

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Infark Miokard Akut (IMA) adalah kondisi nekrosis jaringan miokard yang disebabkan oleh iskemia yang berkepanjangan sebagai akibat dari gangguan aliran darah koroner, paling sering disebabkan oleh trombosis akut pada plak aterosklerotik yang ruptur. IMA merupakan bagian dari spektrum Sindrom Koroner Akut (SKA) merupakan penyakit yang menyebabkan penurunan aliran darah ke jantung meliputi *ST-segment elevation myocardial infarction* (STEMI) dan *non-ST-segment elevation myocardial infarction* (NSTEMI) (PERKI, 2022).

Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2021 menyebutkan penyakit jantung merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi secara global (World Health Organization, 2022). Penyakit jantung koroner (PJK) bertanggung jawab atas sepertiga dari total kematian pasien yang berusia lebih dari 35 tahun. Sindrom koroner akut merupakan gangguan yang dapat mengancam jiwa dan berkontribusi besar terhadap angka kesakitan dan kematian di seluruh dunia. Diperkirakan terdapat 1,8 juta kematian setiap tahunnya diakibatkan oleh SKA dan kematian mendadak. (Viana *et al.*, 2020). Penyakit jantung mempengaruhi sekitar 15,5 juta orang di Amerika Serikat yang menjadi penyebab kematian terbanyak. *American Heart Association* (AHA) memperkirakan satu orang mengalami serangan jantung setiap 41 detik dan harus dirawat di unit gawat darurat akibat keluhan utama nyeri dada (Anumeha Singh, Museedi and Grossman, 2023).

Berdasarkan *Global Burden of Disease dan Institute for Health Metrics and Evaluation* (IHME) 2014-2019, penyakit jantung juga menjadi penyebab kematian tertinggi di Indonesia. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2013 dan 2018 menunjukkan tren peningkatan penyakit jantung yakni dari 0,5% pada 2013 menjadi 1,5% pada 2018 sehingga menyebabkan penyakit jantung menjadi beban pembiayaan terbesar di Indonesia (Kementerian Kesehatan, 2022). Berbagai permasalahan Kesehatan tersebut mencerminkan terbatasnya penerapan pencapaian penelitian kardiovaskular pada praktik klinis. Beberapa di antaranya disebabkan oleh keterlambatan deteksi dan terapi pengobatan (Viana *et al.*, 2020). Penyakit kardiovaskular menyebabkan kurang dari 2,2 juta kematian pada wanita dan lebih dari 1,9 juta kematian pada pria. Penyakit jantung iskemik merupakan penyebab kematian yang paling umum, yang menyebabkan 38% dari semua kematian akibat penyakit kardiovaskular pada wanita dan 44% pada pria (Timmis *et al.*, 2022).

Penyebab utama dan faktor risiko yang dapat dimodifikasi antara lain kolesterol LDL (LDL-C atau *low-density lipoprotein cholesterol*), hipertensi, merokok, dan diabetes melitus (DM). Faktor risiko penting lainnya adalah adipositas (kelebihan timbunan lemak pada tubuh) yang akan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular (Pastor-Barriuso *et al.*, 2003). Berdasarkan banyak penelitian dan hasil uji acak dengan kontrol, rendahnya kadar kolesterol LDL untuk waktu yang panjang dikaitkan dengan risiko penyakit kardiovaskular yang lebih rendah. Selain itu, penurunan

kolesterol LDL juga terbukti aman dalam menurunkan risiko bahkan pada tingkat kolesterol LDL yang sangat rendah. Kolesterol *non-high-density lipoprotein* (kolesterol non-HDL) mencakup semua lipoprotein aterogenik (mengandung apo-B). Kolesterol non-HDL didapatkan dari penghitungan kolesterol total dikurangi dengan kolesterol HDL. Hubungan antara kolesterol non-HDL dengan risiko kardiovaskular sama kuat jika dibandingkan dengan kolesterol LDL (PERKI, 2022).

Peningkatan tekanan darah menyebabkan 9,4 juta kematian dan 7% kecacatan. Peningkatan tekanan darah merupakan faktor risiko penyakit jantung koroner (PJK), gagal jantung, serebrovaskular, arteri ekstremitas bawah (*lower extremity arterial disease*), gagal ginjal kronis, dan fibrilasi atrium. Risiko kematian meningkat secara linier jika tekanan darah sistolik lebih dari 90 mmHg dan tekanan darah diastolik lebih dari 75 mmHg, baik pada kasus PJK maupun stroke. Manfaat absolut dari penurunan tekanan darah sistolik (TDS) dipengaruhi oleh risiko absolut dan penurunan TDS absolut (Pastor-Barriuso *et al.*, 2003).

Merokok, baik aktif maupun pasif, merupakan prediktor independen yang kuat terhadap PJK. Di sisi lain, banyak penelitian yang melaporkan manfaat berhenti merokok terhadap perbaikan risiko terjadinya PJK dan risiko perburukan PJK. Salah satu manfaat tersebut ialah penurunan mortalitas pada pasien dengan infark miokard sebesar 36% (Knuuti *et al.*, 2020). Diabetes Melitus (DM) tipe I, DM tipe II, dan prediabetes merupakan faktor risiko independen untuk penyakit kardiovaskuler. Ketiganya meningkatkan risiko sekitar dua kali lipat tergantung dari populasi dan kontrol terapeutik. Dari segi jenis kelamin, perempuan dengan DM tipe II memiliki risiko stroke yang lebih tinggi. Sementara itu, pasien dengan DM tipe II cenderung memiliki beberapa faktor risiko penyakit kardiovaskuler termasuk dislipidemia dan hipertensi. Kedua faktor tersebut berkaitan dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskuler akut dan non penyakit kardiovaskuler akut (Pastor-Barriuso *et al.*, 2003).

Obesitas (sentral) yang ditandai dengan lebar lingkar pinggang, berhubungan dengan penyakit kardiovaskuler dan diabetes, terutama pada usia muda. Walaupun ditemukan bukti ilmiah tentang hubungan obesitas pada pasien gagal jantung bertentangan, studi metaanalisis menyimpulkan bahwa IMT dan lingkar pinggang memiliki hubungan yang kuat dengan penyakit kardiovaskuler dan DM tipe II (Pastor-Barriuso *et al.*, 2003; Knuuti *et al.*, 2020).

Faktor risiko tidak modifikasi: stres psikososial dikaitkan dengan perkembangan dan progresi penyakit kardiovaskuler. Stres psikososial mencakup gejala stres (gangguan mental) serta stresor, seperti kesepian dan peristiwa kehidupan yang berat. Sebaliknya, indikator kesehatan mental, seperti optimisme dan tujuan yang kuat, dikaitkan dengan risiko yang lebih rendah terhadap progresi penyakit kardiovaskuler. Stres psikososial memiliki efek biologis langsung serta sangat berkorelasi dengan faktor risiko sosial ekonomi dan perilaku (misalnya merokok dan kepatuhan yang buruk) (Knuuti *et al.*, 2020).

Etnisitas berpengaruh terhadap sebuah prediksi risiko kardiovaskular. Sebagai contoh, di Eropa terdapat banyak warga yang berlatar belakang etnis dari negara-negara lain, seperti India, Cina, Afrika Utara, dan Pakistan. Dengan

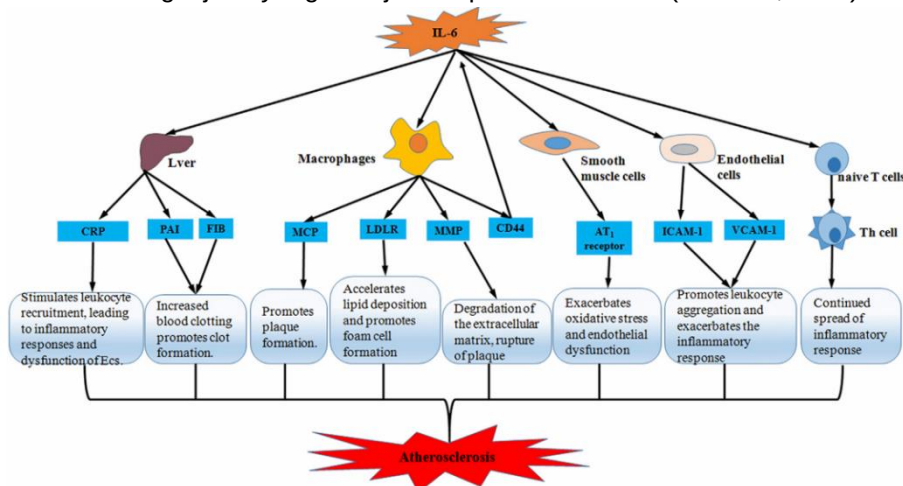
variabilitas faktor risiko penyakit kardiovaskuler yang cukup besar di antara kelompok etnis, tidak terdapat skor tunggal terkait risiko penyakit kardiovaskular tunggal yang dapat diterapkan di semua kelompok etnis (Visseren *et al.*, 2021).

Riwayat Keluarga merupakan indikator yang sederhana dari risiko PJK. Riwayat keluarga mencerminkan interaksi genetik dan lingkungan. Beberapa studi yang menilai efek dari riwayat keluarga dan genetik menyimpulkan bahwa riwayat keluarga tetap terkait secara signifikan. Status sosial ekonomi yang rendah dan stres di lingkungan kerja juga secara independen berkaitan dengan timbulnya penyakit kardiovaskuler dan prognosis. Paparan Lingkungan yang berpotensi memodifikasi risiko penyakit kardiovaskuler meliputi polusi udara dan tanah serta tingkat kebisingan di atas ambang batas. Polusi udara yang dimaksud dapat berupa polutan gas (misalnya ozon, nitrogen dioksida, senyawa organik yang mudah menguap, karbon monoksida, dan sulfur dioksida). Polutan tersebut dihasilkan terutama oleh pembakaran bahan bakar fosil. Peningkatan paparan timbal, arsenik, dan kadmium dikaitkan dengan PJK, termasuk hipertensi, penyakit jantung kronis, stroke, dan mortalitas (PERKI, 2022).

Patofisiologi yang mendasari IMA adalah berkurangnya aliran darah ke bagian otot jantung yang terjadi akibat pecahnya plak dan pembentukan thrombus atau akibat vasospasme dengan atau tanpa aterosklerosis yang mendasarinya. Hal tersebut menyebabkan penurunan aliran darah ke otot jantung sehingga terjadi iskemik kemudian berlanjut menjadi infark (Anumeha Singh, Museedi and Grossman, 2023). Patomekanisme IMA terbagi menjadi 3 mekanisme patofisiologi utama. Yang pertama adalah ruptur plak, terutama yang melibatkan plak aterosklerotik yang kaya akan lipid dan lapisan fibrosa tipis. Metaloproteinase (MMP) mendegradasi lapisan fibrosa yang mengakibatkan ruptur dan nekrosis inti yang terpapar ke lumen vaskular, yang menyebabkan aktivasi trombosit dan trombosis. Dalam sebagian kecil kasus, ruptur plak terjadi di lokasi *calcified nodules* (CN). Ruptur plak dapat terjadi dengan atau tanpa peradangan sistemik. Yang kedua adalah erosi plak, terjadi pembentukan thrombus terjadi terutama di area deskuamasi endotel yang berdekatan dengan plak aterosklerotik, tanpa merusak lapisan fibrosa yang menutupi jaringan plak. Mekanisme ketiga disebabkan oleh penyebab non-aterosklerosis tanpa adanya trombosis yang jelas, seperti vasospasme koroner dan *Myocardial Bridging* (MB) (Yuan *et al.*, 2023).

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin pro-inflamasi yang berperan penting dalam regulasi respon imun, hematopoiesis, dan inflamasi sistemik. IL-6 diproduksi oleh berbagai jenis sel, termasuk makrofag, fibroblas, sel endotel, dan sel imun lainnya sebagai respon terhadap infeksi, cedera jaringan, atau stimulasi inflamasi (Su *et al.*, 2021). IL-6 bekerja tidak hanya pada sistem imun, tetapi juga pada sistem neurologis dan kardiovaskular (Su *et al.*, 2021). Peran Interleukin-6 pada Aterosklerosis, *Coronary Artery Disease* sebagai mediator penting dari reaksi inflamasi, IL-6 bertindak secara luas dalam sistem kardioserebrovaskular dan terlibat dalam perkembangan patologi kardioserebrovaskular. Ada beberapa jalur yang mungkin terlibat dalam pembentukan dan progresi aterosklerosis oleh IL-6: 1) IL-6 menginduksi produksi CRP di hati untuk merangsang perekrutan leukosit dan

mendorong respons inflamasi pada sel endotel, yang menyebabkan disfungsi endotel; 2) IL-6 menginduksi *plasma fibrinogen activator inhibitor* (PAI) dan produksi fibrinogen dalam hepatosit, yang meningkatkan pembekuan darah dan mendorong terjadinya thrombosis; 3) Makrofag yang diaktifkan IL-6 mengeluarkan *monocyte chemotactic proteins* (MCP) untuk merekrut monosit ke subendotel dalam pembentukan plak; 4) IL-6 menginduksi ekspresi reseptor-LDL pada permukaan makrofag untuk mendorong penyerapan makrofag terhadap LDL untuk mempercepat pengendapan lipid dan mendorong pembentukan sel foam; 5) IL-6 meningkatkan ekspresi molekul adhesi sel CD44 pada makrofag; 6) IL-6 meningkatkan sintesis matriks metaloproteinase (MMP), menghancurkan matriks ekstraseluler, dan menyebabkan plak rentan pecah; 7) IL-6 meningkatkan ekspresi *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) dan ICAM-1, dan mendorong agregasi leukosit untuk memperburuk reaksi inflamasi; 8) IL-6 meningkatkan ekspresi *angiotensin II type 1* (AT₁) pada sel-sel otot polos vaskular yang memperburuk stres oksidatif dan insufisiensi endotel yang mendorong perkembangan aterosklerosis; 9) IL-6 mendorong diferensiasi limfosit T naif menjadi limfosit *T-helper* (Th) yang mendukung penyebaran reaksi inflamasi. Temuan ini menunjukkan IL-6 memainkan peran penting dalam patologi aterosklerosis dan berkontribusi pada perkembangannya melalui berbagai jalur yang ditunjukkan pada Gambar 1. (Su et al., 2021).



Gambar 1. Skematis IL-6 pada Akselerasi Aterosklerosis (Su et al., 2021)

Pergeseran paradigma saat ini yang menyatakan aterosklerosis sebagai proses inflamasi kronis dianggap menarik dan logis bagi para ahli jantung (Bouzidi and Gamra, 2023a). Beberapa sitokin (seperti: *tumor necrosis factor alpha* [TNF- α], interleukin interstitial 1 [IL-1], kemokin, adipokin, dan interferon) diketahui terlibat dalam terjadinya IMA. Interaksi sitokin tersebut terlibat dalam proses destabilisasi plak aterosklerotik, yang mengakibatkan IMA. TNF- α dan IL-1 terutama terlibat dalam akumulasi sel inflamasi, agregasi trombosit yang mempercepat pembentukan plak

yang tidak stabil, apoptosis sel miokard, dan *remodeling* ventrikel setelah infark miokard (Yang *et al.*, 2021).

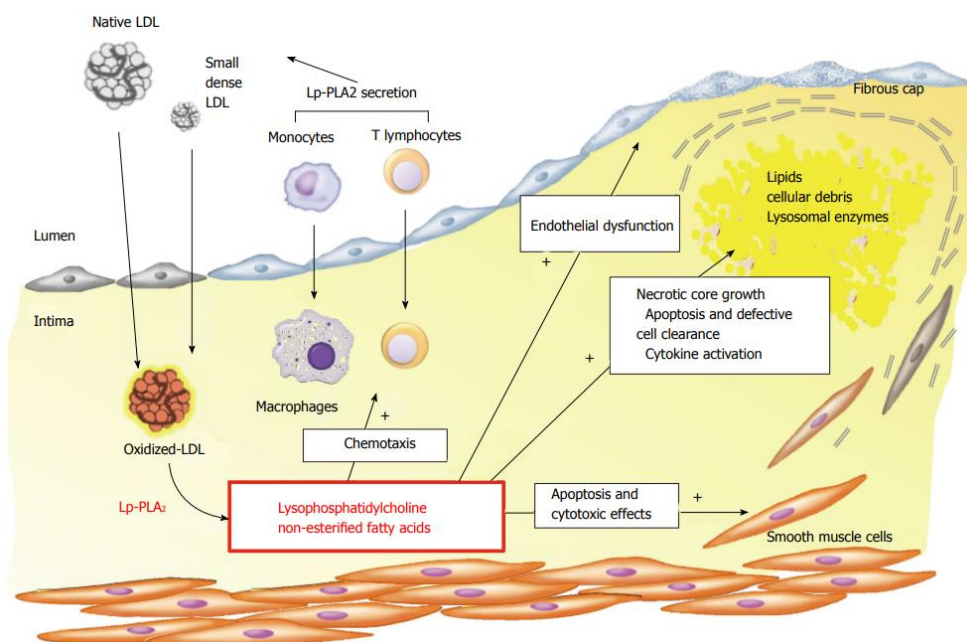
Selain *tumor necrosis factor* alpha [TNF- α], interleukin interstisial 1 [IL-1], terdapat juga interleukin 6 (IL-6) yang dianggap memiliki nilai prognostik pada pasien dengan IMA. IL-6 saat ini menjadi indikator yang umum digunakan dalam praktik klinis karena deteksinya cepat dan mudah dilakukan serta sangat terkait dengan tingkat keparahan IMA (Yang *et al.*, 2021). Kadar IL-6 plasma meningkat secara signifikan pada pasien dengan penyakit jantung koroner dan tidak dipengaruhi oleh faktor risiko lain (Cao, Chiarito and Mehran, 2020). Sebuah penelitian menyebutkan, khusus pada pasien *unstable angina*, kadar IL-6 plasma meningkat tiga kali lipat dibandingkan dengan kontrol sehat dan terkait erat dengan konsentrasi *high-sensitivity C-reactive protein* (hs-CRP), yang menunjukkan bahwa IL-6 mungkin terlibat dalam reaksi fase akut awal IMA (Chan and Ramji, 2020).

Studi lain telah menemukan bahwa pasien dengan infark miokard akut jangka panjang memiliki kadar IL-6 plasma yang secara signifikan lebih tinggi daripada orang sehat. Beberapa penelitian telah mengeksplorasi secara mikroskopis mekanisme yang digunakan IL-6 untuk mempromosikan IMA, membuktikan bahwa IL-6 mempromosikan aktivasi makrofag, infiltrasi, dan peningkatan ekspresi reseptor *low-density lipoproteins* (LDL), sehingga meningkatkan penyerapan LDL oleh makrofag dan menginduksi peningkatan ekspresi faktor jaringan yang berkontribusi pada proses inflamasi aterosklerosis (Libby and Bornfeldt, 2020). Wang *et al.*, juga mengonfirmasi bahwa kadar hs-CRP dan IL-6 serum dapat digunakan untuk menentukan stabilitas plak, yang terkait erat dengan IMA, sehingga kadar IL-6 dapat bermanfaat untuk memprediksi pasien dengan IMA (Wang *et al.*, 2014).

Serupa dengan penelitian sebelumnya, kadar IL-6 terkait erat dengan tingkat penyakit arteri koroner pada pasien *acute coronary syndrome* (ACS) yang menjalani intervensi koroner perkutan. Sehingga kadar IL-6 diharapkan dapat berfungsi sebagai biomarker yang berharga dan non-invasif pada pasien ACS berisiko tinggi (Ling, Weng and Tang, 2021).

Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) adalah enzim yang disekresikan oleh makrofag yang dapat memengaruhi ruptur plak dan aterosclerosis. Peningkatan kadar enzim ini dikaitkan dengan risiko penyakit jantung koroner yang lebih tinggi. Oleh karena itu, enzim tersebut dapat dianggap sebagai tujuan terapi yang mungkin untuk menurunkan risiko aterosklerosis (Zalewski and Macphee, 2005). Lp-PLA2 diproduksi sebagian besar oleh sel hematopoietik dan sebagian kecil pada sejumlah jaringan, seperti sel hati, sel aorta, dan adiposit. Setelah disekresikan, Lp-PLA2 bersirkulasi dengan mengikat lipoprotein dalam plasma, 70-80% pada LDL dan 20-30% pada HDL dari total aktivitas plasma (Huang, Wang and Shen, 2020). Peran Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 pada Aterosklerosis memicu kaskade inflamasi melalui stimulasi ekspresi molekul adhesi dan sitokin oleh sel endotel, induksi kemotaksis monosit dan leukosit ke ruang sub-intimal dinding arteri. Akumulasi lisofosfatidilkolin dan asam lemak teroksidasi di ruang sub-intimal berkontribusi pada perkembangan inti plak lipid. Lisofosfatidilkolin dan asam lemak teroksidasi kemudian diambil oleh makrofag dan berkonversi menjadi sel busa.

Lisofosfatidilkolin juga menginduksi produksi spesies oksigen reaktif, seperti superoksida, dengan mengaktifkan nikotinamida adenina dinukleotida oksidase endotel dan dengan menginduksi *nitric oxide synthase* (eNOS). Melalui mekanisme terakhir, enzim menjadi penghasil superoksida dan peroksinitrit, sehingga berkontribusi pada aterogenesis dan destabilisasi plak, sebagaimana dibuktikan oleh peningkatan mortalitas kardiovaskular yang ditemukan pada pasien penyakit arteri koroner yang membawa polimorfisme gen eNOS yang menyiratkan peningkatan ekspresi eNOS dan pembentukan spesies oksigen reaktif. Bukti eksperimental menunjukkan bahwa karena efek pro-inflamasi dan pro-oksidatif Lp-PLA2 berperan penting dalam patogenesis aterosklerosis. Peran Patogenik Lp-LPA2 dalam Perkembangan Aterosklerosis yang ditunjukkan pada Gambar 2. (Maiolino, 2015).



Gambar 1. Peran Patogenik Lp-LPA2 dalam Perkembangan Aterosklerosis (Maiolino, 2015).

Interleukin-6 dan Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 pada IMA. Kondisi peradangan dan stres oksidatif menyebabkan berbagai modifikasi oksidatif lipoprotein fosfolipid yang terlibat dalam terjadinya dan perkembangan lesi aterosklerotik. Lp-PLA2 disebutkan sebagai biomarker risiko independen dari penyakit kardiovaskular terkait aterosklerosis dan memediasi peradangan vaskular melalui regulasi metabolisme lipid dalam darah dan lesi aterosklerotik. Lp-PLA2 dikaitkan dengan lipoprotein densitas rendah dan tinggi serta lipoprotein(a) dalam plasma manusia dan secara khusus menghidrolisis fosfolipid teroksidasi yang terlibat dalam modifikasi stres oksidatif. Beberapa jenis fosfolipid teroksidasi dapat didetoksifikasi melalui degradasi enzimatis oleh aktivasi Lp-PLA2, membentuk

lisofosfolipid dan *oxidized non-esterified fatty acids* (OxNEFA). Lisofosfolipid meningkatkan ekspresi molekul adhesi, merangsang produksi sitokin (TNF- α , IL-6), dan menarik makrofag ke intima arteri (Pantazi, Tellis and Tselepis, 2022).

Peningkatan ekspresi enzim Lp-PLA2 dalam sirkulasi akan menyebabkan peningkatan produksi lisofosfatidilkolin yang berlebihan. Lisofosfatidilkolin, biomolekul lipid yang diperoleh dari pemecahan fosfatidilkolin melalui kerja fosfolipase A2 (PLA2) dan/atau melalui transfer asam lemak ke kolesterol bebas melalui *lecithin-cholesterol acyltransferase* (LCAT). Lisofosfatidilkolin diproduksi dalam sirkulasi ketika PLA2 membelah fosfatidilkolin, dapat diubah kembali menjadi PC oleh enzim lisofosfatidilkolin asiltransferase dengan adanya Acyl-CoA. Di hati, lisofosfatidilkolin meningkatkan gen yang terlibat dalam biosintesis kolesterol dan menurunkan gen yang terlibat dalam oksidasi asam lemak hati. Konsentrasi lisofosfatidilkolin yang lebih tinggi mengganggu integritas mitokondria dan meningkatkan pelepasan sitokrom C dalam hepatosit. Dalam sistem vaskular, lisofosfatidilkolin menginduksi aktivasi endotel dan aterogenesis yang berkepanjangan dan memodulasi ekspresi kemokin inflamasi dari sel endotel, mengganggu relaksasi arteri, meningkatkan stres oksidatif, dan menghambat migrasi dan proliferasi sel endotel. Kaya akan LDL teroksidasi (Law *et al.*, 2019)

Lisofosfatidilkolin mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan yang terlibat dalam stres oksidatif dan respons inflamasi. Kaskade pensinyalan dipicu melalui reseptor G2A yang berpasangan dengan protein G dan Toll-like receptor. Lisofosfatidilkolin eksogen menginduksi efek pro-inflamasi seperti peningkatan ekspresi gen untuk faktor pertumbuhan yang diarahkan otot polos/fibroblast dan molekul adhesi pada sel endotel, peningkatan pelepasan interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, dan TNF- α dari adiposit, peningkatan sekresi interferon- γ dari leukosit mononuklear darah tepi, dan peningkatan aktivasi sel B dan makrofag. Selain itu, lisofosfatidilkolin meningkatkan ekspresi Foxp3 dan fungsi supresif sel natural T regulator (nTreg) yang dimediasi melalui pensinyalan G2A yang bertanggung jawab untuk mencegah respons imun melalui berbagai cara, termasuk produksi sitokin anti-inflamasi (Law *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian sebelumnya telah meneliti tentang hubungan antara IL-6 dan tingkat keparahan penyakit kardiovaskular, serta prognosis jangka panjang IMA, namun hanya sedikit laporan mengenai signifikansi prognosis Lp-PLA2 sebagai faktor risiko pada IMA (Cai *et al.*, 2015). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa kadar plasma aktivitas LP-PLA2 yang lebih tinggi semakin meningkatkan risiko kejadian penyakit kardiovaskular, namun korelasi antara kadar LP-PLA2 dan kardiovaskuler belum banyak dikonfirmasi (Zhang *et al.*, 2020). Penelitian yang melaporkan korelasi IL-6 dan Lp-PLA2 serum pada IMA masih jarang dilakukan di Indonesia, khususnya di Makassar. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai korelasi kadar IL-6 dan Lp-LPA2 pada IMA. Melalui temuan penelitian ini diharapkan akan memberikan pengetahuan dan memperkaya wawasan data profil korelasi IL-6 dan Lp-LPA2 pada dengan IMA sehingga dapat menjadi dasar untuk penelitian selanjutnya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

“Bagaimana korelasi kadar Interleukin-6 dan Lipoprotein Associated Phospholipase A2 pada infark miokard akut?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Diketuainya korelasi kadar Interleukin-6 dan Lipoprotein Associated Phospholipase A2 pada infark miokard akut.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Diketahui kadar Interleukin-6 pada infark miokard akut (Stemi dan Nstemi)
2. Diketahui kadar Lipoprotein Associated Phospholipase A2 pada infark miokard akut (Stemi dan Nstemi)
3. Diketahui korelasi Interleukin-6 dan Lipoprotein Associated Phospholipase A2 pada infark miokard akut (Stemi dan Nstemi)

1.4 Manfaat Penelitian

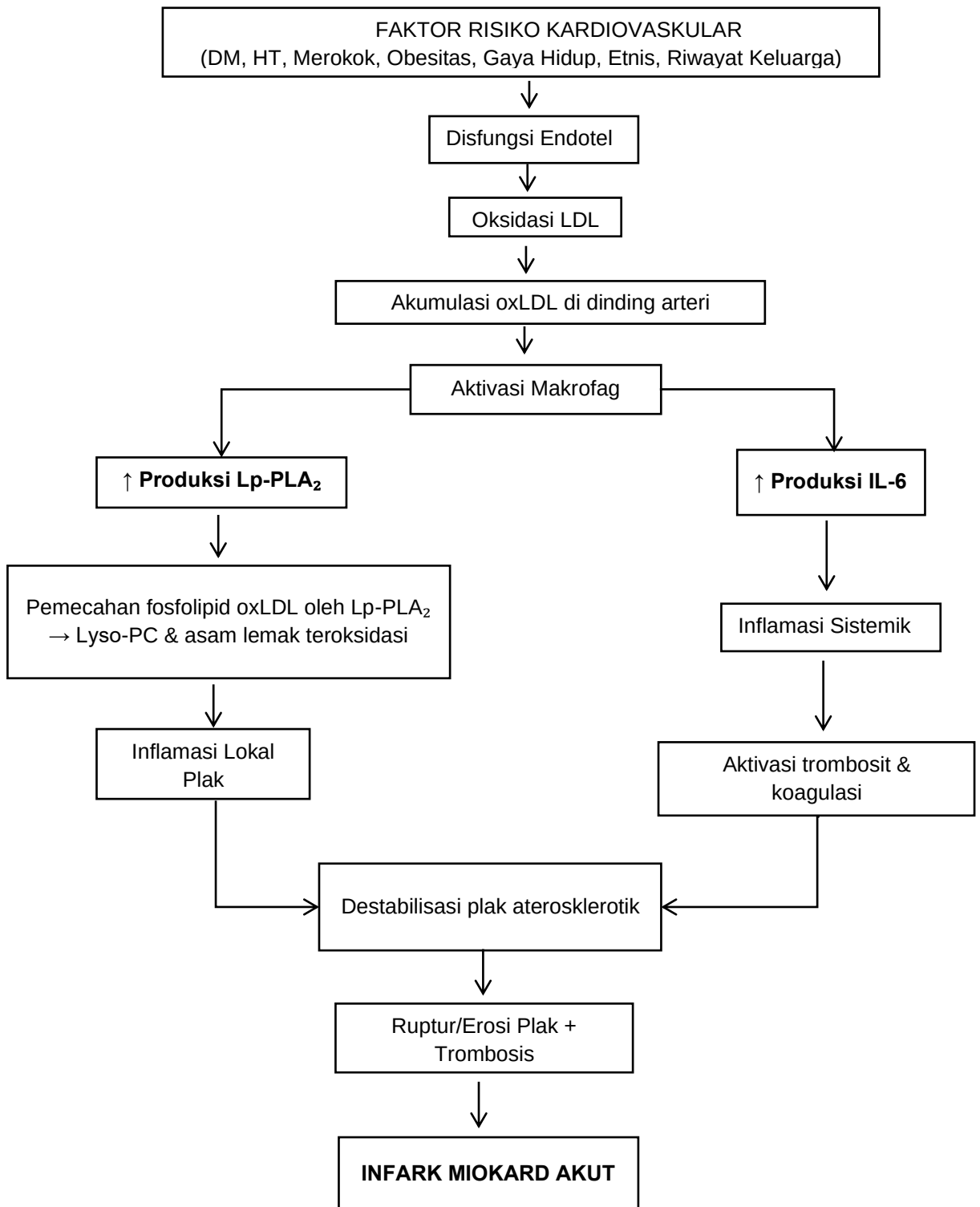
1.4.1 Manfaat Bagi Aplikasi Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai hubungan antara Interleukin-6 dan Lipoprotein Associated Phospholipase A2 pada infark miokard akut, serta menjadi bahan pertimbangan bagi para klinisi dalam memprediksi perkembangan infark miokard akut.

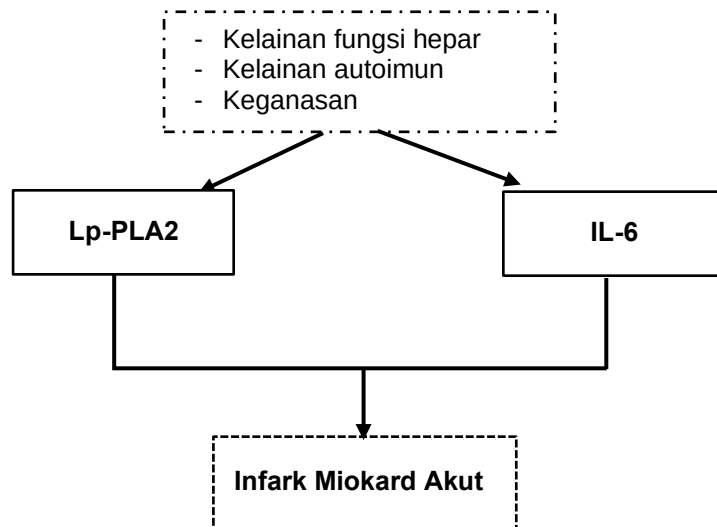
1.4.2 Manfaat Bagi Pengembangan Penelitian

1. Menambah wawasan dan pengetahuan mengenai Interleukin-6 dan Lipoprotein Associated Phospholipase A2 sebagai biomarker pada infark miokard akut.
2. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai bahan literatur atau pertimbangan dan membuka wawasan untuk penelitian lebih lanjut.

1.5 Kerangka Teori



1.6 Kerangka Konsep



Keterangan:

-  Variabel Bebas
-  Variabel Tergantung
-  Variabel Perancu

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan metode *cross sectional*.

2.2 Tempat Dan Waktu

2.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Makassar untuk pengambilan sampel dan data penelitian. Unit Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Universitas Hasanuddin untuk pemeriksaan Interleukin-6 dan Lipoprotein Associated Phospholipase A2 serum menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

2.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juli 2025 hingga selesai.

2.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh subjek dengan infark miokard akut di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar

2.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian yaitu semua populasi terjangkau yang didiagnosis infark miokard akut oleh klinisi dokter Spesialis Jantung dan Pembuluh darah di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar yang memenuhi kriteria penelitian.

2.5 Perkiraan Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan metode *consecutive sampling* yaitu bersifat eksploratif dengan mengambil seluruh sampel yang memenuhi kriteria selama periode penelitian sampai cukup minimal jumlah standar sampel. Besaran sampel korelasi menggunakan uji korelasi pearson dapat digunakan rumus yang dikembangkan oleh Cohen (1988):

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2}{Effect\ size} + 3$$

Keterangan:

$Z\alpha$ = Nilai Standar untuk 0.05 = 1.96

$Z\beta$ = Untuk kekuatan 80% = 0.84

Effect size (r) = Korelasi yang diperkirakan, $r = 0.4 = 0.1905$ dengan rumus

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2}{0.1905} + 3$$
$$n = \frac{(2.8)^2}{0.1905} + 3$$

$$n = \frac{7.84}{0.1905} + 3$$

$$n = 41.16 + 3 \approx 44$$

Jumlah minimal sampel untuk menilai kemaknaan secara statistik maka diperlukan minimal 44 sampel.

2.6 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

2.6.1 Kriteria Inklusi

1. Usia >18 tahun, riwayat hipertensi, merokok, diabetes melitus tipe 2, obesitas dan terdiagnosis *Non-ST Elevation Myocardial Infarction* dan *ST Elevation Myocardial Infarction* oleh klinisi dokter spesialis jantung dan pembuluh darah
2. Bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2.6.2 Kriteria Eksklusi

1. Kelainan gangguan fungsi hepar
2. Riwayat autoimun
3. Riwayat keganasan
4. Sampel ikterik, lisis, lipemik yang tidak dapat dilakukan pengambilan sampel ulang

2.7 Izin Subjek Penelitian dan Kelayakan Etik

Setiap tindakan dalam penelitian ini dilakukan setelah pemberian informasi dan atas izin subjek melalui lembar *informed consent*. Penelitian akan dilaksanakan apabila telah dinyatakan memenuhi persyaratan etik untuk dilaksanakan oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan Nomor : 298/UN4.6.4.5.31/PP36/2025 tanggal 8 Mei 2025 dan izin penelitian dari Bidang Pendidikan dan Penelitian Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo Nomor : DP.04.03/D.XIX.2/11940/2025

2.8 Pengumpulan data

2.8.1 Alokasi Subyek

Penelitian dilakukan pada populasi yang didiagnosis infark miokard akut yang memeriksakan diri di RS Wahidin Sudirohusodo Makassar yang memenuhi kriteria inklusi dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

2.8.2 Cara Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan beberapa tahap sebagai berikut:

1. Melakukan pencatatan identitas subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dan memberikan penjelasan lengkap mengenai tujuan dan manfaat penelitian, serta memberikan kuisioner.
2. Subyek penelitian / wali mengisi dan menandatangani *informed concent* sebagai tanda persetujuan.

3. Pengambilan sampel darah vena pada subjek penderita infark miokard akut sebanyak 3 mL dalam tabung tanpa antikoagulan untuk pemeriksaan IL-6 dan Lp-LPA2 serum.
4. Pemeriksaan IL-6 dan Lp-LPA2 serum dengan metode ELISA di Unit Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Universitas Hasanuddin.

2.9 Prosedur Tes Laboratorium

2.9.1 Pemeriksaan Interleukin-6

2.9.1.1 Pre analitik

A. Persiapan Sampel

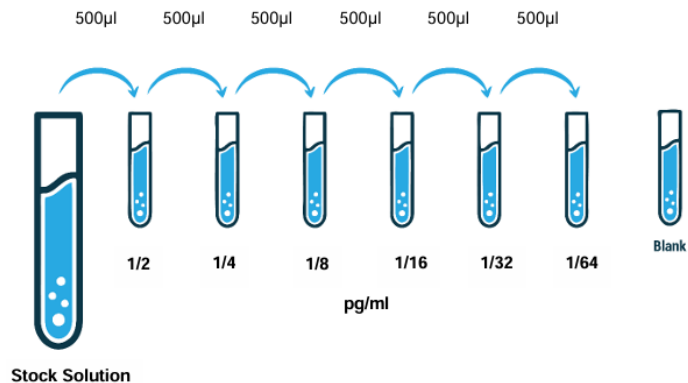
Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah serum yang diperoleh dari prosedur flebotomi. Sampel dari tabung tanpa antikoagulan di biarkan menggumpal selama 2 jam pada suhu kamar atau 24 jam pada suhu 4°C sebelum di sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 1000 rpm pada 2~8°C. Supernatan di kumpulkan untuk dilakukan pengujian. Sampel stabil selama 5 hari pada penyimpanan suhu 4 °C, dapat di simpan hingga 1 bulan pada suhu -20°C, hingga 2 bulan pada suhu -80°C.

B. Alat dan Bahan

1. Microplate reader
2. Pipet presisi dan tip disposibel
3. Inkubator
4. Sentrifugator
5. Tabung darah
6. Kertas saring
7. Aquades
8. ELISA reader
9. Sampel serum
10. Reagen Interleukin-6

C. Persiapan Reagen

1. Preparasi Reagen
Semua reagen harus didiamkan pada suhu kamar (18~25°C) sebelum digunakan.
2. Pengenceran Standar
Encerkan larutan standar dengan 1 mL buffer, simpan selama 10 menit pada suhu kamar, kocok perlahan (jangan sampai berbusa). Konsentrasi standar dalam larutan stok adalah 500 pg/mL. Siapkan 7 tabung yang berisi 0.5mL diluent buffer dan gunakan standar yang diencerkan untuk menghasilkan seri pengenceran ganda sesuai dengan gambar di bawah ini. Campur setiap tabung secara menyeluruh sebelum transfer berikutnya. Siapkan seri pengenceran dengan 7 poin. Beri label 7 tabung Eppendorf masing-masing dengan 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 dan kosong dan tabung EP terakhir dengan Buffer Pengencer adalah 0 pg/mL kosong.



Gambar 2.1. Pengenceran Standar Reagen IL-6
(Sumber: Technical Manual AssayGenie)

3. Reagen Deteksi A dan Reagen Deteksi B
Centrifuge larutan Deteksi A dan Deteksi B sebelum digunakan. Encerkan ke konsentrasi kerja dengan Buffer Pengencer masing-masing (1:100).
4. Wash Buffer
Untuk memperoleh 600 mL wash buffer, encerkan 20mL konsentrat wash buffer (30×) dengan 580mL air deionisasi atau air suling.
5. TMB Substrate
Aspirasikan dosis larutan yang dibutuhkan dengan ujung yang disterilkan. Jangan buang sisa larutan kembali ke dalam vial.

2.9.1.2 Analitik

A. Prinsip Tes

Pemeriksaan ini menggunakan prinsip *Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Pelat mikrotiter telah dilapisi sebelumnya dengan antibodi khusus untuk IL-6. Standar atau sampel kemudian ditambahkan ke sumur pelat mikrotiter yang sesuai dengan persiapan antibodi terkonjugasi biotin yang khusus untuk IL6. Selanjutnya, Avidin yang dikonjugasikan dengan *Horseradish Peroxidase* (HRP) ditambahkan ke setiap sumur pelat mikro dan diinkubasi. Setelah larutan substrat TMB ditambahkan, hanya sumur yang mengandung IL-6, antibodi terkonjugasi biotin, dan Avidin terkonjugasi enzim yang akan menunjukkan perubahan warna. Reaksi enzim-substrat dihentikan dengan penambahan larutan asam sulfat dan perubahan warna diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 450nm ± 10nm. Konsentrasi IL6 dalam sampel kemudian ditentukan dengan membandingkan OD sampel dengan kurva standar.

B. Cara Kerja

1. Tentukan sumur untuk larutan standar, kontrol, dan sampel yang diencerkan. Siapkan 7 sumur untuk standar, 1 sumur kosong. Tambahkan 100µL masing-masing pengenceran standar, kontrol, dan

- sampel ke dalam sumur yang sesuai. Tutup dengan penyegel Plat. Inkubasi selama 2 jam pada suhu 37°C.
2. Buang cairan dari setiap sumur, jangan dicuci.
 3. Tambahkan 100µL larutan kerja Reagen Deteksi A ke setiap sumur, inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C setelah menutupnya dengan penyegel Plat.
 4. Aspirasi larutan dan cuci dengan 350µL wash buffer 1× ke setiap sumur menggunakan botol semprot, pipet multisaluran, dispenser manifold, atau pencuci otomatis, dan biarkan selama 1~2 menit. Buang sisa cairan dari semua sumur sepenuhnya dengan mengetuk pelat ke kertas penyerap. Cuci secara menyeluruh sebanyak 3 kali. Setelah pencucian terakhir, singkirkan sisa wash buffer dengan cara menyedot atau menuangkannya. Balikkan pelat dan tepuk-tepukkan pada kertas penyerap.
 5. Tambahkan 100µL larutan kerja Reagen Deteksi B ke setiap sumur. Inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C setelah menutupnya dengan penyegel pelat.
 6. Ulangi proses aspirasi/pencucian sebanyak 5 kali seperti yang dilakukan pada langkah d.
 7. Tambahkan 90µL larutan substrat ke setiap sumur, tutup dengan penyegel pelat baru kemudian inkubasi selama 15-25 menit pada suhu 37°C. Lindungi dari cahaya. Cairan akan berubah menjadi biru dengan penambahan Larutan Substrat.
 8. Tambahkan 50µL *stop solution* ke setiap sumur. Cairan akan berubah menjadi kuning dengan penambahan *stop solution*. Campur cairan dengan mengetuk sisi pelat. Jika perubahan warna tidak tampak seragam, ketuk pelat dengan lembut untuk memastikan pencampuran menyeluruh.
 9. Bersihkan tetesan air dan sidik jari di dasar pelat dan pastikan tidak ada gelembung di permukaan cairan. Baca dengan mikropelat reader dengan pengukuran pada 450nm.

2.9.1.3 Pasca Analitik

Rentang deteksi pemeriksaan IL-6 serum adalah 7.81-500 pg/mL.

2.9.2 Pemeriksaan Lp-LPA2

2.9.2.1 Pre analitik

A. Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah serum yang diperoleh dari prosedur flebotomi. Sampel dari tabung tanpa antikoagulan di biarkan menggumpal selama 2 jam pada suhu kamar atau 24 jam pada suhu 4°C sebelum di sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 1000 rpm pada 2~8°C. Supernatan di kumpulkan untuk dilakukan pengujian. Sampel stabil selama 5 hari pada penyimpanan suhu 4°C, dapat di simpan hingga 1 bulan pada suhu -20°C, hingga 3 bulan pada suhu -80°C.

B. Alat dan Bahan

1. Microplate reader
2. Pipet presisi dan tip disposibel
3. Inkubator
4. Sentrifugator
5. Tabung darah
6. Kertas saring
7. Aquades
8. ELISA reader
9. Sampel serum
10. Reagen Lp-LPA2

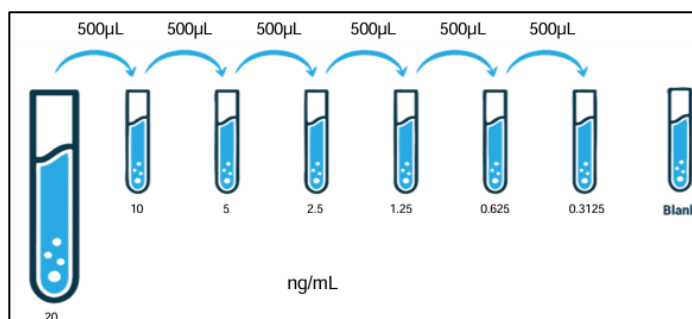
C. Persiapan Reagen

1. Preparasi Reagen

Semua reagen harus didiamkan pada suhu kamar (18–25°C) sebelum digunakan.

2. Pengenceran Standar

Sentrifus standar pada 10.000×g selama 1 menit. Tambahkan 1 mL reference standard dan sample diluent, diamkan selama 10 menit dan balikkan perlahan beberapa kali. Setelah larut sepenuhnya, campurkan secara menyeluruh dengan pipet. Rekonstitusi ini menghasilkan larutan kerja 20 ng/mL. Kemudian buat pengenceran serial sesuai kebutuhan. Gradien pengenceran yang disarankan adalah sebagai berikut: 10 ng/mL. Catatan: tabung terakhir dianggap sebagai tabung kosong. Jangan pipet larutan dari tabung sebelumnya ke dalamnya. Metode pengenceran: Ambil 7 tabung EP, tambahkan 500µL reference standard dan sample diluent ke setiap tabung. Pipet 500µL larutan kerja 20 ng/mL ke tabung pertama dan campur hingga menghasilkan larutan kerja 10 ng/mL. Pipet 500µL larutan dari tabung pertama ke tabung kedua sesuai dengan langkah-langkah dibawah ini.



Gambar 2.2. Pengenceran Standar Reagen Lp-LPA2
(Sumber: Technical Manual Assay Genie)

3. Biotinylated Detection Ab working solution
Hitung jumlah yang dibutuhkan sebelum percobaan (100µL/sumur). Dalam persiapan, sedikit lebih banyak dari yang dihitung harus disiapkan. Sentrifus tabung stok sebelum digunakan, encerkan 100× Ab Deteksi Biotinilasi Terkonsentrasi ke dalam larutan kerja 1× dengan Pengencer Ab Deteksi Biotinilasi.
4. Wash Buffer
Untuk memperoleh 750 mL wash buffer, encerkan 30mL konsentrat wash buffer dengan 720mL air deionisasi atau air suling.
5. Larutan kerja Konjugat HRP Terkonsentrasi
Hitung jumlah yang dibutuhkan sebelum percobaan (100µL/sumur). Dalam persiapan, jumlah yang sedikit lebih banyak dari yang dihitung harus disiapkan. Encerkan Konjugat HRP Terkonsentrasi 100x menjadi larutan kerja 1x dengan Pengencer Konjugat HRP Terkonsentrasi.

2.9.2.2 Analitik

A. Prinsip Tes

Pemeriksaan ini menggunakan prinsip *Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Plat ELISA yang disediakan dalam kit ini telah dilapisi sebelumnya dengan antibodi khusus untuk Human LpPLA2 (Phospholipase A2, Lipoprotein Associated). Standar atau sampel ditambahkan ke sumur plat ELISA dan digabungkan dengan antibodi yang dilapisi sebelumnya. Kemudian antibodi deteksi biotinilasi khusus untuk Human LpPLA2 (Phospholipase A2, Lipoprotein Associated) dan konjugat Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) ditambahkan berturut-turut ke setiap sumur plat dan diinkubasi. Komponen bebas dicuci, dan larutan substrat kemudian ditambahkan ke setiap sumur. Hanya sumur yang berisi antibodi deteksi biotinilasi dan konjugat Avidin-HRP yang akan berwarna biru. Reaksi enzim-substrat dihentikan dengan penambahan larutan penghenti dan warnanya berubah menjadi kuning. Kepadatan optik (OD) diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 450 nm ± 2 nm. Nilai OD sebanding dengan konsentrasi Human LpPLA2 (Phospholipase A2, Lipoprotein Associated). Konsentrasi Human LpPLA2 (Phospholipase A2, Lipoprotein Associated) dapat dihitung dalam sampel dengan membandingkan OD sampel dengan kurva standar.

B. Cara Kerja

1. Tentukan sumur standar, sampel uji, dan kontrol (nol) pada pelat yang telah dilapisi sebelumnya dan catat posisinya. Sebaiknya ukur setiap standar dan sampel secara rangkap dua. Catatan: tambahkan semua larutan ke dasar sumur pelat sambil menghindari kontak dengan dinding sumur. Pastikan larutan tidak berbusa saat ditambahkan ke sumur.
2. Tuangkan 100µl larutan standar ke dalam sumur standar.
3. Tambahkan 100µl buffer pengenceran Sampel/Standar ke dalam sumur kontrol (nol).

4. Tambahkan 100µl sampel yang diencerkan dengan benar (serum, plasma, homogenat jaringan, dan cairan biologis lainnya) ke dalam sumur sampel uji.
5. Tutupi pelat dengan sealer yang disediakan dalam kit dan inkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C.
6. Aspirasi cairan dari setiap sumur, jangan dicuci. Segera tambahkan 100µL larutan kerja Biotinylated Detection Ab ke setiap sumur. Tutupi pelat dengan segel pelat dan aduk perlahan. Inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
7. Aspirasi atau tuang larutan dari pelat dan tambahkan 350µL buffer pencuci ke setiap sumur dan inkubasi selama 1-2 menit pada suhu ruangan. Aspirasi larutan dari setiap sumur dan tepuk pelat pada kertas saring penyerap hingga kering. Ulangi proses ini 3 kali. Catatan: pencuci pelat mikro dapat digunakan pada langkah ini dan langkah pencucian lainnya.
8. Tambahkan 100µL larutan kerja Konjugat HRP ke setiap sumur. Tutup dengan segel pelat dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
9. Aspirasi atau tuang larutan dari setiap sumur. Ulangi proses pencucian lima kali seperti yang dilakukan pada langkah g.
10. Tambahkan 90µL Reagen Substrat ke setiap sumur. Tutup dengan segel pelat baru dan inkubasi selama sekitar 15 menit pada suhu 37°C. Lindungi pelat dari cahaya. Catatan: waktu reaksi dapat dipersingkat atau diperpanjang sesuai dengan perubahan warna aktual, tetapi tidak lebih dari 30 menit.
11. Tambahkan 50 µL Stop Solution ke setiap sumur. Catatan: Menambahkan stop solution harus dilakukan dengan urutan yang sama dengan menambahkan larutan substrat.
12. Tentukan *optical density* (nilai OD) setiap sumur segera dengan mikroplat reader yang diatur pada 450 nm.

2.9.2.3 Pasca Analitik

Rentang deteksi pemeriksaan Lp-LPA2 serum adalah 0.31-20 ng/mL.

2.10 Definisi Operasional Dan Kriteria Objektif

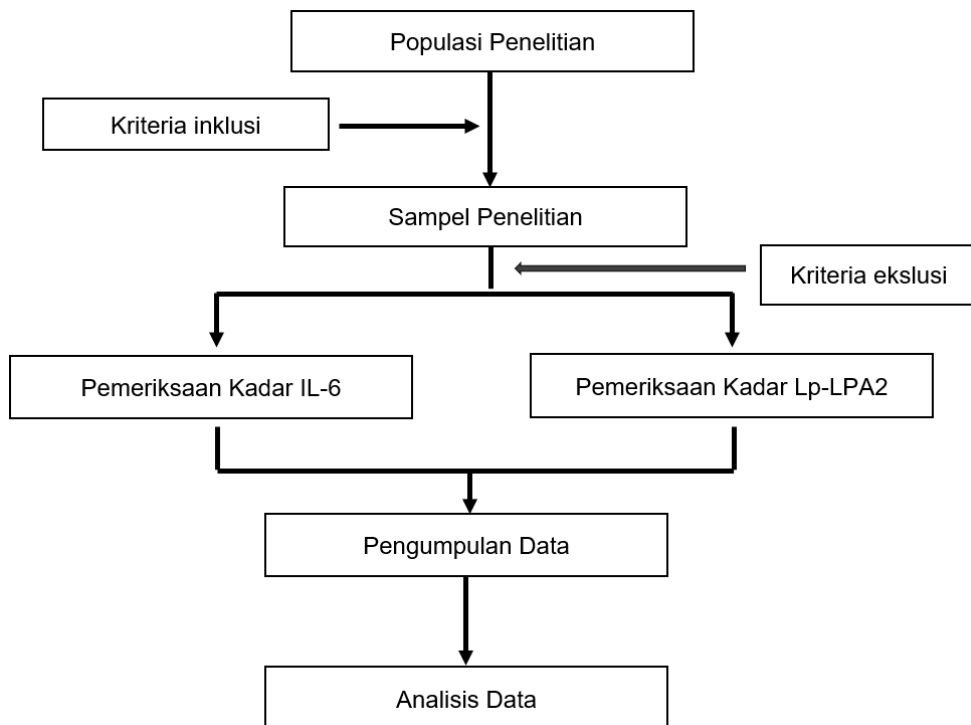
Beberapa batasan operasional pada penelitian ini adalah:

1. Infark Miokard Akut (IMA) adalah sekelompok penyakit yang menyebabkan penurunan aliran darah ke jantung, meliputi STEMI, NSTEMI.
 - a. Kriteria Objektif:

Diagnosis IMA ditegakkan berdasarkan anamnesis, pemeriksaan fisis dan pemeriksaan penunjang oleh klinisi dokter spesialis jantung dan pembuluh darah RS Wahidin Sudirohusodo Makassar yang tercatat di *medical record*.

2. Interleukin-6 adalah salah satu marker pro inflamasi, yang diperoleh dengan tes yang menggunakan metode ELISA.
 - a. Kriteria Objektif:
 - b. Kadar yang diperoleh berdasarkan pemeriksaan sampel serum dengan metode ELISA menggunakan kit insert AssayGenie yang dinyatakan dalam pg/mL, dengan nilai normal 0-7 pg/mL.
3. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adalah enzim proinflamasi yang disekresikan oleh makrofag yang terutama terikat pada LDL dalam sirkulasi.
 - a. Kriteria Objektif:
 - b. Kadar yang diperoleh berdasarkan pemeriksaan sampel serum dengan metode ELISA menggunakan kit insert AssayGenie yang dinyatakan dalam ng/mL, dengan nilai normal <200 ng/mL.

2.11 Alur Penelitian



Gambar 2.3. Alur penelitian

2.12 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS Versi 26. Metode statistik yang digunakan adalah perhitungan statistik deskriptif (sebaran data, nilai tengah/median, nilai rerata/mean, dan standar deviasi). Distribusi data IL-6 dan Lp-

LPA2 dinilai menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov (jumlah sample lebih dari 50). Analisis kadar IL-6 dan Lp-LPA2 pada pasien IMA menggunakan uji Mann-Whitney data distribusi tidak normal. Korelasi kadar IL-6 dan Lp-LPA2 pada pasien IMA menggunakan uji Spearman's rho data terdistribusi tidak normal. Hasil uji statistik signifikan jika nilai $p \leq 0.05$.