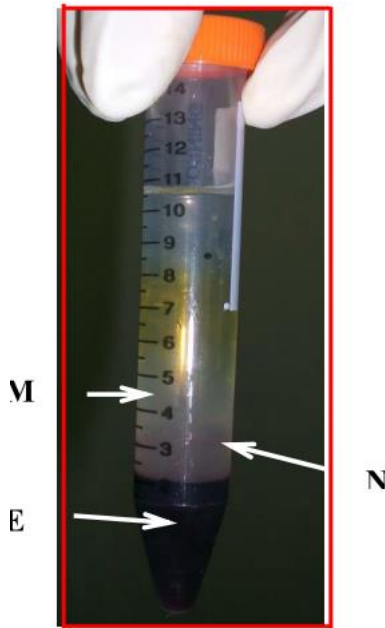
Keterangan : M : Protein perunut high marker merk Sigma
 L : Pita lipopolisakarida *Helicobacter pylori*

2. Isolasi neutrofil

Isolasi neutrofil yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode *Histopaque* (Sigma-*Leukocyte separation*), metode ini digunakan karena larutannya mengandung polisukrosa dan medium *radiopaque* yang dapat mengatur densitas hingga 1,077 sehingga pemisahan antara sel neutrofil dan sel mononuklear sangat terlihat jelas. Hasil isolasi dengan *histopaque* tersebut akan menghasilkan 6 lapisan setelah disentrifus, yaitu dari atas ke bawah adalah lapisan plasma, lapisan yang berisi monosit, lapisan *histopaque* 1077, lapisan yang berisi neutrofil, lapisan *histopaque* 1119 dan eritrosit (lampiran 1).

Hasil isolasi dengan *histopaque* tersebut memperlihatkan 6 lapisan setelah disentrifus, yaitu dari

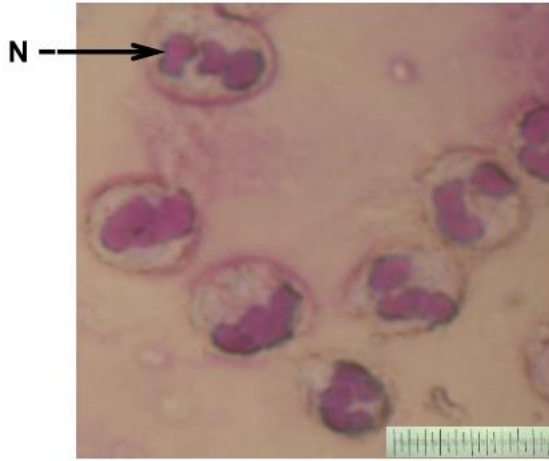
atas ke bawah : terlihat lapisan plasma, lapisan yang berisi monosit, lapisan *histopaque* 1077, lapisan yang berisi neutrofil, lapisan *histopaque* 1119 dan eritrosit (gambar 20).



Gambar 20. Pemisahan Sel Neutrofil dan Monosit dengan Menggunakan Metode *Histopaque* 1077 dan 1119

Keterangan M: Lapisan monosit
N: Lapisan neutrofil
E: Eritrosit

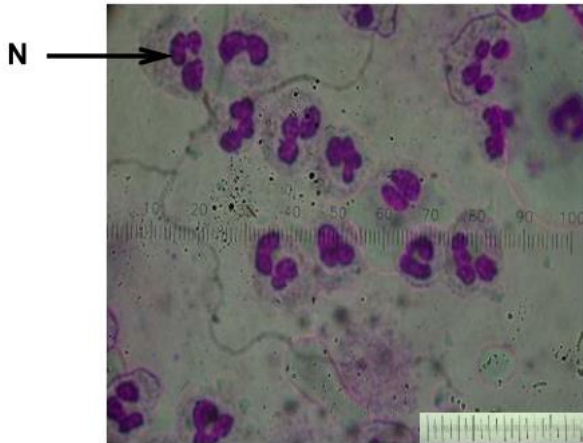
Isolasi neutrofil dilakukan bertujuan untuk mendapatkan neutrofil yang murni tanpa kontaminasi dari sel yang lain. Berdasarkan hasil pewarnaan giemsa terhadap neutrofil yang diperoleh dari darah sehat sebelum dipapar LPS *H. pylori* seperti yang diperlihatkan pada gambar 21a.



Gambar 21a. Neutrofil Darah Sehat dengan Perbesaran 1000x menggunakan Pewarnaan Giemsa

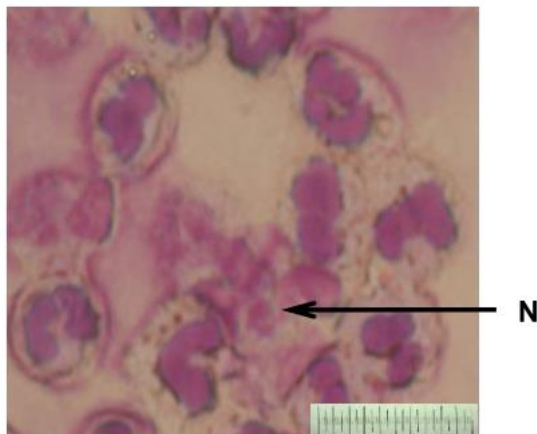
Keterangan N : Neutrofil darah sehat sebelum dipapar LPS *H. pylori*

Sedangkan hasil pewarnaan giemsa pada neutrofil yang diisolasi dari darah penderita IMA sebelum dipapar oleh LPS *H. pylori* seperti yang diperlihatkan pada gambar 21b. Pada inti neutrofil penderita IMA terlihat berwarna lebih pekat dengan membran sel yang lebih tipis dibanding neutrofil yang diisolasi dari darah orang sehat yang intinya berwarna lebih cerah dan mempunyai membran sel yang pembatasnya lebih jelas.



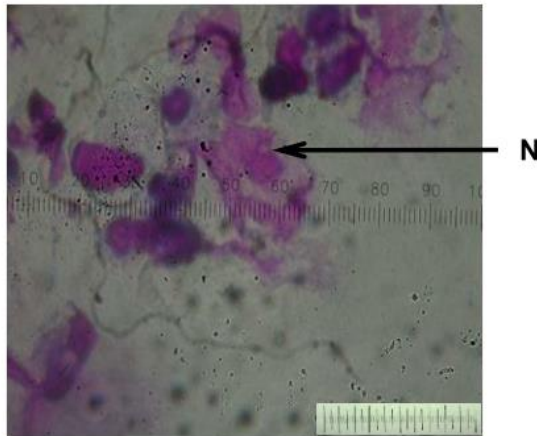
Gambar 21b. Neutrofil Penderita IMA dengan Perbesaran 1000x menggunakan Pewarnaan Giemsa
Keterangan: N : Neutrofil Penderita IMA sebelum dipapar LPS *Helicobacter pylori*

Adapun neutrofil yang diperoleh dari darah sehat setelah dipapar oleh LPS *H. pylori* seperti diperlihatkan pada gambar 22a.



Gambar 22a. Neutrofil darah sehat dengan perbesaran 1000x menggunakan pewarnaan giemsa
Keterangan N : Neutrofil darah sehat setelah dipapar LPS *Helicobacter pylori*

Sedangkan hasil pewarnaan neutrofil yang diperoleh dari darah penderita IMA setelah dipapar oleh LPS *H. pylori* seperti yang diperlihatkan pada gambar 22b.



Gambar 22b. Neutrofil penderita IMA dengan perbesaran 1000x menggunakan pewarnaan giemsa

Keterangan N : Neutrofil penderita IMA setelah dipapar LPS *Helicobacter pylori*

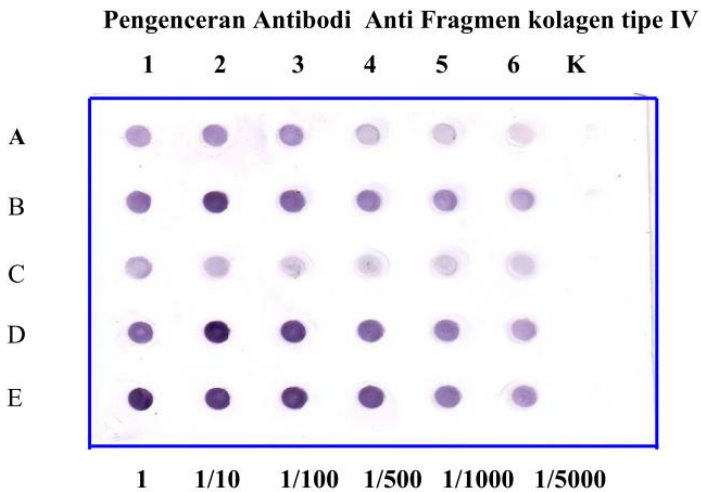
Pada neutrofil sebelum dipapar LPS *H. pylori* baik pada neutrofil yang diisolasi dari darah orang sehat maupun penderita IMA menunjukkan sel neutrofil yang masih utuh, tampak nucleus neutrofil yang terdiri dari 3 lobi dengan jelas (gambar 21a dan 21b). Sedangkan pada neutrofil setelah dipapar LPS *H. pylori* baik pada neutrofil yang diperoleh dari darah orang sehat maupun penderita IMA menunjukkan sel neutrofil mengalami degranulasi (gambar 22a dan 22b), dan tampak mengeluarkan isi sel yang diduga salah satunya adalah berupa enzim MMP.

3. Pengujian Interaksi Antibodi Anti Fragmen Kolagen Tipe-IV

Uji interaksi antibodi anti fragmen kolagen tipe-IV dengan menggunakan dot blot bertujuan untuk

mengetahui interaksi yang terjadi antara antibodi anti fragmen kolagen tipe-IV yang diproduksi oleh kelinci dengan antigen fragmen Kolagen Tipe-IV yang diinduksi oleh LPS *Helicobacter pylori*.

Hasil uji interaksi antara anti-serum yang diproduksi oleh kelinci yang diinduksi oleh antigen fragmen kolagen tipe IV diperlihatkan seperti pada gambar 23, Totolan warna biru keunguan menunjukkan interaksi positif antara anti serum kelinci terhadap antigen fragmen kolagen tipe IV.



Gambar 23. Uji Spesifisitas Antibodi Anti Fragmen Kolagen Tipe-IV dengan Antigen Fragmen Kolagen Tipe IV menggunakan Metode Dot Blot.

Keterangan : 1 – 6 : Pengenceran Antibodi Anti fragmen kolagen tipe IV
 A : Imunisasi minggu pertama
 B– E : Booster 1 sampai dengan booster 4
 K : Kontrol

4. Produksi dan Pengujian MMP Aktif Menggunakan SDS-PAGE-Gelatin Zymography

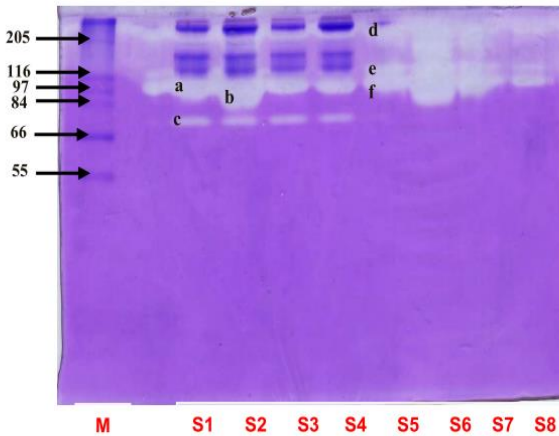
Produksi enzim MMP diduga diperoleh dari salah satu isi neutrofil, dimana neutrofil yang terinduksi oleh paparan LPS *H.pylori* akan memproduksi enzim MMP. Untuk mengetahui keberadaan dan aktivitas MMP maka dilakukan uji enzim MMP dengan menggunakan SDS-PAGE 7,5% gel gelatin (*gelatin*

zymography) terhadap supernatan dari neutrofil yang dipapar dengan LPS *H. pylori*. Adapun Hasil uji enzim MMP yang menggunakan SDS-PAGE gel gelatin dapat dilihat pada gambar 24 berikut

Tabel 4. Hasil Rata-rata Interaksi Antibodi Anti Fragmen Kolagen Tipe-IV dan Antigen Fragmen Kolagen Tipe-IV

K o n s e n t r a s i A n t i g e n 1/100	Pengenceran Antibodi Anti Fragmen Kolagen Tipe-IV						
		1	1/10	1/100	1/500	1/1000	1/5000
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0
Booster 1	136.04	82.04	120.59	144.01	157.13	179.65	
Booster 2	189.03	194.27	209.08	211.56	213.77	213.2	
Booster 3	122.21	51.1	87.63	120.8	142.12	174.74	
Booster 4	64.04	81.22	80.65	101.8	138.43	162.18	

Pada gambar 24 di atas menunjukkan pada sumur S1 sampai S4 (supernatan dari neutrofil darah penderita IMA) terdapat pita berwarna putih transparan dengan berat molekul 91 kDa dan 72 kDa, Pada sumur S2 juga terlihat pita putih yang tebal yang berada pada berat molekul 82.5 kDa. Sedangkan pada sumur S5 sampai S8 (supernatan dari neutrofil darah orang sehat) terlihat pita putih transparan pada berat molekul 205 kDa, 116 kDa, 97 kDa dan 91.2 kDa.



Gambar 24. MMP dengan SDS-PAGE 7.5% Gel Gelatin menunjukkan BM 70kDa pada Neutrofil Penderita IMA (S1-S4)

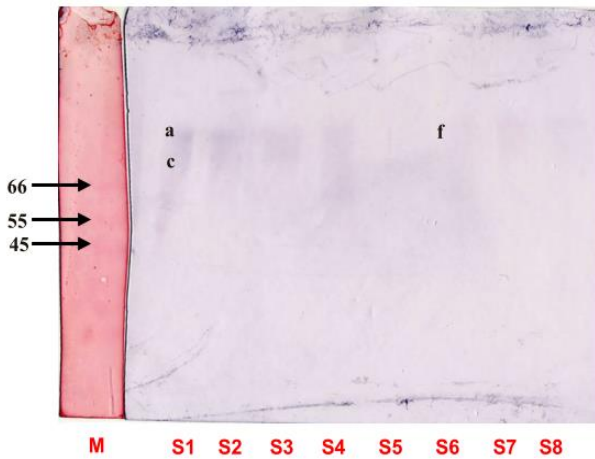
Keterangan:

- M :Perunut protein High marker merk Sigma dengan pewarnaan commassie Brilliant Blue R-250
- S1-S4:Sampel supernatan neutrofil IMA yang dipapar LPS *H. pylori*
- S5-S8 : sampel supernatan neutrofil sehat dipapar LPS *H. pylori*

- a : 91 kDa
- b : 82.5 kDa
- c : 72 kDa
- d : 205 kDa
- e : 116 kDa
- f : 91.2 kDa

Gel hasil SDS-PAGE 7.5% gelatin kemudian dilanjutkan dengan Western blotting yang menggunakan antibodi anti MMP-9 sebagai antibodi primer. Pada gambar 25 menunjukkan hasil Western blotting dimana reaktifitas antibodi anti MMP-9 dapat mengenali enzim MMP.

Pada gambar 25 menunjukkan hasil Western blotting dimana antibodi anti MMP-9 yang diberikan sebagai antibodi primer terlihat dapat mengikat enzim MMP pada berat molekul 91 kDa dan 72 kDa.



Gambar 25. Hasil Western Blotting Reaktifitas Antibodi anti MMP-9 yang dapat Mengenal Enzim MMP yang dihasilkan Neutrofil karena Induksi LPS *Helicobacter pylori*.

Keterangan: M :Perunut protein High marker merk Sigma dengan pewarnaan commassie Brilliant Blue R-250

S1-S4 : Sampel supernatan neutrofil IMA yang dipapar LPS *H. pylori*

S5-S8 : Sampel supernatan neutrofil sehat dipapar LPS *H. pylori*

a : 91 kDa

c : 72 kDa

f : 91.2 kDa

Reaktifitas antibodi anti MMP-9 terhadap pita MMP yang dihasilkan neutrofil karena induksi LPS *Helicobacter pylori* menunjukkan bahwa MMP tersebut diduga merupakan enzim MMP-9. Pada hasil blotting yang dilakukan menunjukkan sampel S1 sampai dengan S4 adalah MMP-9 yang diperoleh dari neutrofil penderita IMA yang dipapar oleh LPS *Helicobacter pylori* menunjukkan antibodi anti MMP-9 mengenali pita pada berat molekul 91 kDa dan 72 kDa. Sedangkan pada sampel S5 sampai dengan S8 adalah MMP-9 yang diperoleh dari neutrofil orang sehat yang dipapar oleh LPS *Helicobacter pylori* menunjukkan antibodi anti MMP-9 mengenali pita pada berat molekul 91.2 kDa,

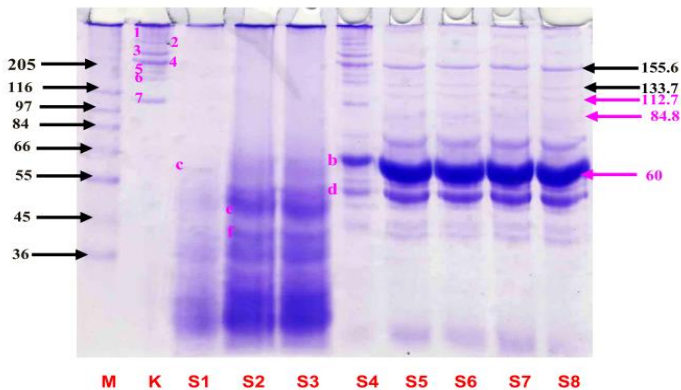
walaupun pita yang dihasilkan terlihat kabur (samar-samar).

B. Tahap Degradasi Kolagen Tipe IV

1. Analisis Elektroforesis SDS-PAGE

Tahap selanjutnya dilakukan uji degradasi kolagen tipe IV oleh MMP-9 yang diperoleh dari neutrofil yang dipapar oleh *Helicobacter pylori*. Degradasi ini dilakukan dengan menggunakan SDS-PAGE 10%.

Adapun Hasil SDS-PAGE 10% terhadap MMP-9 yang dipaparkan ke kolagen tipe IV tersebut dapat dilihat pada gambar 26.



Gambar 26. Hasil SDS-PAGE 10% pada Kolagen Tipe IV yang Dipapar MMP9 dengan Pewarnaan *Comassie Brilliant Blue R-250*

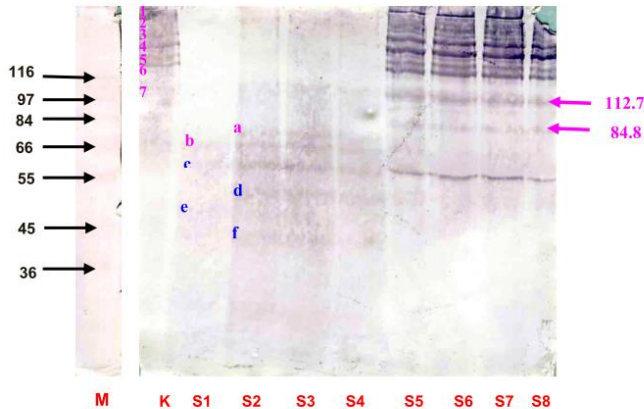
- Keterangan :** M : Protein perunut high marker merk Sigma
 K : kolagen tipe IV
 S1 – S4 : kolagen tipe IV yang dipapar MMP-9 dari Neutrofil penderita IMA
 S5 – S8 : kolagen tipe IV yang dipapar MMP-9 dari Neutrofil darah orang sehat
- | | | |
|--------------|---------------|---------------|
| b : 65 kDa | 1 : 195 kDa | 6 : 155.6 kDa |
| c : 60 kDa | 2 : 188 kDa | 7 : 112.7 kDa |
| d : 50 kDa | 3 : 181 kDa | |
| e : 47.8 kDa | 4 : 171 kDa | |
| f : 43.8 kDa | 5 : 167.9 kDa | |

→ : Pita yang dapat direspon oleh antibodi poliklonal anti kolagen tipe IV

Berdasarkan hasil SDS-PAGE 10% pada gambar 26 di atas menunjukkan pada perlakuan MMP-9 dari neutrofil penderita IMA (sampel S1) diperoleh pita-pita pada gel poliakrilamid dengan berat molekul 60 kDa, 49.8 kDa, 47.8 kDa dan 43.8 kDa. Pada sampel S2 pita-pita yang dapat terlihat adalah 65 kDa, 60 kDa, 55.8 kDa, 49.8 kDa, 47.8 kDa, 43.8 kDa, 34 kDa, 23 kDa dan 20 kDa. Adapun sampel S3 memperlihatkan pola pita yang sama dengan pola pita pada sampel S2. Sedangkan sampel S4 memperlihatkan pita-pita dengan berat molekul 181.8 kDa, 177.7 kDa, 168 kDa, 155 kDa, 138.8 kDa, 114.8 kDa, 102 kDa, 88kDa, 78 kDa, 65 kDa, 62 kDa, 50 kDa. Pada perlakuan MMP-9 dari neutrofil darah sehat (sampel S5 – S8) menunjukkan pola pita yang sama dengan berat molekul sebagai berikut 155.6 kDa, 133.7 kDa, 123.9 kDa, 112.7 kDa, 98.7 kDa, 84.8 kDa, 65 kDa, 60 kDa, 54.8 kDa, 50.8 kDa, 42.8 kDa dan 39.8 kDa.

2. Analisis *Western Blotting*

Reaktifitas antibodi poliklonal anti kolagen tipe IV terhadap pita-pita perlakuan MMP-9 yang dipapar ke kolagen tipe IV dapat dilihat seperti gambar 27.



Gambar 27. Hasil Blotting pada Kolagen Tipe IV yang Dipapar MMP-9

Keterangan : M : Protein perunut high marker merk Sigma
 K : Kolagen tipe IV
 S1 – S4 : Kolagen tipe IV yang dipapar MMP-9 dari Neutrofil darah penderita IMA
 S5 – S8 : Kolagen tipe IV yang dipapar MMP-9 dari Neutrofil orang sehat

a : 78.6 kDa	1 : 195 kDa	7 : 112.7 kDa
b : 65 kDa	2 : 188 kDa	
c : 60 kDa	3 : 181 kDa	
d : 50 kDa	4 : 171 kDa	
e : 47.8 kDa	5 : 167.9 kDa	
f : 43.8 kDa	6 : 155.6 kDa	

→ Pita hasil degradasi kolagen tipe IV

Pada gambar 27 menunjukkan reaktifitas antibodi poliklonal anti kolagen tipe IV terhadap pita-pita sampel kolagen tipe IV yang dipapar oleh MMP-9 dari neutrofil penderita IMA pada pita-pita yang mempunyai berat molekul 65 kDa, 60 kDa dan 47.8 kDa (sampel S1), 112 kDa, 78.6 kDa, 65 kDa, 60 kDa, 47.8 kDa dan 43.8 kDa (sampel S2 dan S3) dan pada sampel S4 pada pita-pita dengan berat molekul 112 kDa, 65 kDa, 60 kDa, 47.8 kDa dan 43.8 kDa.

Sedangkan pada sampel kolagen tipe IV yang dipapar oleh MMP-9 dari neutrofil darah sehat menunjukkan pita-pita yang terespon pada berat molekul 112 kDa, 84.8 kDa dan 60 kDa.

Adapun reaktifitas antibodi poliklonal anti kolagen tipe IV terhadap sampel kolagen tipe IV murni sebagai kontrol (sumur 2) menunjukkan semua pita-pita terespon bahkan beberapa pita yang tidak terdeteksi pada SDS-PAGE 10% yang diberi pewarnaan *comasie brilliant blue* dapat terdeteksi dan direspon oleh antibodi poliklonal anti kolagen tipe IV. Adapun berat molekul tiap pita sampel kolagen tipe IV murni adalah 195 kDa, 188 kDa, 181 kDa, 171 kDa, 167.9 kDa, 155.6 kDa, 144 kDa, 112.7 kDa dan 65 kDa.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dan untuk mencapai tujuan, maka pembahasan disusun berdasarkan LPS *Helicobacter pylori* sebagai penginduksi produksi enzim MMP oleh neutrofil sampai terbentuknya pita hasil degradasi kolagen tipe IV oleh MMP tersebut.

Pada penelitian ini dilakukan uji LPS *Helicobacter pylori* dengan menggunakan pewarnaan perak nitrat (*silver staining*). Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui berat molekul LPS *Helicobacter pylori* yang digunakan dalam menginduksi neutrofil untuk memproduksi enzim MMP. Menurut Gibson J.R (1998), pewarnaan perak nitrat dapat mendeteksi LPS dengan baik yang tidak dapat dilakukan oleh pewarnaan *comassie brilliant blue* selain itu pewarnaan dengan perak nitrat dilakukan apabila konsentrasi protein yang terdeteksi pada elektroforesis sangat rendah. Deteksi protein tergantung pada pengikatan ion perak pada rantai asam amino diikuti dengan reduksi menjadi *metallic silver* (Merril, CR., *et al.* 1982).

Berat molekul LPS yang diperoleh dari hasil uji LPS *Helicobacter pylori* dalam penelitian ini adalah 63.5 kDa. Berat molekul LPS *Helicobacter pylori* tersebut diduga merupakan tipe LPS bentuk halus (*smooth-form LPS*). Alasan tersebut diperkuat oleh Walsh and Moran (1997) dalam Gibson JR (1998) yang melaporkan tipe LPS *Helicobacter pylori* akan berubah dari *smooth-form LPS* menjadi LPS bentuk kasar (*rough-form LPS*) bila ditumbuhkan pada media padat dan menunjukkan berat molekul yang rendah. Sedangkan berat molekul LPS *Helicobacter pylori* pada penelitian ini merupakan berat molekul yang cukup tinggi.

Beberapa strain *Helicobacter pylori* menghasilkan LPS rantai O-spesifik yang *smooth-form LPS* dan pada strain yang lain dapat menghasilkan *rough-form LPS*. Menurut Gibson J.R *et al.* (1998) Isolat *Helicobacter pylori* yang diperoleh dari biopsi akan menghasilkan *smooth-form LPS* sedangkan isolat *Helicobacter pylori* yang telah ditumbuhkan secara *in vitro* dalam waktu yang lama atau subkultur yang

berulang-ulang akan menghasilkan *rough-form* LPS. Berdasarkan pernyataan di atas, maka dapat dinyatakan bahwa pada penelitian ini dimana LPS *Helicobacter pylori* yang diperoleh dari kultur Laboratorium sentral Biomedik RSU Mataram merupakan isolat *Helicobacter pylori* yang mungkin baru saja diperoleh dari biopsi, sehingga diharapkan efek aktivitasnya lebih kuat dibanding dengan kultur isolat *H.pylori* yang telah berulang-ulang dikultur.

Diketahui LPS tersusun atas molekul yang kompleks yaitu terdiri dari komponen lipid dan polisakarida yang dibagi dalam 3 area, yaitu rantai O-spesifik, core-oligosakarida dan lipid A. Kelompok polisakarida dari LPS tersebut merupakan antigen yang dapat dikenali oleh sistem imun spesifik sedangkan kelompok lipid A merupakan antigen yang dapat dikenali oleh sistem imun nonspesifik (Abbas, 1991 dan Jafar, M., 2004).

Kemungkinan juga karena tipe LPS *Helicobacter pylori* yang *smooth-form* tersebut maka dengan mudah dapat terwarnai dengan jelas oleh perak nitrat oleh karena rantai O-spesifik dari tipe tersebut yang merupakan polimer unit polisakarida.

Seperti telah dijelaskan sebelumnya, LPS yang merupakan produk mikroorganisme dapat melibatkan sistem *toll-like reseptor* (TLR4) yang dapat mengaktifasi NF- κ B dan mengekspresikan gen-gen yang mengkode protein yang penting dalam berbagai komponen respon imun nonspesifik yang meliputi sitokin inflamatori (TNF- α , IL-1 dan IL-12), molekul *leukocyte-endothelial adhesion host* (seperti E dan P-*selectin*) dan protein yang terlibat di dalam mekanisme killing mikroba (seperti iNOS) (Abbas, 1991; Galustian *et al*, 2003). Mekanisme Jalur signaling yang dipicu oleh TLR seperti diperlihatkan pada gambar 11.

Masih menurut Abbas (1991), produksi sitokin yang meningkat akan mengaktifkan fagosit dan TNF yang diproduksi oleh sitokin akan mengerahkan neutrofil dan monosit ke tempat infeksi serta mengaktifkan sel-sel tersebut untuk menyingkirkan LPS. Pendapat Abbas tersebut juga sesuai dengan Lee A and Moran A.P. (1993) yang menyatakan

bahwa LPS dapat memicu sistem imun non spesifik maupun spesifik, antara lain dengan mengaktifkan komplemen secara langsung melalui jalur alternatif, menstimulasi limfosit B, mengaktifkan makrofag dan menginduksi inflamasi.

Sehubungan efek aktivitas LPS *Helicobacter pylori* maka dalam penelitian ini dilakukan paparan LPS *Helicobacter pylori* terhadap neutrofil seperti yang diperlihatkan pada gambar 22a dan 22b. Pada gambar tersebut menunjukkan neutrofil yang dipapar oleh LPS *Helicobacter pylori* mempunyai ukuran yang lebih besar, dibanding neutrofil sebelum dipapar LPS *Helicobacter pylori* (Gambar 21a dan 21b). Hal ini mungkin disebabkan perlekatan dan fagositosis terhadap LPS oleh neutrofil menyebabkan vakuola fagositik menelan LPS tersebut. Menurut Bellanti (1993) Setelah terjadi perlekatan permukaan neutrofil pada kompleks imun, sel dirangsang untuk memfagositosis kompleks. Penambahan area permukaan membran yang diperoleh dari adanya vakuola terikat membran atau fagosom disediakan dengan penambahan sintesis lipida dan dengan pemutaran kembali membran ke plasmalemma. Selain itu terdapat perbedaan kepekatan warna yang diperlihatkan antara neutrofil yang diisolasi dari darah sehat dan penderita IMA, pada neutrofil penderita IMA terlihat warna yang lebih pekat. Hal ini mungkin disebabkan neutrofil tersebut telah terpapar oleh proses inflamasi sebelumnya sehingga komposisi komponen neutrofil lebih padat. Berhubungan dengan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik.

Setelah fagositosis, neutrofil dirangsang untuk melakukan percepatan pemakaian oksigen, diikuti oleh pembangkitan radikal oksigen yang sangat toksik yang dapat merusakkan sel membran, hal ini mungkin yang terjadi pada neutrofil setelah dipapar LPS tampak pecah dan mengeluarkan isi selnya, tentunya terjadi pelepasan dari unsur-unsur pokok neutrofil ke lingkungan ekstraseluler, yang diduga salah satunya adalah enzim protease. Hal ini dapat ditunjukkan dengan mengukur supernatan dari neutrofil yang dipapar LPS dengan metode *zymography gelatin* (Gambar 24) menunjukkan terdapatnya enzim protease pada supernatan tersebut, pita putih

transparan menunjukkan bahwa enzim protease yang diperoleh dapat mengkatalisis gelatin yang merupakan komponen pada poliakrilamid (Aulanni'am, 2004).

Diketahui neutrofil memiliki bermacam-macam senyawa antimikrobal, yang dapat digunakan untuk membunuh mikroba. Aktivitas bakterisida neutrofil normalnya disertai dengan pembentukan spesies-spesies oksigen reaktif (ROS) dan metabolit-metabolit aktif melalui mekanisme yang bersifat oksidatif sehingga dihasilkan metabolit-metabolit oksigen yang bersifat toksik (radikal bebas) (Carranza, 2000; Dreosti, 1991). Selain produksi radikal bebas, menurut Hansen (1995); Romanelli (1999); dan Shah, *et al.* (2001) Stimuli bakterial ataupun produk bakteri pada neutrofil dapat menginduksi dalam jumlah besar produksi enzim MMP yang dapat menyebabkan destruksi matriks ekstraseluler. MMP disekresi oleh neutrofil dalam bentuk zimogen yang tidak aktif dan membutuhkan aktivasi sebelum MMP tersebut dapat mendegradasi matriks ekstraselular.

Pada hasil reaktifitas antibodi anti MMP-9 pada Western blotting (Gambar 25) menunjukkan pita putih 91 kDa dan 72 kDa pada sampel S1 sampai S4 dapat dikenali sedangkan pada sampel S5 sampai dengan S8 antibodi anti MMP-9 hanya mengenali pita putih 91.2 kDa walaupun terlihat tidak jelas (samar-samar). Hal ini menunjukkan pita yang dapat dikenali tersebut merupakan enzim MMP-9. Akan tetapi, apabila merujuk pada Sorsa, *et al* (1997) bahwa selama aktivasi terjadi, MMP-9 latent 92 kDa akan dikonversi dalam bentuk aktif dengan ukuran berat molekul sekitar 63 kDa hingga 82 kDa, maka pita dengan berat molekul 72 kDa merupakan enzim MMP-9 aktif.

Aktifnya MMP-9 pada berat molekul 72 kDa, memberikan suatu indikasi bahwa neutrofil yang diisolasi dari penderita IMA merupakan neutrofil yang telah mengandung proMMP-9, sehingga pada waktu pemaparan LPS *Helicobacter pylori* proMMP-9 tersebut langsung aktif. Hal ini mungkin ada hubungannya dengan kondisi pasien penderita IMA yang telah mengalami inflamasi selama perkembangan aterosklerosis. Menurut Visse dan Nagase (2003) bahwa sitokin inflamatori

dan faktor pertumbuhan yang dihasilkan selama terjadi aterosklerosis dapat mengekspresikan MMPs dan Ekspresi MMP-9 dapat diinduksi oleh pemicu yang adekuat (Opdenakker *et al.* 2001). Menurut Kalela, (2002), MMP-9 banyak dihubungkan dengan inflamasi arteri. Peningkatan MMP-9 dalam serum pernah dilaporkan pada pasien dengan infark miokard dan unstable angina.

MMP dapat diaktifkan oleh tiga mekanisme yaitu aktivasi *stepwise*, aktivasi intraseluler dan aktivasi pada permukaan sel. Walaupun semua MMP mempunyai keluarga protease, struktur dan fungsi yang sama, tetapi MMP dapat diaktifkan dengan mekanisme yang berbeda (Ramos-DeSimone *et al.* 1999). Awal pembelahan terjadi di dalam propeptida dan kemudian propeptida dipindahkan oleh fragmentasi intramolekuler melalui beberapa intermedit (Gambar 14) (Okada 1988, Nagase 1990). Aktivasi kimia juga diperlihatkan pada percobaan *in vivo*, dimana NO mengaktifkan proMMP-9 selama *cerebral ischemia* oleh reaksi dengan kelompok thiol dari sistein (Gu *et al.*, 2002). Selama inflamasi proMMP dapat diaktifkan oleh *reactive oxygen species* atau ROS, seperti hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Aktivasi kimia atau oksidatif ini dianggap penting pada penyakit inflamasi (Weiss, 1989).

Masih berdasarkan berat molekul bentuk aktif dari MMP-9 menurut Sorsa, maka MMP-9 pada berat molekul 91.2 kDa yang diproduksi oleh neutrofil yang diisolasi dari darah sehat diduga masih merupakan proMMP-9, atau mungkin terjadi suatu aktivasi yang parsial seperti yang diperlihatkan pada mekanisme aktivasi MMPs (gambar 14). Hal ini mungkin salah satu faktor yang menyebabkan hasil degradasi kolagen tipe IV pada neutrofil darah sehat mempunyai distribusinya lebih kecil dibandingkan dengan uji degradasi kolagen tipe-IV yang menggunakan neutrofil penderita IMA.

Menurut hasil penelitian Worthly *et al* (2001), bahwa meskipun beberapa enzim terlibat dalam destruksi ECM (misalnya MMP-1, dan MMP-3), tetapi hanya MMP-9 yang mempunyai hubungan kuat terhadap terjadinya ruptur plak aterosklerotik. Dikatakan bahwa MMP-9 mampu mendegradasi

komponen matriks yang tidak mampu didegradasi oleh enzim proteolitik lainnya.

Sehubungan dengan kemampuan MMP-9 dalam mendegradasi komponen matriks maka pada penelitian ini pula dilakukan uji degradasi kolagen tipe-IV oleh MMP-9 yang diperoleh dari neutrofil yang dipaparkan LPS *H.pylori*. Berdasarkan hasil SDS-PAGE (Gambar 20) kemudian dilanjutkan dengan uji imunoblotting (Gambar 21) diperoleh profil fragmen hasil degradasi kolagen tipe IV yang menggunakan MMP-9 dari neutrofil penderita IMA dengan berat molekul 60 kDa, 50 kDa, 47.8 kDa dan 43.8 kDa. Penentuan degradasi tersebut berdasarkan bahwa pada pita terendah kolagen tipe IV berada pada berat molekul 65 kDa sehingga diasumsikan berat molekul yang terbentuk lebih kecil dari 65 kDa adalah pita hasil degradasi kolagen tipe IV. Penentuan degradasi tersebut seperti yang dilakukan oleh Suzanne EG,*et al* (2002) pada penelitiannya tentang Cleavage of intact type I collagen by MMP-1.

Sedangkan pola fragmen hasil degradasi kolagen tipe IV yang menggunakan MMP-9 dari neutrofil darah orang sehat menunjukkan berat molekul 60 kDa. Distribusi degradasinya sangat kecil, hal itu mungkin tergantung aktivitas MMP-9 yang diperoleh. Pada neutrofil yang diambil dari orang sehat kemungkinan belum terpapar oleh keadaan inflamasi sedangkan pada neutrofil penderita IMA sudah mengalami paparan inflamasi sebelumnya sehingga kemungkinan proMMP-9 pada neutrofil penderita IMA sudah terbentuk sebelumnya hanya membutuhkan induksi saja, dalam hal ini paparan LPS *H.pylori* akan cepat menghasilkan MMP-9 yang aktif. Kemungkinan pula pada MMP-9 yang diperoleh dari neutrofil orang sehat terjadi suatu aktivitas MMP-9 yang parsial sehingga mampu mendegradasi kolagen tipe IV walaupun hanya pada berat molekul 60 kDa.

Pada proses inflamasi, sel-sel radang yang teraktivasi akan meningkatkan produksi proenzim, diantaranya *Matrix Metalloproteinases* atau MMP. Proenzim ini dapat diubah menjadi enzim aktif yang menyebabkan lisisnya kolagen (Romanelli *et al.* 1999). Apabila proses ini terjadi pada

permukaan plak aterosklerotik maka serabut kolagen yang melindungi plak akan mengalami lisis sehingga menjadi tipis dan akhirnya mudah ruptur.

MMP-9 atau dikenal sebagai gelatinase B merupakan kelompok gelatinase yang mempunyai berat molekul 92 kDa dan diidentifikasi sebagai suatu *gelatin-binding protein* yang disintesis oleh sel leukosit. Ekspresi MMP-9 dapat diinduksi oleh pemicu yang adekuat. Diketahui monosit, neutrofil, sel dendritik, limfosit, sel endothelial, sel epitel dan osteoblast dapat memproduksi gelatinase B (Opdenakker *et al.*, 2001).

Degradasi kolagen tipe-IV dapat terjadi secara langsung oleh protease yang dihasilkan oleh protease yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau bila terdapat inflamasi yang signifikan, akan terjadi degradasi yang lebih besar oleh aktivitas MMP (Romanelli, *et al.*, 1999; Kadowaki, *et al.*, 2000). Diketahui pada struktur MMP-2 dan MMP-9 mempunyai 3 daerah yang sama dari fibronektin tipe II di dalam daerah katalitiknya, diduga pada waktu MMP-9 aktif maka 3 daerah yang sama dari fibronektin tipe II ini akan berinteraksi dengan Kolagen tipe-IV, selain itu *C-terminal hemopexin-like domain* yang dimiliki MMP-9 digunakan untuk membelah bentuk kolagen yang triple heliks (Nagase *et al.* 1999).

KESIMPULAN & SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dan untuk menjawab permasalahan maka dapat disimpulkan bahwa : "lipopolisakarida dari *Helicobacter pylori* dapat menginduksi neutrofil penderita IMA dengan menghasilkan enzim MMP dan enzim MMP tersebut dapat mendegradasi kolagen tipe IV."

Selain itu, kesimpulan lain yang dapat ditarik pada penelitian ini adalah:

1. Enzim MMP yang dihasilkan dari neutrofil penderita IMA yang diinduksi oleh LPS *Helicobacter pylori* merupakan enzim MMP aktif
2. Enzim MMP aktif tersebut merupakan enzim MMP-9 aktif dengan berat molekul 72 kDa
3. Enzim MMP-9 aktif dengan berat molekul 72 kDa mampu mendegradasi kolagen tipe-IV pada berat molekul 60 kDa, 50 kDa, 47.8 kDa dan 43.8 kDa.

B. Saran

1. Karakterisasi neutrofil yang diisolasi dari penderita IMA yang mungkin dapat dijadikan sebagai metode alternatif (metode apusan) dalam pemeriksaan pasien yang berkenaan dengan penyakit IMA.
2. Fragmen kolagen tipe IV hasil degradasi enzim MMP-9 dengan berat molekul 72 kDa dijadikan sebagai antibodi monoklonal yang mungkin berfungsi sebagai marker alternatif dalam mendeteksi penyakit IMA yang berkaitan dengan infeksi *Helicobacter pylori* atau endotoksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.
3. Enzim proteolitik yang dihasilkan oleh neutrofil yang diinduksi mikroorganisme dan enzim proteolitik yang dihasilkan langsung mikroorganisme yang kemungkinan kedua-duanya dapat direkombinasi dan dijadikan sebagai imunoterapi bagi calon penderita IMA yang berkaitan dengan infeksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas A.K. and A.H. Lichtman, 1991. Cellular and Molecular Immunology, Fifth Edition. The Curtis Center, Philadelphia. p.296-349.
- Ameriso, S.F.; A.F. Esteban; C.L. Ramon; E.S. Gustavo, 2001. Detection of *Helicobacter pylori* in Human Carotid Atherosclerosis Plaques. *J. Stroke*. **32**(3):385
- Amieva M.R.; N.R. Salama; L.S. Tompkins and S. Falkow, 2002. *Helicobacter pylori* enter and survive within multivesicular vacuoles of epithelial cells. *Cellular Microbiology*. **4** (10): 677.
- Aspholm M, 2004. *Adaptation of Helicobacter pylori adherence properties in promotion of host tropism and inflammatory disease*. Medical Dissertation (87): 25-40
- Atherton J.C. 2000. CagA : A role at last. *J. Gut*. **47** : 330-331
- Aulanni'am. 2004. *Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul*. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press, Malang. Indonesia
- Bajzer C.T. 2005. Acute Myocardial Infarction. <http://www.clevelandclinicmeded.com/diseasesmanagement>. June, 28,2005.
- Bellanti, J.A. 1993. *Immunology III*. Washington, D.C.
- Benagiano, M.; Mario M.D.; Amedeo A.; Annalisa A.; Ruurd Z.; Alessandra C.; Gianni R.; Sergio R.; Antonio C. and Gianfranco D.P. 2005. Human 60-kDa Heat Shock Protein Is a Target Autoantigen of T Cells Derived from Atherosclerotic Plaques. *The Journal of Immunology*, **174**: 6509–6517.
- Blaser, M.J. and J.C. Atherton, 2004. Science in medicine, *Helicobacter pylori* Persistence: Biology and Disease. *J Clin Invest*. (113) : 321-333
- Braunwald E. 1997. Heart Disease a textbook of Cardiovascular Medicine. 5th Edition. United State, America.

- Burgess, G.W. 1995. Teknologi Elisa Dalam Diagnosis dan Penelitian. Edisi pertama. Gadjah Mada University press. Yogyakarta. p.177-187.
- Carranza F.A. 2000. Glikman's Clinical Periodontology. 8th edition. Philadelphia, London.
- Cate HT. pathophysiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis. Crit care med 2000 ; 28 (suppl) : S9 – S11
- Cimpean S.; M. Caloianu 1997. Matrix Metalloproteinases with Role in Collagen Biodegradation. *Romanian J. Biol. Sci*, **1** (2), p. 1-14
- Creemers E.E.J.M.; J.P.M. Cleutjens; J.F.M. Smith and M.J.A.P. Daemen, 2001. Matrix Metalloproteinase Inhibition after Myocardial Infarction. *Circulation Research*. (89):201
- Deliagiris E.N.; I. Marron; S.C. Smith; J.D. Beck and S. Offenbacher, 2000. Periodontitis and Acute Myocardial Infarction. *American Heart Association*.
- Dostal, D.E. 2005. Matrix and Cell Adhesion Mediated Signaling. *Division of Molecular Cardiology*. October 10, 2006.
- Dubreuil D.J; D.G. Giudice and R. Rappuoli 2002. *Helicobacter pylori* Interactions with serum and Extracellular Matrix Proteins: Potential Role in the Infectious Process. *Micronial Mol Biol Rev*. **66** (4): 617-629
- Duncan M.E.; J.P. Richardson; G.I. Murray; W.T. Melvin and J.E .Fothergill, 1998. Human Matrix Metalloproteinase-9: Activation by Limited Trypsin Treatment and Generation of Monoclonal Antibodies Specific for the Activated form. *Eur J Biochem* **258**(1): 37-43
- Dunn B.E.; H. Cohen and M.J. Blaser, 1997. *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Rev*. **10** (4) : 720-741
- Egeblad M & Werb Z (2002) New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* **2** (3): 161-174

- Epstein S.E.; J. Zhou; M.S. Burneet; Y.F. Zhou; G. Vercellotti and D. Hajjar, 2000. Infection and Atherosclerosis, Potential Roles of Pathogen Burden and Molecular Mimicry (Editorial). *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* (20) : 1417-1420
- Falk E.; P.K. Shah and V. Fuster 1995. Coronary Plaque Disruption. *Circulation*, (92):657-671
- Fong, I.W. 2000. Emerging Relations Between Infectious Diseases and Coronary Artery Disease and Atherosclerosis. *CMAJ*; **13**(1) : 49-56
- Fravallo P.; C. Menard and M. Bonnaure-Mallet 1996. Effect of Porphyromonas gingivalis on Epithelial Cell MMP-9 Type IV Collagenase Production. *Infection and Immunity*. p. 4940-4945
- Fuster V.; R. Ross and E.J. Topol 1996. Atherosclerosis and Coronary Artery Disease. First edition. Lippincott-Raven. Philadelphia New York.
- Gabrielli M.; A. Santoliquido; F. Cremonini; V. Cicconi; M. Candelli; M. Serricchio; P. Tondi; R. Pola; G. Gasbarrini; P. Pola and A. Gasbarrini 2003. CagA-Positive Cytotoxic *Helicobacter pylori* Strains as a link between Plaque Instability and Atherosclerotic Stroke. *Clinical Research*, (25): 64-68
- Gasbarrini A.; F. Franceschi; A. Armuzzi; V. Ojetti; M. Candelli; Sanz and E. Torre, 1999. Extradigestive Manifestations of Helicobacter pylori Gastric Infection. *J. Gut*. **45** (I):19-112
- Gibson, J.R.; H. Chart and R.J. Owen, 1998. Intra-strain Variation in expression of Lipopolysaccharide by *Helicobacter pylori*. *The Society for Applied Microbiology*, (26) : 399-403
- Goligorsky MS, Gross SS. The ins and outs of endothelial dysfunction : much a do about NO-thing. *Drug New Perspect* 2001; 14 : 133-42
- Göran K. and Hansson, 2001., Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *J. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2001;(21):1876. American Heart Association, Inc.

- Gu Z.; M. Kaul; B. Yan; S.J. Kridel; J. Cui; A. Strongin; J.W. Smith; R.C. Liddington and S.A. Lipton, 2002. S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. *Science* **297**(5584): 1186-1190
- Guyton and Hall, 1997, Atherosclerosis and Trombosis Function. *Stroke centre*, Washington, maret 2007.
- Hajishengalis G.; M. Martin; H. Sojar; A. Sharma; R.E. Schiffer; E. DeNardin; M.W. Russel and R. Genco, 2002. Dependence of Bacterial Protein Adhesin on Toll-Like Receptors for Proinflammatory Cytokine Induction. *Clinical Diagnostic laboratory Immunology* **9**(2) : 403-411
- Halliwell B. 1984. Oxygen Radicals : A commonsense Look at Their Nature and Medical Importance. *J. Medical Biology*. (62):71-72
- Hansen P.R. 1995. Roles of Neutrophils in Myocardial Ischemia and Reperfusion. *J. Circulation* (91):1872-1885
- Hansson G.K. 2001. Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, (21):1876
- Haraszthy V.I.; J.J. Zambon; M. Trevisan; M. Zeid and R.J. Genco, 2000. Identification of Periodontal Pathogens in Atheromathous Plaques. *J. Periodontal*. (71):1554-60
- Jerris R.C 1995. Helicobacter In P.R. Murray, E.J. Baron MA, Pfaller FC., Tenover dan Yolken RH., : Manual of Clinical Microbiology 7th ed., ASM Press, Washington DC. p. 492-8
- Kadirvelu A, Chee KH, Chim CL. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases. *Med. Progr.* 2002 : 4-12
- Kimmel B.; A. Bosserhoff; R. Frank; R. Gross; W. Goebel and D. Beier, 2000. Identification of immunodominant antigens from *Helicobacter pylori* and evaluation of their reactivities with sera from patients with different gastroduodenal pathologies. *J. Infect Immun* (68) :915-9

- Koneman E.W.; S.D. Allen; W.M. Janda; P.C. Schrenkenberger and W.C. Winn, 1992. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* 4th ed. JB Lippincott Company, Philadelphia.
- Kalela, A. 2002. *Factor Affecting Serum Matrix Metalloproteinase-9 with Special Reference to Atherosclerosis*. University of Tampere, Tampere.
- Kullo I.J.; W.D. Edward and R.S. Schawtz, 1998. Vulnerable Plaque: Pathobiology and Clinical Implications. *J. Annals*, **129** (12) :1050-1060
- Lacy B.E and J. Rosemore 2001. *Helicobacter pylori* : Ulcers and More : The Beginning of an Era. *J. Nutr.* (131):2789S-2793S
- Leber T.M. and F.R. Balkwill, 1997. Zymography: a single-step staining method for quantitation of proteolytic activity on substrate gels. *Anal Biochem.* **15**;249(1):24-8.
- Lee R.T. and P. Libby 1997. The Unstable Atheroma. *Atherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.* (17) :1859-1867
- Lee A. and A.P. Moran. 1993. *Helicobacter pylori*, Basic Mechanisms to Clinical Cure. First edition. Kluwer Academic Publishers. London. p. 169-177
- Loftus, I.M.; Naylor R.; Goodall S. Crowther M.; Jones L.; Bell P.R.F.; Thompson M.M. 2003. Increased Matrix Metalloproteinase-9 Activity in Unstable Carotid Plaques. *Stroke J.*; **31**(40).
- Lopes, V.M.; R. Klein and H. Stevenson, 1997. Low-density Lipoprotein Metabolism in Human Macrophages Stimulated with Microbial or Microbial-related Products. *J. Arteriosclerosis* (7):176-84.
- Luscher TF, Barton M. Biology of the endothelium. *Clin. Cardiol.* 1997;20 Suppl 2:3-10
- Marshall B.J, 1994. *Helicobacter pylori*. *Am J Gastroenterol* (89) :116-28
- Mayr M.; S. Kiechl; MA. Mendall; J. Willeit; G. Wick and Q. Xu, 2000. Infections, Immunity and Atherosclerosis. Association of Antibodies to *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori* and *Cytomegalovirus* With Immune

- Reactions to Heat-Shock Protein 60 and Carotid of Femoral Atherosclerosis. *J. Circulation*. (102) :833-839.
- Merril C.R.; D. Godman and M. L. Van Keuren. Simplified Silver Protein Detection and Image Enhancement Methods in Polyacrylamide Gels. Wiley Online Library, 1982.
- Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*1993; 329 : 2002-12
- Moran, A.P.; I.M. Helander and T.U. Kosunen. 1992. Compositional analysis of *Helicobacter pylori* rough-form lipopolysaccharides. *J Bacteriol* (174) : 1370-1377
- Muhlestein J.B.; B.D. Horne; J.F. Carquist; T.E. Madsen; T.L. Bair; R.R. Pearsn and J.L. Anderson, 2000. Cytomegalovirus Seropositivety and C-reactive Protein have Independent and Combination Predictive Value for Mortality in Patients with Angiographically Demonstrated Coronary Artery Disease. *J. Circulation* **17**:102 (16):1917-23
- Naghavi M.; P. Libby; E. Falk; S.W. Casscell S. Litovsky; J. Rumberger; J.J. Badimon; C. Stefanadis; P. Moreno; G. Pasterkam; Z. Fayad P.H. Stone; S. Waxman; P. Raggi; M. Madjid; A. Zarrabi; A. Burke C. Yuan and P.J. Fitzgerald, 2003. From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient. *J. Circulation* (108):1772
- Niemela S., T. Karttunen, T. Korhonen, E. Laara, R. Karttunen and M. Ikaheimo, 1996. Could *Helicobacter pylori* Infection Increase the Risk of Coronary Heart Disease by Modifying Serum Lipid Concentration? *Abstract Heart*. (75):573-575
- Nyberg, p. 2005. Matrix Degrading Proteases and Collagen-derived Angiogenesis Inhibitors in the Regulation of Carcinoma Cell Growth. faculty of Medicine, Institute of Dentistry, University of Oulu. OULU
- O'Connor S.; C. Taylor; L.A. Campbell; Epstein and P. Libby 2001. Potential Infectious Etiologies of Atherosclerosis: A Multifactorial Perspective. *CDC Upcoming Issue*, (7):5

- Opdenakker G, Van den Steen PE & Van Damme J (2001)
 Gelatinase B: a tuner and amplifier of immune functions.
Trends Immunol **22**(10): 571-579
- Ortega N. and Z. Werb 2002. New Functional Roles for Non-collagenous Domains of Basement Membrane Collagens.
Journal of Cells Science (115): 4201-4214
- Pasceri V.; G. Cammarota; L. Patti; G. Cuoca; A. Gasbarrini; R.L. Grillo; G. Fedeli; G. Gasbarrini and A. Maseri, 1998. Association of Virulent *Helicobacter pylori* Strains with Ischemic Heart Disease. *J. Circulation* (97):1675-1679
- Rajagapalan S.; X.P. Meng; S. Ramasamy; D.G. Harrison and Z.S. Galis 1996. Reactive Oxygen Species Produced by Macrophage Derived Foam Cells Regulate The Activity of Vascular Matrix Metalloproteinases in Vitro: Implication for Atherosclerosis Plaque Stability. *J. Clin. Invest.* **98** (11) : 2572-2579
- Ramos-DeSimone N.; E. Hahn-Dantona; J., Siple; H. Nagase; D.L. French and Quigley JP 1999. Activation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) via a converging plasmin/stromelysin-1 cascade enhances tumor cell invasion. *J Biol Chem* **274**(19): 13066-13076
- Romanelli R.; S. Mancini; C. Laschinger; C.M. Overall; J. Sodek and C.A.G. McCulloch 1999. Activation of Neutrophil Collagenase in Periodontitis. *Infection and Immunity.* **69** (5) :2319-2326
- Ross R. 1999. Atherosclerosis - *An Inflammatory Disease* (review). *New Eng J. Medicine.* (340) : 115 – 123
- Sargowo D. Peran endotel pada patogenesis penyakit kardiovaskular dan program pencegahannya. *Medika* 1999; 10 : 643-55
- Sargowo, D. 2006. Update in Unstable Angina: Mechanism of Plug Disruption to Symptoms and the Role of Low Marker Weight Heparin. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

- Selvinna, Rianto Setiabudy. 2005. Disfungsi Endotel dan Obat Antihipertensi *Bagian Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta*
- Shah P.K. and Z.S. Galis 2001. Matrix Metalloproteinase Hypothesis of Plaque Rupture. *J. Circulation.* (104) : 1878
- Shears and Hart, 1996. Gastrointestinal Bacteria. In G. Cook (ed) *manson's Tropical Diseases 20th ed.* WB Saunders, London. p. 824-6
- Shoenfeld Y. 2002. Infection in Atherosclerosis-impact on Autoimmune Rheumatic Disease. Publish by Center for Autoimmune Disease, Tel Aviv University, Israel
- Skirrow M.B, 1995. Campylobacter and Helicobacter, In D. Greenwood RCB., Slack and Peutherer: Medical Microbiology A Guide to Microbial Infections : Pathogenesis, Immunity, Laboratory Diagnosis and Control 14th ed., Churchill Livingstone. Edinburg. p. 35-9
- Soemohardjo S.; E.Y.W.; Z. Astuti Muttaqin; Sumarsidi; M. Maswan; M. Boedyono; U. Hanifah; Herman dan S.D.A. Soesbandoro, 2002. Mengenal Lebih Dekat *Helicobacter pylori* dan Penyakit gastroduodenal, edisi ketiga. PT. Tempo Scan Pacific dan Dr. Kanai Memorial Liver Foundation
- Sorsa T.; T. Salo; E. Koivunen; Tyynela J, Konttinen YT, Bergmann U, Tuuttila A, Niemi E, Teronen O, Heikkila P, Tschesche H, Leinonen J, Osman S & Stenman UH (1997) Activation of type IV procollagenases by human tumor-associated trypsin-2. *J Biol Chem* **272**(34): 21067-21074
- Sowinski KM. Endothelial function and dysfunction. Report of the American College of Clinical Pharmacy 2000 Annual Meeting; 2000 Nov 5-8, Los Angeles, California 5-8, Los Angeles, California
- Stelzel M.; G. Conrads; S. Pankuweit; B. Maisch; S. Vogt; R. Moosdorf and L. Floresde-Jacoby, 2002. Detection of *Porphyromonas gingivalis* DNA in aortic tissue by PCR. *J. Periodontol.* **73** (8):868-70

- Suerbaum S and P. Michetti, 2002. *Helicobacter pylori* infection. *N. Engl J. Med* **347** (15):1175
- Sulistia, Y., 2005. Deteksi Protein Spesifik *Helicobacter pylori* Penderita Infark Miokard Akut Yang Terkait Infeksi *Helicobacter pylori*. Universitas Brawijaya, Malang.
- Suliarni. 2003. Aktifitas Faktor VII Pada Sepsis. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
- Suzanne E.G,*et al.* 2002. *Cleavage of intact type I collagen by MMP-1. Biochemistry*
- Suzuki K.; J.J. Enghild; T. Morodomi; G. Salvesen and H. Nagase ,1990. Mechanisms of activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochemistry* **29**(44): 10261-10270
- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction. *Drugs* 2002; 62 : 265-84
- Task B.C.; M.J. Malone; E.H. Lum; H.G. Welgus; E.C. Crouch and S.D. Shapiro, 2001. Induction of Macrophage Matrix Metalloproteinase Biosynthesis by Surfactant Protein D. *J. Biol Chem.* **276** (41) :37846-37852
- Takenaka, R.; Kenji Y.; Kiyoshi A. Motowo M.; Ying Z.; Yoshihito F.; Song-Nan L.; Tatsuya T.; Hiroyuki O.; Yasushi S and Keiji O. 2004. *Helicobacter pylori* Heat-shock protein 60 Induces Inflammatory Responses Through The Toll-like Receptor-triggered Pathway in Cultured Human Gastric Epithelial Cells. *Microbiology J*, **150**, 3913-3922
- Triwikatmani, C. 2004. Reaktivitas Antibodi Sera Subyek Dispepsia Positif *Helicobacter pylori* Yogyakarta Dan Mataram Terhadap Antigen Fraksi Protein *Helicobacter pylori* Isolat mataram. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Tsang K.W. and S.K. Lam 1999. Extragastrroduodenal Conditions Associated with *Helicobacter pylor* Infection. *HKMJ* (50) :169-174

- Visse R & Nagase H (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* **92**(8): 827-839
- Warren J.R. and B.J. Marshall 1983. Unidentified curved bacilli in the stomach of patient with gastritis and Peptic ulceration. *J. Lancet* (I) :1311-5
- Weiss S.J., 1989. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* **320**(6): 365-376
- Winarsih, S. 2005. *Respons Immun Seluler dan Protektivitas In Vivo Protein Adhesin adh036 Salmonella typhi (Upaya memperoleh Kandidat Vaksin Demam Tifoid)*. Disertasi, Universitas Brawijaya. Malang
- Worthly, S.G.; J.I. Osende; G. Helft; J.J. Badimon; V. Fuster. 2001. Coronary Artery disease: Pathogenesis and Acute Coronary syndrome. *The Mount*

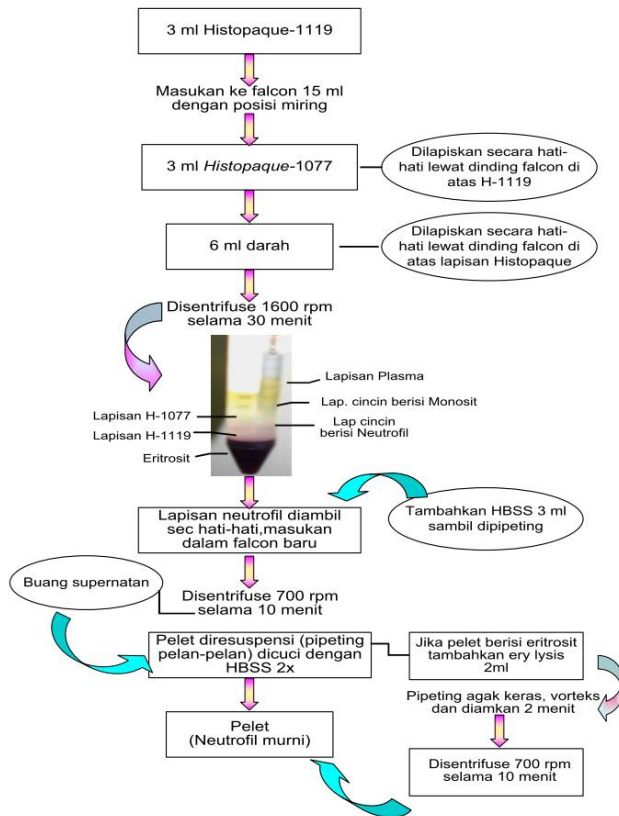
LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Isolasi Neutrofil

Bahan-bahan :

- 6 cc Darah
 - 3 ml Histopaque-1119
 - 3 ml *Histopaque-1077*
 - HBSS(Hank's Balance Salt Solution)
- Ery lysis (RBC Lysing Buffer) 1 Lt :
NH₄Cl 8.26 gr
KHCO₃ 1.0 gr
Tetrasodium EDTA 0.037 gr

Prosedur :

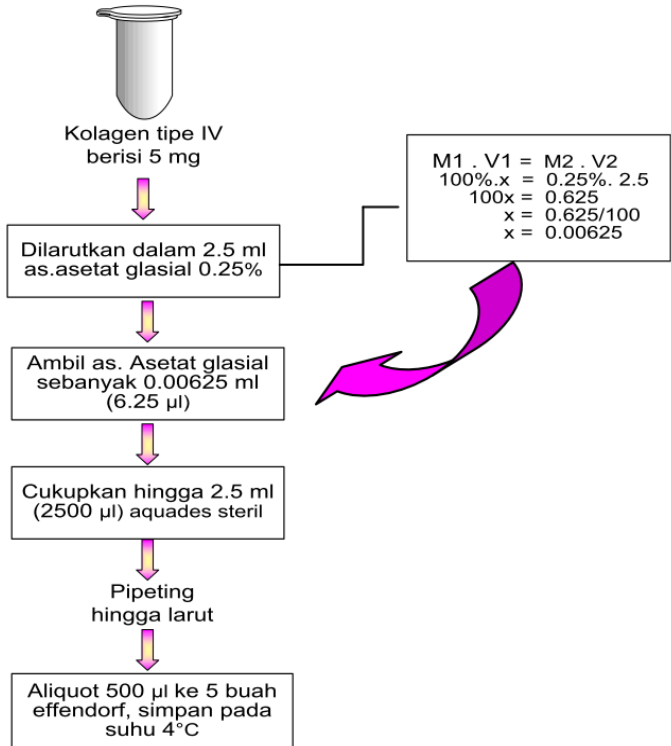


Lampiran 2. Prosedur Melarutkan Kolagen Tipe IV

Bahan-bahan :

- Kolagen tipe IV (C-5533, Sigma)
- Aquades Steril
- Asam asetat glasial 0.25%

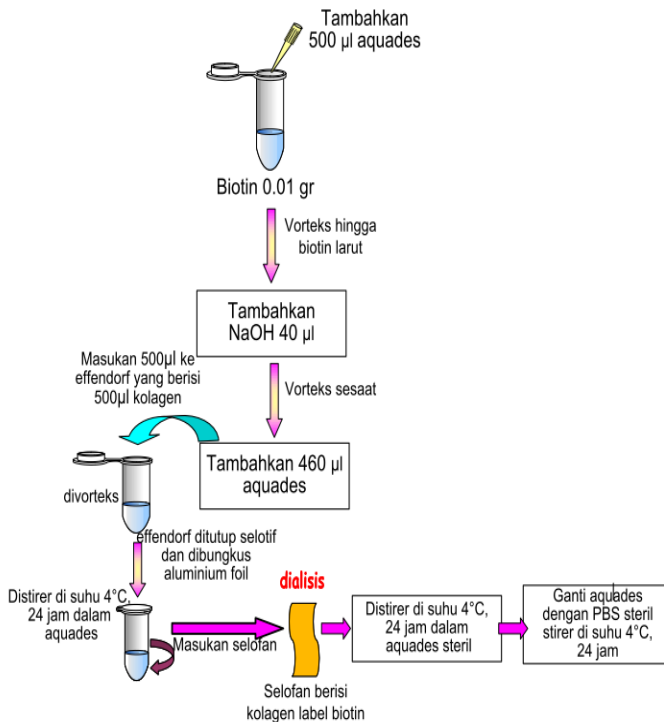
Prosedur : Pekerjaan dilakukan dalam Laminier



Lampiran 3. Prosedur Melabel Kolagen Tipe IV

Bahan-bahan :

- Kolagen tipe IV (C-5533, Sigma)
 - Aquades Steril 1000 μ l
 - 1 % d – Biotin (1 ml) = 0.01 gr Biotin
- 1 M NaOH : larutan 0.4 gr NaOH dalam 10 ml aquades



Lampiran 4. Pembuatan Gel Elektroforesis (SDS-PAGE 10%)

Bahan-bahan untuk Separating Gel	1 Slide	2 slide
• Acrylamide 30%	1.65 ml	3.3 ml
• 1.5 M Tris pH 8.8	1.25 ml	2.5 ml
• ddH ₂ O	2.05 ml	4.1 ml
• SDS 10%	50 µl	100 µl
• APS 10%	12.5 µl	25 µl
• Temed	10 µl	20 µl

Prosedur :

- Bahan-bahan dicampur sesuai urutan, sebelum Temed dimasukkan, larutan dihomogenkan terlebih dahulu selama 30 detik.
- Larutan dimasukkan pada alat separating gel hingga batas bawah stacking dan biarkan membentuk gel.

Bahan-bahan untuk Stacking Gel	1 Slide	2 slide
• Acrylamide 30%	0.412 ml	0.824ml
• 1.5 M Tris pH 6.8	0.625 ml	1.25 ml
• ddH ₂ O	1.425 ml	2.85 ml
• SDS 10%	25 µl	50 µl
• APS 10%	7.5 µl	15 µl
• Temed	5 µl	10 µl

Prosedur :

- Bahan-bahan dicampur sesuai urutan, sebelum Temed dimasukkan, larutan dihomogenkan selama 25 detik.
- Larutan dimasukkan di atas separating gel yang telah membentuk gel.

Lampiran 5. Pembuatan Running Buffer

Bahan-bahan :

- Glisin 0.192 M 14.2 gr/L
- Tris Base 0.025 M 3.03 gr/L
- SDS 0.1% 1.5 gr/L
- Aquades steril 1 liter

Prosedur :

- Glisin dan Tris Base dilarutkan dalam aquades steril 950 ml. Larutan dihomogenkan kemudian diukur pH 8.8.
- Larutan ditambahkan SDS dan dihomogenkan lagi
- Cukupkan hingga 1000 ml.

Lampiran 6. Pembuatan Reducing Sample Buffer (RSB)

Bahan-bahan :

- | | |
|-----------------------------|-------------|
| | 5 ml |
| • Tris-HCl 1 M pH 6.8 | 0.3 ml |
| • Gliserol 50% | 2.5 ml |
| • SDS 10% | 1 ml |
| • β - Mercaptoethanol | 0.25 ml |
| • Bromophenol Blue 1% | 0.5 ml |
| • Tambahkan aquades steril | 0.45 ml |

Prosedur :

- Semua bahan dilarutkan dan tambahkan aquades steril 0.45 ml hingga mencapai 5 ml.
- Larutan dihomogenkan dengan vorteks.

Lampiran 7. Pembuatan Staining Solution

Bahan-bahan :

- Commasie Brilliant Blue 0.1% 0.1 gr/100 ml
- Methanol 40% 40 ml/100 ml
- Asam asetat glasial 10% 10 ml/100 ml

Prosedur :

Bahan-bahan dilarutkan dalam aquades hingga 100 ml

Lampiran 8. Pembuatan Destaining Solution

Bahan-bahan :

- Metanol 20% 20 ml/100 ml
- Asam asetat glasial 10% 10 ml/100 ml

Prosedur :

Bahan-bahan dilarutkan dalam aquades hingga 100 ml

Lampiran 9. Pembuatan Transfer Buffer

Bahan-bahan :

- Tris Base 25 mM 0.303 gr/100 ml
- Glysine 192 mM 1.44 gr/100 ml
- Methanol 20% 20 ml/100 ml
- Aquades steril 100 ml

Prosedur :

Bahan-bahan dilarutkan dalam aquades hingga 100 ml

Lampiran 10. Pembuatan Tris Buffer Saline (TBS)

Bahan-bahan :

- Tris Base 50 mM 6.06 gr/1000 ml
- NaCl 0.2 M 11.68 gr/1000 ml
- Tambahkan aquades steril hingga 1000 ml atur pH 7.4

Lampiran 11. Pembuatan TBS-Skim 5%

Bahan-bahan :

- Larutan TBS 50 ml
- Skim 2.5 gr

Prosedur :

Larutkan TBS sebanyak 50 ml dan skim sebanyak 2.5 gr dan dihomogenkan.

Lampiran 12. Pembuatan TBS-Tween 0.05%

Bahan-bahan :	50 ml
• Larutan TBS	50 ml
• Tween 0.05%	25 µl

Prosedur :

Masukan Tween sebanyak 25 µl dalam erlenmeyer yang telah berisi TBS sebanyak 50 ml dan dihomogenkan.

Lampiran 13. Pembuatan Larutan Ponceau

Bahan-bahan :	
• TCA	15 gr
• Aquades	25 ml
• Ponceau	1 gr

Prosedur :

TCA sebanyak 15 gram ditimbang kemudian dilarutkan dalam 25 ml aquades, selanjutnya ditambahkan 1 gram Ponceau.

Lampiran 14. Pembuatan Zymography Renaturing Buffer (ZRB)

Bahan-bahan :	
• Triton X-100 ($C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$ 2.5%)	1.25 ml
• Aquades steril	50 ml

Prosedur :

Triton X-100 sebanyak 1.25 ml dicampur dalam 50 ml aquades.

Lampiran 15. Pembuatan Zymography Developing Buffer (ZDB)

Bahan-bahan :	
• Tris HCl	0.788 gr/100 ml
• NaCl	1.1688 gr/100 ml
• $CaCl_2$	0.0736 gr/100ml
• Brij 35 0.2%	0.2 gr/100 ml
• Aquades steril	100 ml

Prosedur :

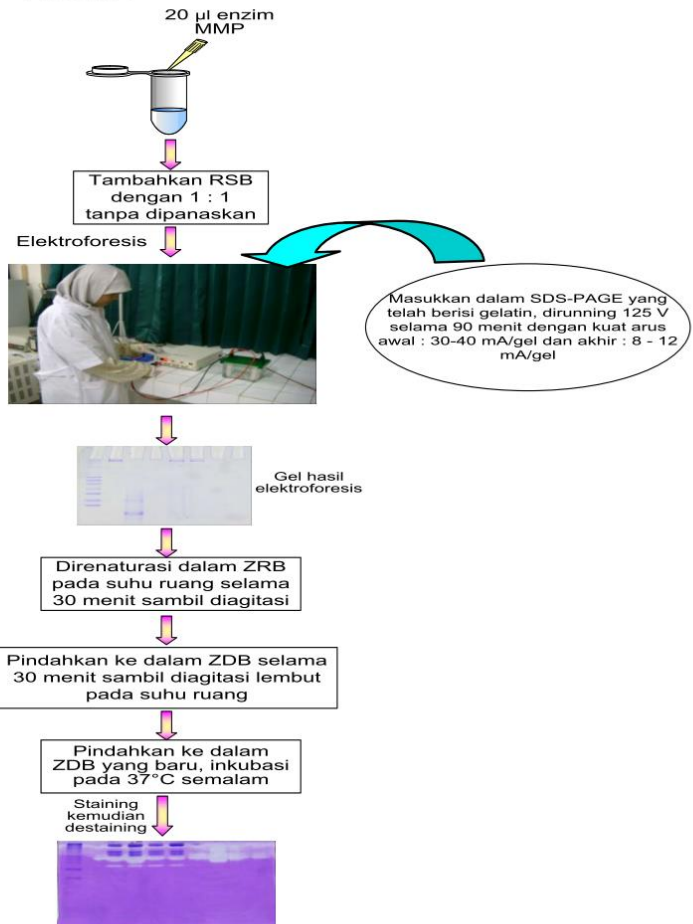
Bahan-bahan dilarutkan dalam aquades 100 ml dan dihomogenkan

Lampiran 16. Prosedur Uji Aktivitas Enzim MMP

Bahan-bahan :

- Enzim MMP 20 μ l
- RSB 20 μ l
- Gel Gelatin-SDS PAGE 7.5%
- Stacking gel 4%
- Zymography Renaturing Buffer 50 ml
- Zymography Developing Buffer 100 ml

Prosedur :

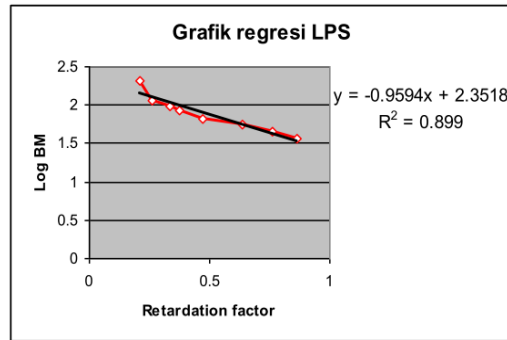


Lampiran 17. Tahapan dan Larutan untuk Pewarnaan Perak Nitrat (Silver Staining)

NO	TAHAPAN	LARUTAN	VOLUME	LAMA
1	Fiksasi	Ethanol Asam asetat glasial Aquades s/d	100 ml 25 ml 250 ml	30 menit
2	Sensitizing	Etanol Sodium asetat Sodium thiosulphate (5% w/v) Glutaraldehyde (25% w/v) Aquades s/d	75 ml 17 gr 10 ml 1.25 ml 250 ml	30 menit
3	Pencucian	Aquades		3 x 5 menit
4	Reaksi Perak	larutan Silver nitrate(2.5% w/v) Aquades Tambahkan Formaldehyde (37% w/v)	25 ml 250 ml 0.1 ml	20 menit
5	Pencucian	Aquades		2 x 1 menit
6	Developing	Sodium karbonat Aquades Tambahkan Formaldehyde (37% w/v)	6.25 gr 250 ml 0.05 ml	2 - 5 menit
7	Stopping	EDTA. Na ₂ .2H ₂ O Aquades s/d	3.65 gr 250 ml	10 menit
8	Pencucian	Aquades		3 x 5 menit
9	Tahap akhir	Etanol Gliserol (87% w/v) Aquades s/d	75 ml 11.5 ml 250 ml	2 x30 menit

Lampiran 18. Perhitungan Berat Molekul Lipopolisakarida *Helicobacter pylori*

No	Protein Marker	BM (kDa)	Log BM (Y)	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)
1	Myosin	205	2.31175386	1.5	7.2	0.208333
2	β -Galactosidase	116	2.06445799	1.9	7.2	0.263889
3	Phosphorylase b Fructose-6-phosphate	97	1.98677173	2.4	7.2	0.333333
4	Kinase	84	1.92427929	2.7	7.2	0.375
5	Albumin	66	1.81954394	3.4	7.2	0.472222
6	Glutamic Dehydrogenase	55	1.74036269	4.6	7.2	0.638889
7	Ovalbumin	45	1.65321251	5.5	7.2	0.763889
8	Glyceraldehyde	36	1.5563025	6.2	7.2	0.861111

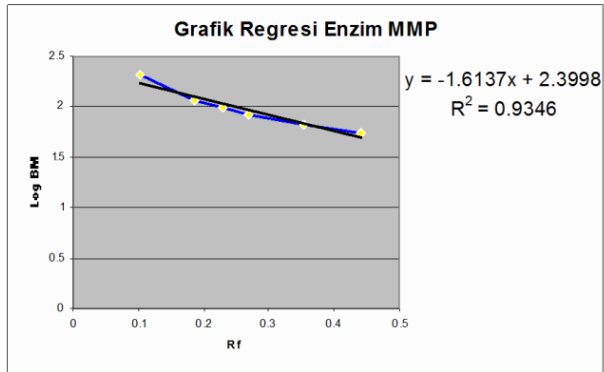


$Y = -0.9594x + 2.3518$

Band LPS	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)	Log BM (Y)	BM (kDa)
1.	4.12	7.2	0.572222222	1.80281	63.5053041

Lampiran 19. Perhitungan Berat Molekul Enzim MMP

No	Protein Marker	BM (kDa)	Log BM (Y)	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)
1	Myosin	205	2.311753861	0.6	5.9	0.101694915
2	β -Galactosidase	116	2.064457989	1.1	5.9	0.186440678
3	Phosphorylase b Fructose-6-phosphate	97	1.986771734	1.35	5.9	0.228813559
4	Kinase	84	1.924279286	1.59	5.9	0.269491525
5	Albumin	66	1.819543936	2.09	5.9	0.354237288
6	Dehydrogenase	55	1.740362689	2.6	5.9	0.440677966

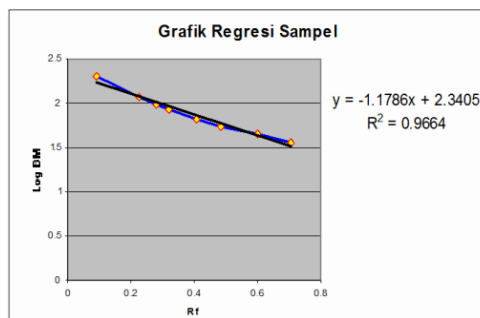


$$Y = -1.6137x + 2.3998$$

Band Enzim	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)	Log BM (Y)	BM (kDa)
1	0.32	5.9	0.054237288	2.312277288	205.2472
2	0.99	5.9	0.16779661	2.064188644	115.9281
3	0.6	5.9	0.101694915	2.176977966	150.3066
4	0.75	5.9	0.127118644	2.133597458	136.0183
5	0.9	5.9	0.152542373	2.090216949	123.0883
6	1.35	5.9	0.228813559	1.960075424	91.21692
7	1.36	5.9	0.230508475	1.95718339	90.61151
8	1.5	5.9	0.254237288	1.916694915	82.54579
9	1.7	5.9	0.288135593	1.858854237	72.25273

Lampiran 20. Perhitungan Berat Molekul Kolagen tipe IV Murni

No	Protein Marker	BM (kDa)	Log BM (Y)	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)
1	Myosin	205	2.311753861	0.65	7.15	0.090909091
2	β -Galactosidase	116	2.064457989	1.6	7.15	0.223776224
3	Phosphorylase b Fructose-6-phosphate	97	1.986771734	2	7.15	0.27972028
4	Kinase	84	1.924279286	2.3	7.15	0.321678322
5	Albumin	66	1.819543936	2.9	7.15	0.405594406
6	Glutamic Dehydrogenase	55	1.740362689	3.45	7.15	0.482517483
7	Ovalbumin	45	1.653212514	4.3	7.15	0.601398601
8	Glyceraldehyde	36	1.556302501	5.05	7.15	0.706293706



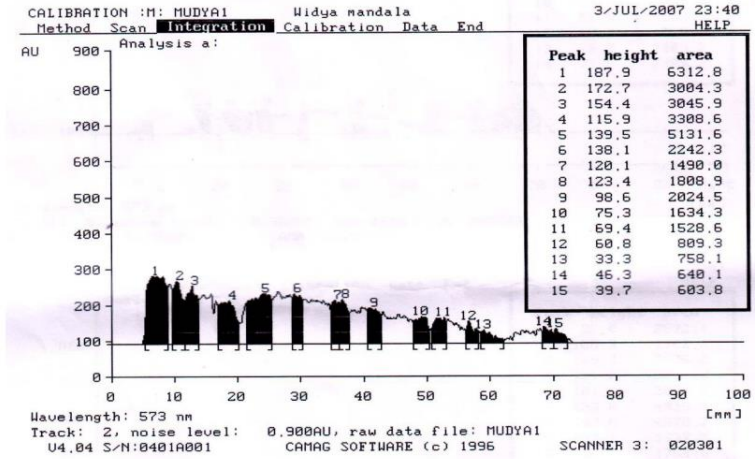
$$Y = -1.1786x + 2.3405$$

Band Kolagen	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)	Log BM (Y)	BM (kDa)
1	0.3	7.15	0.041958042	2.291048252	195.4556602
2	0.4	7.15	0.055944056	2.274564336	188.1760446
3	0.5	7.15	0.06993007	2.25808042	181.1675535
4	0.65	7.15	0.090909091	2.233354545	171.1411892
5	0.7	7.15	0.097902098	2.225112587	167.9239291
6	0.9	7.15	0.125874126	2.192144755	155.6484339
7	1.75	7.15	0.244755245	2.052031469	112.7279135

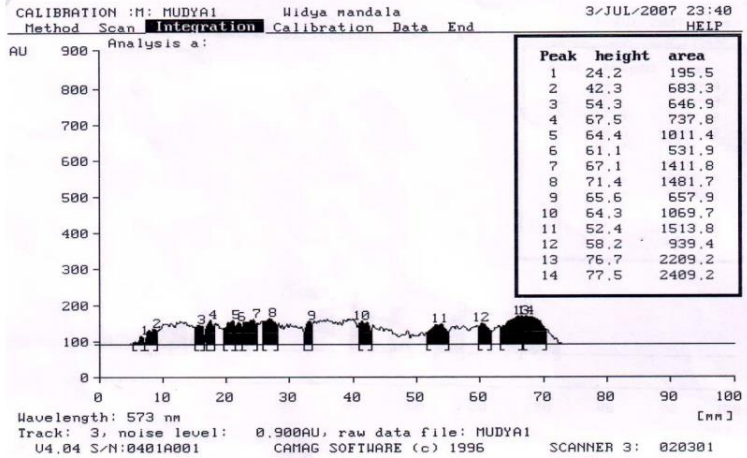
Lampiran 21. BM Hasil Degradasi Kolagen Tipe IV ($Y = -1.1786x + 2.3405$)

Sampel	Band protein	a (band) (Cm)	b (tracking) (Cm)	Rf (a/b) (X)	Log BM (Y)	BM (kDa)
S1	1	3.19	7.15	0.446153846	1.814663077	65.26240543
	2	3.4	7.15	0.475524476	1.780046853	60.26245957
	3	3.89	7.15	0.544055944	1.699275664	50.03520279
	4	4.02	7.15	0.562237762	1.677846573	47.62627041
	5	4.24	7.15	0.593006993	1.641581958	43.81087812
	6	4.7	7.15	0.657342657	1.565755944	36.79221582
	7	5.9	7.15	0.825174825	1.367948951	23.33183793
	8	6.25	7.15	0.874125874	1.310255245	20.42938273
S2 - S3	1	2	7.15	0.27972028	2.010821678	102.5230879
	2	2.69	7.15	0.376223776	1.897082657	78.90102722
	3	3.19	7.15	0.446153846	1.814663077	65.26240543
	4	3.4	7.15	0.475524476	1.780046853	60.26245957
	5	3.89	7.15	0.544055944	1.699275664	50.03520279
	6	4.15	7.15	0.58041958	1.656417483	45.33331547
	7	4.24	7.15	0.593006993	1.641581958	43.81087812
	8	4.7	7.15	0.657342657	1.565755944	36.79221582
	9	5.9	7.15	0.825174825	1.367948951	23.33183793
	10	6.25	7.15	0.874125874	1.310255245	20.42938273
S4	1	0.49	7.15	0.068531469	2.259728811	181.8564928
	2	0.55	7.15	0.076923077	2.249838462	177.7618091
	3	0.7	7.15	0.097902098	2.225112587	167.9239291
	4	0.9	7.15	0.125874126	2.192144755	155.6484339
	5	1.2	7.15	0.167832168	2.142693007	138.8970452
	6	1.7	7.15	0.237762238	2.060273427	114.8876713
	7	2	7.15	0.27972028	2.010821678	102.5230879
	8	2.4	7.15	0.335664336	1.944886014	88.08176611
	9	2.7	7.15	0.377622378	1.895434266	78.6021211
	10	3.19	7.15	0.446153846	1.814663077	65.26240543
	11	3.3	7.15	0.461538462	1.796530769	62.59372092
	12	3.6	7.15	0.503496503	1.747079021	55.8571819
	13	3.85	7.15	0.538461538	1.705869231	50.80064551
	14	4.3	7.15	0.601398601	1.631691608	42.8244317
S5 - S8	1	0.9	7.15	0.125874126	2.192144755	155.6484339
	2	1.3	7.15	0.181818182	2.126209091	133.7239175
	3	1.5	7.15	0.20979021	2.093241259	123.9484952
	4	1.75	7.15	0.244755245	2.052031469	112.7279135
	5	2.1	7.15	0.293706294	1.994337762	98.70468395
	6	2.5	7.15	0.34965035	1.928402098	84.80121953
	7	3.1	7.15	0.433566434	1.829498601	67.53028792
	8	3.4	7.15	0.475524476	1.780046853	60.26245957
	9	3.65	7.15	0.51048951	1.738837063	54.80713029
	10	3.85	7.15	0.538461538	1.705869231	50.80064551
	11	4.3	7.15	0.601398601	1.631691608	42.8244317
	12	4.49	7.15	0.627972028	1.600372168	39.8448474

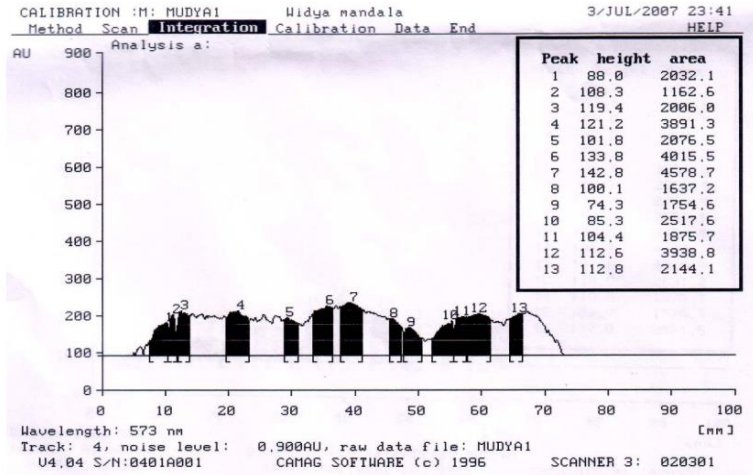
Lampiran 22. Densitas Fragmen Hasil Degradasi Kolagen Tipe IV



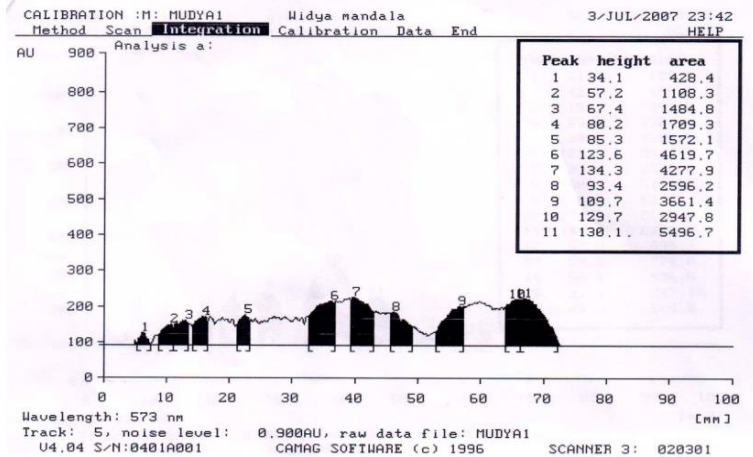
22.1 Fragmen Sampel S1



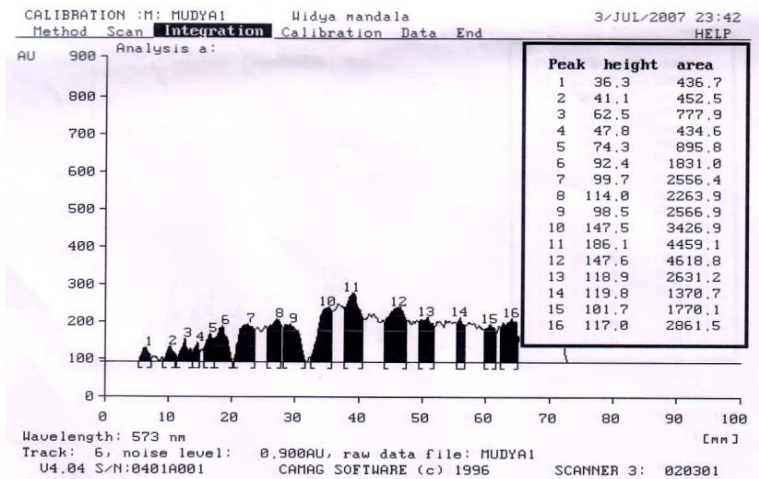
22.2 Fragmen Sampel S2



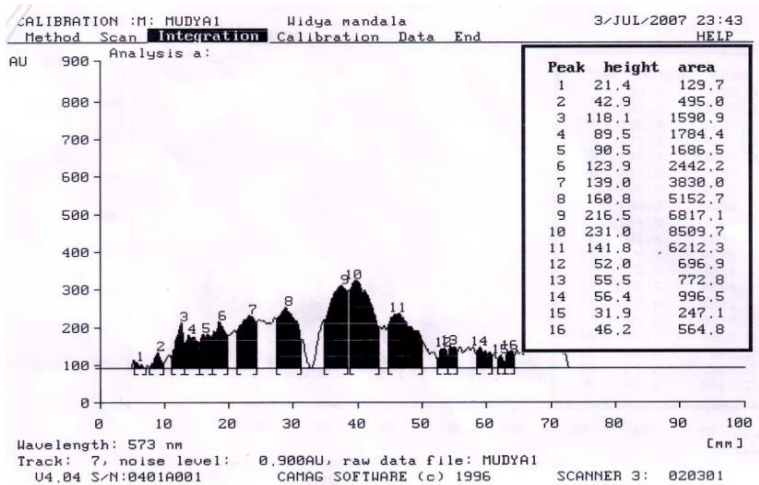
22.3 Fragmen Sampel S3



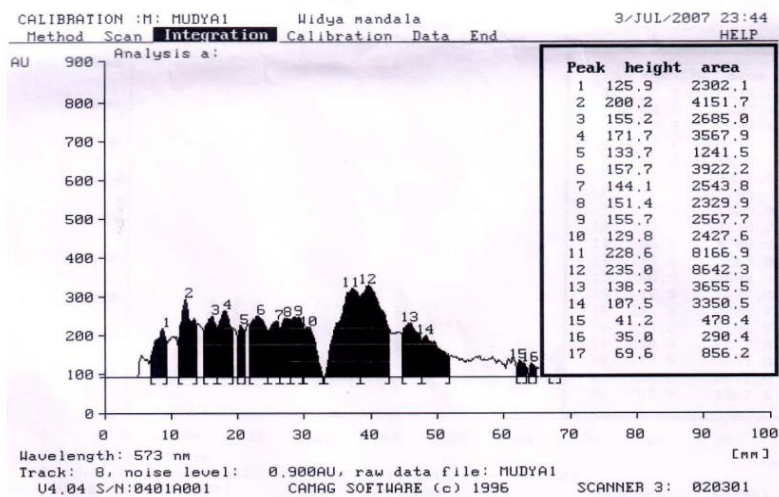
22.4 Fragmen Sampel S4



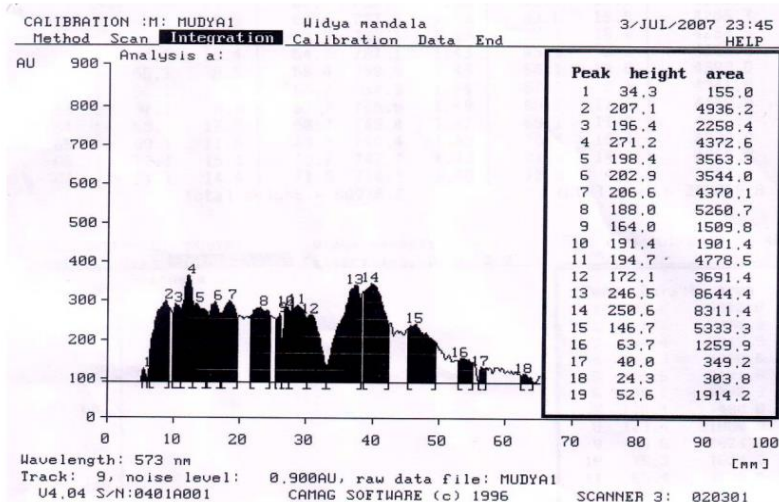
22.5 Fragmen Sampel S5



22.6 Fragmen Sampel S6



22.7 Fragmen Sampel S7



GLOSARIUM

A

- Adhesi Trombosit:** Perlekatan trombosit ke permukaan non-trombosit, dimana trombosit menempel atau melekat terutama pada serat kolagen di subendotelium.
- Adhesin (ligand bakteri):** Makromolekul yang merupakan komponen dari permukaan sel bakteri yang berinteraksi dengan reseptor.
- Afterload atau beban akhir:** Tahanan yang harus dihadapi saat darah dikeluarkan dari ventrikel, diistilah juga sebagai *Systemic Vascular Resistance*.
- Agonis:** Penggerak utama atau otot yang secara langsung bertanggung jawab atas perubahan posisi suatu bagian.
- Aggregasi:** Keadaan dimana darah sangat cepat menggumpal sehingga menghambat aliran darah.
- Angina:** Nyeri dada atau rasa tidak nyaman yang biasanya disebabkan oleh kurangnya aliran darah ke jantung.
- Aterosklerosis:** Salah satu penyakit inflamasi (radang) pada pembuluh darah manusia yang disebabkan penumpukan plak ateromatous.
- Aterogenesis:** Proses peradangan yang terjadi pada dinding pembuluh darah yang terjadi dengan beberapa fase dan tahap.
- Antibodi:** Glikoprotein dengan struktur tertentu yang disekresikan oleh sel B yang telah teraktivasi menjadi sel plasma, sebagai respon dari antigen tertentu dan reaktif terhadap antigen tersebut.
- Antigen:** Sebuah zat yang merangsang respon imun, terutama dalam menghasilkan antibodi. Antigen biasanya berupa protein atau polisakarida tetapi dapat juga berupa molekul lainnya.

Apoptosis: Penyebab terprogram alami dan tertarget kematian sel.

B

Band elektroforesis : Pita yang menunjukkan ukuran berbeda tiap molekul yang dapat dideteksi.

Backbone: Rantai (jalur) utama

C

CagA: Salah satu produk *Helicobacter pylori* yang dihubungkan dengan pathogenesis dan menyebabkan inflamasi mukosa lambung yang lebih parah.

CRP: Adalah tes darah yang mengukur jumlah protein (yang disebut protein C-reaktif) dalam darah. Protein C-reaktif mengukur keseluruhan kadar peradangan dalam tubuh. Kadar CRP yang tinggi disebabkan oleh infeksi dan berbagai penyakit jangka panjang.

Curah Jantung (*Cardiac Output*): Jumlah darah yang dipompakan oleh ventrikel ke dalam sirkulasi pulmonal dan sirkulasi sistemik dalam waktu 1 menit (frekuensi jantung).

D

Degradasi kolagen: Proses berkurangnya kolagen

Dislipidemia: Kondisi yang terjadi ketika kadar lipid (lemak) di dalam darah terlalu tinggi atau terlalu rendah.

Distal: Jauh dari poros

E

Echo: Suatu kondisi dimana terjadinya aktivasi sel-sel yang berhubungan dengan atheroma yang disebabkan oleh produk bakteri yang akan menghasilkan sitokin sebagai respon terhadap infeksi ekstraseluler.

Ekspresi gen: Rangkaian proses penggunaan informasi dari suatu gen untuk sintesis produk gen fungsional. Produk-produk tersebut dapat berupa protein, juga gen penyandi non-protein seperti transfer RNA atau gen RNA inti kecil yang keduanya merupakan produk RNA fungsional.

Elektrokardiogram (EKG): Grafik yang dibuat oleh sebuah elektrokardiograf yang merekam aktivitas kelistrikan jantung dalam waktu tertentu.

Elektroforesis: Merupakan proses migrasi molekul bermuatan dalam medium yang dialiri arus listrik.

end-diastolic volume: Lihat *preload*

Endotelium: Merupakan sel yang melapisi permukaan dalam pembuluh darah dan pembuluh limfa.

Endotoksin: Toksin pada bakteri gram negatif berupa lipopolisakarida (LPS) pada membran luar dari dinding sel yang dalam keadaan tertentu bersifat toksik pada inang tertentu.

F

Fagosit: Pengolongan dari sel darah putih yang berperan dalam sistem kekebalan dengan cara fagositosis atau menelan *pathogen*.

Fibrous cap: Bagian superfisial yang terdiri dari sel otot polos dan dense kolagen, dan pada bagian dalam merupakan daerah nekrotik yang berisi massa lipid yang mengalami disorganisasi, debris yang terbentuk dari sel yang mati, *foam cell*, fibrin dan thrombus serta plasma protein yang lain.

Fibrin: Salah satu agen pembeku darah yang diproduksi dalam darah sebagai produk akhir koagulasi.

Fibrinolisis: Kondisi pecahnya fibrin.

Flagela (tunggal flagellum): Alat gerak (motile organ) berbentuk cambuk pada sejumlah organism bersel satu.

fraksi ejeksi: Perkiraan jumlah darah yang dipompa selama setiap kontraksi dari ventrikel

G

Gelatinase B: Disebut juga MMP-9 merupakan enzim dengan aktivitas proteolitik pada gelatin tipe I dan V, dan kolagen tipe IV dan V.

glikosaminoglikan: Polisakarida yang tidak bercabang panjang, melainkan terdiri dari unit disakarida berulang,

H

Helicobacter pylori: Bakteri gram negative yang mempunyai endotoksin berupa lipopolisakarida (LPS).

Hemoglobin: Metaloprotein didalam sel darah merah yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru – paru keseluruhan tubuh.

Hipertrofi: Peningkatan volume organ atau jaringan akibat pembesaran komponen sel.

Hiperemia: Terjadi saat pembuluh darah di daerah tertentu mengalami penyempitan sehingga memicu kemerahan pada kulit.

Hemodinamik: Dinamika dari aliran darah.

Heat-shock protein 60: Merupakan protein yang dihasilkan oleh *Helicobacter pylori* yang mempunyai berat molekul 60 kDa dan dapat menginduksi respon inflamasi melalui jalur *Toll-like reseptor*.

I

Infark Miokard Akut: Istilah medis untuk serangan jantung, yang terjadi saat aliran darah ke jantung atau pada arteri koroner tersumbat sehingga dapat menyebabkan kerusakan jaringan.

Inflamasi: Peradangan yaitu mekanisme tubuh dalam melindungi diri dari infeksi mikroorganisme asing, seperti virus, bakteri dan jamur.

Integrin: reseptor di permukaan sel berasal dari keluarga protein

Iskemia: Oklusi pembuluh darah karena adanya trombus yang menyumbat pembuluh darah.

K

Kolagen: Salah satu protein yang menyusun tubuh manusia. Keberadaannya kurang lebih mencapai 30% dari seluruh protein yang terdapat di tubuh.

Kolagen tipe-IV: Komponen utama dari membran basal vascular yang mudah rusak oleh aktivitas proteolitik enzim MMP.

Koagulasi: Pembekuan darah

Kreatinin: Tes biokimia yang dilakukan untuk mendiagnosis kerusakan hati.

Kreatin fosfokinase (CPK): Molekul yang banyak ditemukan dalam otot jantung, otot rangka, dan otak. Konsentrasi serum CPK akan meningkat ketika otot-otot pada sel saraf terluka.

L

Laminin: Glikoprotein yang terdiri dari setidaknya dua rantai polipeptida yang saling mengikat dengan ikatan disulfida. Laminin banyak ditemukan pada membran dasar dan berfungsi sebagai sarana migrasi bagi berbagai macam jenis sel, seperti migrasi sel yang membentuk sinapsis.

Leukosit: Sel darah putih yang membentuk komponen darah yang berfungsi untuk membantu tubuh melawan berbagai penyakit infeksi sebagai bagian dari sistem kekebalan tubuh.

Lipopolisakarida: Molekul besar berupa kompleks antara senyawa lipid dan polisakarida dengan ikatan kovalen. Senyawa LPS banyak ditemukan pada lapisan membrane sel sebelah luar bakteri gram negative dan bersifat endotoksin yang memicu aktivasi sistem kekebalan.

Ligan: Zat yang membentuk kompleks kimia atau molekul sederhana yang dalam senyawa kompleks bertindak

sebagai donor pasangan elektron. Ligan akan memberikan pasangan elektronnya kepada atom pusat yang menyediakan orbital kosong.

M

Makrofag: Sel berinti tunggal yang berasal dari diferensiasi monosit.

Matrix Metalloprotease: Merupakan enzim endopeptidase yang mengandung seng tergantung kalsium yang mampu mendegradasi semua jenis protein matriks ekstraseluler.

MMP-9: Merupakan kelompok Matrix Metalloprotease yang dikenal sebagai gelatinase B yang mempunyai berat molekul 90kDa dan disintesis oleh sel-sel leukosit.

Monosit: Kelompok darah putih yang menjadi bagian dari sistem kekebalan

Marker biokemis: Penanda atau marka biokimia.

Miokardium: Sel-sel otot yang terdapat di jantung dan membentuk lapisan tebal di antara lapis epikardium luar dan lapis epikardium dalam.

N

Natural killer: Turunan limfosit yang mempunyai andil sangat besar dalam sistem imun bawaan (*innate*). Jumlah *natural killer* adalah 10-15% dari semua limfosit perifer darah.

Nekrosis: Bentuk cedera sel yang mengakibatkan kematian prematur sel-sel pada jaringan hidup dengan autolisis.

Neovaskular: Pertumbuhan jaringan darah yang baru dan tidak normal (abnormal).

NSTEMI: Oklusi total dari arteri koroner yang menyebabkan area infark yang lebih luas meliputi seluruh ketebalan miokardium yang di tandai dengan adanya elevasi segmen ST pada EKG.

Normotensi: Tekanan darah normal.

Neutrophil activating protein (NAP): Merupakan protein permukaan *Helicobacter pylori* yang berkontribusi untuk aktivasi fagosit dan dapat berfungsi sebagai adhesi yang memediasi pengikatan ke mukus.

O

Obesitas abdominal: Obesitas dengan kelebihan lemak berada di abdomen.

P

Polimorfonuklear: Sel darah putih dengan multilobi inti dan sitoplasmik butiran. Ada tiga jenis polimorfonuklear leukosit yaitu neutrofil dengan butiran yang noda dengan pewarna netral, eosinofil dengan butiran yang noda dengan eosin dan basofil dengan butiran yang noda dengan pewarna dasar.

preload atau beban awal: dimana otot jantung diregangkan sebelum ventrikel kiri berkontraksi disebut juga *end-diastolic volume*.

Prognosis: Peramalan dari kemungkinan dan akhir suatu penyakit, sebuah perkiraan kemungkinan hasil akhir gangguan atau penyakit, baik dengan atau tanpa pengobatan.

Proteolitik: Disebut juga proteinase atau protease merupakan kelompok enzim yang mampu memecah rantai panjang molekul protein menjadi molekul-molekul yang lebih kecil (peptide) dan bahkan menjadi komponen-komponen terkecil penyusun protein yang disebut asam amino.

R

Reactive Oxygen Species (ROS): Radikal bebas yang berupa oksigen dan turunannya yang sangat reaktif. ROS ini merupakan senyawa organik yang memiliki gugus fungsional dengan atom oksigen yang bermuatan electron lebih. Tingginya rasio ROS disebut stress oksidatif.

Reseptor: Molekul protein yang menerima sinyal kimia dari luar sel. Ketika sinyal kimia semacam itu berikatan dengan reseptor, mereka menyebabkan beberapa bentuk respons seluler/jaringan, misalnya perubahan aktivitas listrik sel.

S

Sepsis: Kondisi medis dimana terjadi peradangan di seluruh tubuh yang disebabkan oleh infeksi.

Sinkop: pingsan tanpa adanya penyebab lain.

Sitokin: Merupakan protein-protein mediator dan pengatur immunitas, inflamasi dan hematopoiesis yang disekresikan oleh sel-sel tertentu dari sistem kekebalan tubuh yang membawa sinyal antara sel-sel lokal, dan dengan demikian memiliki efek pada sel-sel lain.

STEMI: Oklusi parsial dari arteri koroner akibat thrombus dari plak aterosklerosis, tidak disertai adanya elevasi segmen ST pada EKG.

Stenosis: Penyempitan.

Systemic Vascular Resistance: Lihat *afterload*.

T

Trombus: Gumpalan darah yang terbentuk pada dinding pembuluh darah.

Trombosit: Fragmen kecil di dalam darah yang tidak memiliki warna dan sering disebut juga sebagai keeping darah.

Troponin: Molekul protein yang dilepaskan ke aliran darah ketika otot jantung rusak karena serangan jantung atau penyakit jantung serius.

Toll-like receptor: Salah satu reseptor yang berperan penting dalam respon imun bawaan (innate) yang berada di permukaan sel-sel imun seperti limfosit, makrofag, neutrofil dan lain-lain. Reseptor ini mengenali bagian-bagian spesifik mikroba seperti LPS, flagella, DNA virus.

Tissue factor: Dikenal juga dengan istilah trombokinase (tromboplastin) adalah sebuah protein yang terdapat pada jaringan sub-endotelial, keeping darah dan sel darah putih, yang penting untuk reaksi kimiawi yang mengubah zimogen berupa pro-trombin menjadi thrombin.

Tumor nekrosis factor (TNF): Sitokin yang banyak disekresikan oleh makrofag dan memiliki banyak peran metabolisme seperti proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, metabolisme lipid dan koagulasi.

V

VacA: Toksin utama yang disekresi oleh *Helicobacter pylori* dan dihasilkan kira-kira 50% strain bakteri tersebut.

Volume Stroke: Pengukuran berapa banyak darah jantung yang dipompa keluar dari ventrikel pada setiap denyut.

Z

Zimogen: Prekursor enzim yang dalam tubuh bersifat tidak aktif. Pengaktifan zimogen hanya dilakukan oleh tubuh apabila diperlukan dengan menggunakan enzim proteolitik yang memecah ikatan protein pro-enzim tersebut. Beberapa zimogen antara lain pepsinogen, tripsinogen, kimotripsinogen, karbopeptidase.