

HISTOPATOLOGI AORTA TORASIKA
***Rattus novergicus* STRAIN WISTAR JANTAN**
SETELAH 8 MINGGU PEMBERIAN DIET ATEROGENIK

Fatya Welinsa
Enikarmila Asni
Zulkifli Malik
Ismawati
fatyawelinsa@gmail.com

ABSTRACT

*Atherosclerosis could be induced in animal model (*Rattus novergicus*) by feeding atherogenic diet consist of standart feed, cholesterol 2 % from yolk, 5 % goat fat, 0,2% cholic acid and induction with vitamin D3. The goal of this research was to analyze histopathological of thoracic aorta on male *Rattus novergicus* strain wistar after fed atherogenic diet for 8 weeks. This research was an experimental laboratory research with post test only with control design. Twelve male rats were segregated into two groups (n=6) labelled as control fed standart and atherogenic fed group. After 8 weeks thoracic aorta was taken and histological slides were made and colored with hematoxylin eosin and then measured with atherosclerosis score. The result showed that in atherogenic group there are macrophage, foam cell, and intracellular lipid accumulation with 100% percentage, extracellular lipid accumulation 33,33% (for a little extracellular lipid) and 66,67 (a lot of extracellular lipid) while control group there are macrophage, foam cell, and intracellular lipid accumulation with 33,33% percentage. The statistical test result show there is significant difference between control group and atherogenic group ($p=0,003$). As conclusion, there is significant difference between control group and atherogenic group.*

Keywords : *Atherosclerosis, atherogenic diet, thoracic aorta.*

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler saat ini merupakan faktor utama penyebab kematian terutama di negara maju dan diprediksi juga akan menjadi masalah yang kompleks di negara negara berkembang.¹ *World health organization* (WHO) memperkirakan bahwa setiap tahun 17,3 juta orang meninggal karena penyakit kardiovaskular dan salah

satu penyebab utamanya adalah aterosklerosis.^{2,3} Aterosklerosis adalah suatu keadaan terbentuknya plak di dinding arteri, plak terdiri dari sel otot polos, jaringan ikat, lemak yang tertimbun di intima dinding arteri.⁴

Aterosklerosis terutama mengenai arteri elastik dan paling sering dijumpai pada aorta abdominal, aorta torakalis/torasika, arteri poplitea, arteri carotis interna,

dan arteri koronaria.⁵ Penelitian mengenai aterosklerosis telah banyak dilakukan namun sebagian besar meneliti mengenai penyebaran plak aterosklerotik pada aorta abdominalis dan masih sedikit yang membahas mengenai pembentukan aterosklerosis pada aorta torasika.⁶

Aterosklerosis dapat menyebabkan timbulnya berbagai komplikasi, salah satunya dapat menyebabkan aneurisma aorta torasika yang apabila semakin besar akan menyebabkan ruptur pembuluh darah.⁷ Kejadian aneurisma aorta merupakan penyebab kematian ke-18 paling sering di dunia karena insidensinya yang terus meningkat.⁸ Kasus aneurisma sering tidak diketahui sampai terjadinya ruptur dan angka mortalitas dari ruptur yang disebabkan aneurisma aorta mencapai 90%. Namun, hal ini dapat diatasi dengan mencegah terjadinya penyakit yang mendasarinya yaitu aterosklerosis.⁹

Faktor risiko utama terbentuknya aterosklerosis adalah hiperkolesterolemia, terutama fraksi *low density lipoprotein* (LDL). LDL teroksidasi akan difagositik oleh makrofag sehingga terbentuk sel busa (*foam cell*), makrofag mengeluarkan faktor pertumbuhan yang menyebabkan proliferasi sel otot polos dan pengendapan matriks ekstrasel oleh sel otot polos di intima yang berperan menyebabkan pertumbuhan progresif lesi aterosklerotik.¹⁰ Konsumsi diet tinggi kolesterol dapat meningkatkan kolesterol darah sehingga beberapa peneliti menerapkan konsep tersebut untuk mendapatkan hewan coba yang hiperkolesterolemia, seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Murwani *et al* yang memberikan diet tinggi kolesterol pada tikus putih

strain wistar dan didapatkan kadar kolesterol yang tinggi dalam darah tikus tersebut.^{3,11}

Kolesterol terdapat dalam makanan yang berasal dari hewan, misalnya kuning telur dan lemak hewani. Kuning telur mengandung kolesterol tinggi dan dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler.¹² Begitu juga dengan lemak kambing, sehingga kombinasi keduanya dapat meningkatkan kadar kolesterol dan trigliserida darah.¹³

Pada dasarnya, tikus dan mencit relatif resisten terhadap aterosklerosis karena memiliki kadar *high density lipoprotein* (HDL) tinggi dan proporsi LDL yang rendah di sirkulasi, untuk itu diperlukan penambahan asam kolat ke dalam diet aterogenik karena pemberian diet aterogenik tanpa asam kolat selama 8 minggu pada tikus tidak dapat meningkatkan kadar kolesterol dan terbentuknya sel busa yang bermakna. Penambahan asam kolat membantu absorpsi kolesterol dan menekan konversi kolesterol menjadi asam empedu.¹⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Srivastava *et al* menunjukkan bahwa untuk menginduksi terbentuknya aterosklerosis pada mencit diperlukan diet yang ditambah dengan asam kolat sehingga dapat menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL plasma dan membuat gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik.¹⁵

Untuk meningkatkan kalsifikasi pada pembuluh darah dan stimulasi proliferasi sel otot polos pembuluh darah diberikan penambahan suplemen vitamin D3 sehingga lesi aterosklerotik dapat lebih cepat terbentuk.¹⁶ Dengan diet aterosklerotik yang diberikan tersebut diharapkan lesi

aterosklerosis dapat diidentifikasi dengan jelas dalam sediaan histopatologi.

Penelitian tentang aterosklerosis menggunakan model hewan sudah pernah dilakukan sebelumnya oleh Murwani *et al.* (2006) yang memberikan alternatif hewan coba untuk penelitian aterosklerosis serta mencari komposisi dan lama pemberian diet aterogenik. Tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) digunakan sebagai hewan coba aterosklerosis dikarenakan mudah didapat dan mudah penanganannya, tikus yang dipilih merupakan tikus jantan karena tidak terpengaruh oleh hormon.^{12,17} Pada penelitian tersebut, tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) diberikan pakan yang ditambah dengan kuning telur, asam kolat, dan minyak babi selama 8 minggu. Hasil penelitian mengungkapkan pada minggu ke 8 terjadi peningkatan kolesterol darah dan pembentukan sel busa pada arcus aorta tikus sebagai proses awal terjadinya aterosklerosis.¹²

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melihat gambaran histopatologi aorta torasika setelah 8 minggu pemberian diet aterogenik. Pada penelitian ini, tikus akan diberikan diet aterogenik berupa diet tinggi lemak yang terdiri dari pakan yang ditambahkan kuning telur, lemak kambing, dan asam kolat selama 8 minggu dengan penambahan vit D3 setiap 4 minggu. Setelah 8 minggu, akan diamati gambaran histopatologi aorta torasika pada tikus dan diberikan skor berdasarkan parameter lesi aterosklerosis untuk mengetahui perbedaan antara aorta torasika tikus yang diberikan diet standar dengan

kelompok yang diberikan diet aterogenik selama 8 minggu.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *post test only with control*, untuk mengetahui perubahan pada dinding aorta torasika yang telah diberi diet aterogenik selama 8 minggu. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Riau dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Arifin Ahmad Provinsi Riau pada bulan September 2013 sampai Oktober 2014. Subjek dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) yang berjumlah 12 ekor yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 160 – 240 gram yang dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok aterogenik.

1. Kelompok kontrol

Kelompok yang diberi pakan standar tanpa diberi diet aterogenik dan vitamin D3.

2. Kelompok aterogenik

Kelompok yang diberikan diet aterogenik yang mengandung kolesterol kuning telur 0,2 %, asam kolat 2 %, lemak kambing 5% dan pakan pakan standar 92,8 % yang diberikan sebanyak 20 gram setiap hari serta diberikan vitamin D3 pada minggu pertama dengan cara disondekan kemudian diulang kembali setelah 4 minggu.

Pemeriksaan histopatologi

Pada minggu ke-8 tikus dibedah dan aorta torasika tikus tersebut diambil untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Jaringan yang di ambil

akan diwarnai dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Analisis Data

Data dianalisis dengan statistic dengan menggunakan uji statistik *Mann Whitney* dengan $\alpha = 0,05$

Etika Penelitian

Penelitian ini telah lolos kaji etik oleh Unit Etika Penelitian Kedokteran / Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Riau berdasarkan penerbitan Surat Keterangan Lolos Kaji Etik nomor : No 92/UN19.1.28/UEPKK/2014.

HASIL

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas

Tabel 4.1 Data gambaran mikroskopis pada aorta torasika *Rattus novergicus* kelompok kontrol

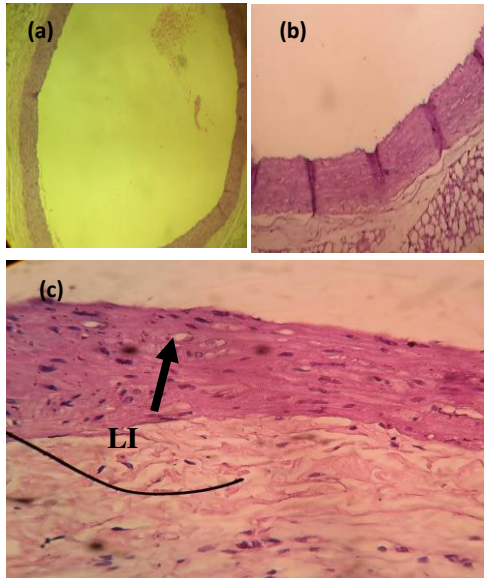
Gambaran histopatologi aterosklerosis	No. Sampel						Jumlah	Persentase
	1	2	3	4	5	6		
Makrofag	-	+	-	-	-	+	2	33,33%
Sel Busa	-	+	-	-	-	+	2	33,33%
Lipid intrasel	-	+	-	-	-	+	2	33,33%
Sedikit lipid ekstrasel	-	-	-	-	-	-	0	0%
Banyak lipid ekstrasel	-	-	-	-	-	-	0	0%
Inti lipid	-	-	-	-	-	-	0	0%
Kalsifikasi	-	-	-	-	-	-	0	0%
Fibrateroma	-	-	-	-	-	-	0	0%
Defek permukaan	-	-	-	-	-	-	0	0%
Hematom	-	-	-	-	-	-	0	0%
Trombus	-	-	-	-	-	-	0	0%

Keterangan: + : Ada
- : Tidak ada

Kedokteran Universitas Riau dan Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Arifin Ahmad Provinsi Riau pada bulan September 2013 sampai Oktober 2014 mengenai gambaran histopatologi aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan setelah 8 minggu pemberian diet aterogenik dan didapatkan hasil sebagai berikut.

Gambaran histopatologi kelompok yang diberikan diet standar terlihat adanya gambaran makrofag, sel busa, akumulasi lipid intrasel seperti yang tertera pada tabel berikut ini.

Berikut ini gambaran mikroskopis aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan kelompok kontrol:



Gambar 1. Histopatologi aorta torasika kelompok kontrol

Pada gambar 4.1 (a) terdapat gambaran aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan kelompok kontrol yang normal tanpa adanya gambaran lesi aterosklerosis. Pada gambar 4.2 (b) juga terlihat gambaran aorta torasika yang normal dengan sel endotel utuh sedangkan pada gambar 4.2 (c) terdapat gambaran akumulasi lipid intrasel (LI) yang menandakan telah terjadinya pembentukan lesi aterosklerosis pada kelompok kontrol.

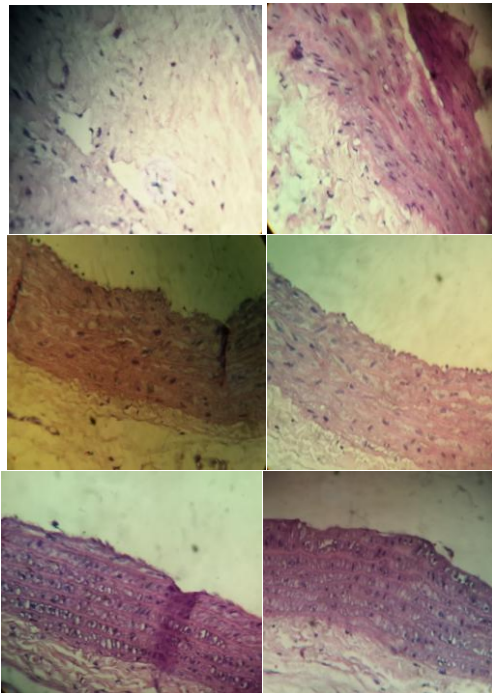
Gambaran histopatologi kelompok yang diberikan diet aterogenik selama 8 minggu terdapat pada tabel berikut ini

Tabel 2. Data histopatologi kelompok yang diberi diet aterogenik

Gambaran Histopatologi	No. Sampel						Jumlah	Persentase
	1	2	3	4	5	6		
Makrofag	+	+	+	+	+	+	6	100%
Sel Busa	+	+	+	+	+	+	6	100%
Lipid Intrasel	+	+	+	+	+	+	6	100%
Sedikit Lipid Ekstrasel	-	+	-	+	-	-	2	33,33%
Banyak Lipid Ekstrasel	+	-	+	-	+	+	4	66,67%
Inti lipid	-	-	-	-	-	-	0	0%
Kalsifikasi	-	-	-	-	-	-	0	0%
Fibroateroma	-	-	-	-	-	-	0	0%
Defek Permukaan	-	-	-	-	-	-	0	0%
Hematom	-	-	-	-	-	-	0	0%
Trombus	-	-	-	-	-	-	0	0%

Keterangan : + : ada
- : tidak ada

Berikut gambaran histopatologi aort wistar jantan setelah delapan minggu pemberian diet aterogenik.



Gambar 2. Histopatologi aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan setelah delapan minggu pemberian diet aterogenik.

torasika *Rattus novergicus* strain

Untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan dari lesi aterosklerosis pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan diet aterogenik, maka dilakukan analisis uji statistik dengan menggunakan analisis uji t tidak berpasangan, namun karena sebaran data yang tidak normal & varians yang tidak sama, maka digunakan uji *Mann-Whitney* dan didapatkan hasil perhitungan nilai $p < 0,005$.

Hasil uji statistik pada tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok yang diberi pakan standar dengan kelompok yang diberi diet aterogenik.

Tabel 4.3 Perbandingan skor lesi aterosklerosis aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar antara dua kelompok perlakuan

No	Skor lesi aterosklerosis kelompok kontrol	Skor lesi aterosklerosis kelompok yang diberikan diet aterogenik
1	0	4
2	2	3
3	0	4
4	0	3
5	0	4
6	2	4

($p=0,003$)*

Keterangan : * (*significant*) : terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian experimental untuk mengetahui pengaruh diet aterogenik yang diberikan selama delapan minggu terhadap gambaran histopatologi aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan, kemudian dibandingkan dengan gambaran histopatologi aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan yang diberikan pakan standar.

Histopatologi aorta torasika pada kelompok *Rattus novergicus* strain wistar jantan yang diberikan diet standar

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa pada aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan yang diberikan pakan standar sebagai kelompok kontrol terdapat lesi aterosklerosis pada dua dari enam sampel yang ada yakni ditemukan adanya sel busa dan lipid intrasel otot polos namun tidak terdapat lipid ekstrasel, inti lipid, kalsifikasi, fibrateroma, defek permukaan, hematoma, dan trombus. Sementara empat sampel lainnya menunjukkan keadaan pembuluh darah aorta yang normal.

Hal ini menunjukkan telah terjadinya pembentukan lesi aterosklerosis pada dua sampel dari kelompok yang diberikan diet standar, jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, yakni pada penelitian yang telah dilakukan oleh Murwani (2006) dengan menggunakan *Rattus novergicus* strain wistar sebagai hewan dengan jenis diet yang berbeda dan lama waktu penelitian yang sama, tidak ditemukan adanya gambaran lesi

aterosklerosis pada arcus aorta kelompok yang diberikan pakan standar.¹¹ Penelitian yang dilakukan oleh Yanuartono (2007), kelompok kontrol tikus *Sprague dawley* yang hanya diberi pakan standar selama enam minggu juga tidak menunjukkan gambaran lesi aterosklerosis pada aorta.¹⁸ Namun, pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni (2013), pada aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar kelompok kontrol yang diberikan pakan standar selama 60 hari, ditemukan adanya *foam cell*.¹⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Maramis (2014) juga memperlihatkan gambaran aterosklerosis berupa sel busa pada aorta kelompok kontrol yang diberi pakan standar.²⁰

Keadaan tersebut bisa saja terjadi karena berdasarkan teorinya, aterosklerosis dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor risiko lain selain hiperkolesterolemia seperti adanya kelainan genetik, hiperhomosisteinemi, obesitas, infeksi, kelainan metabolik, stres, kurang gerak, dan faktor lainnya yang mempengaruhi hemostasis.^{10,21}

Faktor-faktor risiko aterosklerosis tersebut dapat menyebabkan terjadinya cedera endotel pembuluh darah, kemudian sel endotel menghasilkan bahan-bahan kimia yang dapat menarik monosit ke tempat peradangan sehingga terjadi respon peradangan lokal. Monosit akan membesar dan permanen menjadi sel fagositik besar (makrofag) yang akan memfagosit LDL teroksidasi sehingga terbentuk sel busa. Kemudian, makrofag yang teraktifasi dan melepaskan zat kemoatraktan dan sitokin (*monocyte chemoattractant protein-1*, *tumor necrosis factor α* , IL-1, IL-6, CD40

dan *C-reactive protein*), zat-zat tersebut akan menyebabkan migrasi sel otot polos dari tunika media ke tunika intima. Kemudian proses aterosklerosis terus berlanjut hingga menjadi lesi progresif aterosklerosis.^{10,22}

Histopatologi aorta torasika pada kelompok *Rattus novergicus* strain wistar jantan yang diberikan diet aterogenik selama 8 minggu

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa setelah delapan minggu pemberian diet aterogenik, dapat ditemukan adanya gambaran aterosklerosis yang terdiri dari makrofag, sel busa, akumulasi lipid intrasel, dan akumulasi lipid ekstrasel otot polos pada aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar. Meskipun pada kelompok kontrol juga ditemukan sampel yang memiliki gambaran aterosklerosis berupa sel busa dan lipid intrasel, namun pada kelompok yang diberikan diet aterogenik semua sampel telah mengalami pembentukan lesi aterosklerosis dan telah terdapat akumulasi lipid ekstrasel.

Hal ini dikarenakan diet aterogenik yang mengandung komposisi kolesterol dari kuning telur, lemak kambing, asam kolat yang dapat meningkatkan kadar LDL pada *Rattus novergicus* strain wistar dan pemberian vitamin D3 sehingga lesi aterosklerosis dapat terbentuk dengan cepat. Diet aterogenik merupakan diet tinggi kolesterol yang dimaksudkan untuk membentuk suatu kondisi hiperkolesterolemia pada tikus yang akan meningkatkan kadar LDL teroksidasi yang secara bertahap dapat menyebabkan terjadinya aterosklerosis.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Murwani (2006) yang memberikan diet aterogenik berupa kuning telur, minyak babi, dan asam kolat yang dicampur dengan pakan standar selama delapan minggu dan didapatkan hasil peningkatan kadar kolesterol darah dan pembentukan sel busa pada aorta sebagai proses awal aterosklerosis.¹¹ Pada penelitian yang dilakukan Maramis (2014), juga terdapat sel busa pada aorta tikus wistar yang diberikan 2 ml lemak babi selama 14 hari.²⁰ Penelitian oleh Yanuartono (2007) juga mengungkapkan bahwa dengan pemberian diet berupa kolesterol murni (ICN, *Spain*), lemak hewan, vitamin, kasein, maizena, mineral, agar, sukrosa selama 6 minggu dapat membentuk lesi aterosklerosis berupa ateroma pada aorta tikus.¹⁸ Begitu juga dengan penelitian Wahyuni (2013) yang menunjukkan pembentukan sel busa pada aorta torasika tikus wistar pada kelompok yang diberikan diet aterogenik selama 60 hari.¹⁹

Pemberian diet tinggi lemak dapat menimbulkan stres oksidatif endotel pembuluh darah melalui pembentukan keadaan dislipidemia yaitu tingginya kadar kolesterol total, LDL, VLDL, TG dan rendahnya kadar HDL dalam sirkulasi. Stres oksidatif dapat menyebabkan disfungsi endotel dan produksi berlebihan dari ROS (*Reactive oxygen spesies*) yang akan mengoksidasi LDL ekstraseluler sehingga terbentuklah LDL teroksidasi. LDL teroksidasi akan yang difagositosis oleh makrofag melalui reseptor *scavenger* sehingga terbentuk sel busa sebagai lesi awal aterosklerosis.²³

Analisis perbedaan skor aterosklerosis berdasarkan gambaran histopatologi aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan kelompok yang diberikan pakan standar dengan kelompok yang diberikan diet aterogenik selama 8 minggu.

Setelah dilakukan penilaian dengan menggunakan skor aterosklerosis dan diolah dalam uji statistik, didapatkan perbedaan yang bermakna antara aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan kelompok yang diberikan pakan standar dengan kelompok yang telah diberikan diet aterogenik selama 8 minggu. Hasil uji statistik *Mann-Whitney* menunjukkan terdapatnya perbedaan yang signifikan pada skor parameter lesi aterosklerosis antara kelompok standar dan kelompok yang diberikan diet aterogenik ($p < 0,05$). Pada penelitian yang dilakukan oleh Murwani (2006) dan Maramis (2014) juga menunjukkan perbedaan yang signifikan pada jumlah sel busa aorta tikus wistar antara tikus yang diberikan diet aterogenik dengan tikus yang diberikan diet standar.^{11,20}

Perbedaan ini menunjukkan bahwa diet aterogenik yang diberikan selama 8 minggu dapat meningkatkan terjadinya lesi aterosklerosis dibandingkan dengan diet standar.

Simpulan

1. Terdapat gambaran lesi aterosklerosis pada kelompok yang diberikan diet standar, hal ini bisa jadi disebabkan oleh faktor risiko aterosklerosis yang lain.
2. Pemberian diet aterogenik selama delapan minggu

memiliki pengaruh terhadap pembentukan lesi aterosklerosis pada aorta torasika *Rattus novergicus* strain wistar jantan

3. Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok *Rattus novergicus strain wistar* yang diberikan pakan standar dengan kelompok yang diberikan diet aterogenik selama delapan minggu berdasarkan skor penilaian lesi aterosklerosis.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan skrining terlebih dahulu terhadap pemilihan hewan coba untuk meminimalisasi kemungkinan adanya penyulit lain pada hewan coba
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan lebih memperhatikan aspek pemberian makan tikus yakni dengan cara menyondekan makanan langsung ke lambung sehingga porsi diet yang dimakan tikus sama untuk setiap tikusnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada pihak Fakultas Universitas Riau, dr. Enikarmila Asni, M.Biomed, M.Med.Ed dan dr.Zuklifli Malik Sp.PA selaku pembimbing, dr.Ismawati,M.Biomed dan dr.Irwan Sp.JP selaku dosen penguji dan dr.Ilhami Romus Sp.PA selaku supervisi yang telah memberikan waktu, bimbingan, ilmu, nasehat, motivasi dan semangat kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abaywardena Y, Mahinda WR, Kirsty EW, Vergeshe JN, Head RJ. Cardiovascular biology of interleukin-6. Bentham science publisher Ltd. 2009; 15
2. World Health Organization. Global Status Report on Noncommunicable Disease Burden: mortality, morbidity, and risk factors. 2011; 9
3. Garjani A, Yadollah A, Areezo Z, Negar AA, Sina A, Nasrin MD. Vascular dysfunction in short-term hypercholesterolemia despite the absence of atherosclerotic lesions. Journal of cardiovascular and thoracic research. 2011
4. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis. Jakarta: Buku kedokteran EGC; 2000
5. Yuwono HS. Ilmu bedah vaskular. Bandung: Refika Aditama; 2010
6. Pathenakins, Frangikos J, Kochiadakis, George E, Skalidis, Emmanuel I, *et al.* Aortic atherosclerotic lesions in the thoracic aorta detected by multiplane transesophageal echocardiography as a predictor of coronary artery disease in elderly patients. Clinical Cardiology. 2000; 23: 734-39
7. Gray HD, Dawkins KD, Simpson IA, Morgan JM. Lecture notes : Kardiologi. Ed 4. Jakarta: Erlangga; 2005
8. Elefteriades JA, Farkas EA. Thoracic aortic aneurysm clinically pertinent controversies and uncertainties .J Am Coll Cardiol. 2010;55(9):841-857
9. Beckman JA. Aortic aneurysms: pathophysiology, epidemiology, and prognosis. In: Creager MA, Dzau VJ, Loscalzo J, eds. Vascular Medicine. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier Inc; 2006
10. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku ajar patologi Robbins. Ed 7. vol.2. Jakarta : EGC; 2007; 2: 369-378
11. Murwani S, Mulyohadi A, Muliarta K. Diet aterogenik pada Tikus Putih (Rattus Novergicus Strain Wistar) sebagai Model Hewan Aterosklerosis. Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2006; 1(22): 7-9
12. Spence JD, Jenkins DJA, Davignon J. Dietary cholesterol and egg yolks: Not for Patent at risk of vascular disease. US national library of medicine. 2012 Aug 1 [cited 2014 feb 11].
13. Balai Informasi Teknologi LIPI. Gaya hidup sehat. 2009. [diakses pada 13 Mei 2014]. Bisa diakses di: http://www.bit.lipi.go.id/pangan-kesehatan/documents/artikel_kolesterol/gaya_hidup_sehat.pdf
14. Pellizzon, MA. Diet induced atherosclerosis/hypercholesterolemia in rodent models. Research diet: open source diet. 2008

15. Srivastava RAK, Srivastava N, Avema M. Dietary Cholic Acid Lower Plasma Levels of Mouse and Human Apolipoprotein A-I Primarily Via Transcriptional Mechanism. *Eur. J. Biochem* 2000; 267 : 4272-80
16. Pang J, Xu Q, Xu X, Yin H, Xu R, Guo S, et al. Hexarelin suppresses high lipid diet and vitamin D3-induced atherosclerosis in the rat. *Peptides*. 2010; 31: 630-638
17. Kram DJ, Keller KA, editors. Use of laboratory animals in toxicology studies. In: *Toxicology testing handbook*. New York: Marcel Dekker; 2001.20-2
18. Yanuartono. Peran diet lemak dan/atau kolesterol tinggi pada pembentukan plak aterosklerosis pada tikus putih (*Sprague Dawley*). Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 2007. Vol 25 (1).
19. Wahyuni ES, Kusumastuty I, Budiarti ME. Pengaruh pemberian tepung sorgum (*Sorghum Bicolor L*) terhadap jumlah foam cell aorta torasika pada tikus putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) yang diberi diet aterosklerogenik. *Jurnal FK UB*. 2013.
20. Maramis R, Kaseke M, Tanudjadja GN. Gambaran histologi aorta tikus wistar dengan diet lemak babi setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*). *Jurnal e-biomedik*. 2014;2(2).
21. Jusi J. Dasar-dasar ilmu bedah vaskuler. Jakarta. Balai Penerbit FKUI; 1991:98-99
22. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: diagnosis and management part 1. *J. Mayo Clin Proc*.2009. 84(10):917-38. Available from : http://www.academia.edu/4870328/Jurnal_Kardiologi_Indonesia_Penyakit_Jantung_Koronar_pada_Chronic_Kidney_Disease
23. Corwin EJ. Buku saku patofisiologi. Jakarta : EGC; 2009