

PENGEMBANGAN SISTEM PROSES *RETTING* SERAT KENAF (*Hibiscus cannabinus L.*) MENGGUNAKAN KULTUR MIKROBIAL PADA LINGKUNGAN NON-ASEPTIK

(*Retting System Development of Kenaf Fibre (Hibiscus cannabinus L.) by Microorganism Cultured in a Non-Aseptic Condition*)

Makhmudun Ainuri¹⁾, Gumbira Said, Mohammad Romli²⁾ dan Sudjindro³⁾

ABSTRACT

Kenaf fibres is one of the primary fibre commodities in Indonesia. However, the national total production of the fibre meets only 20-30% of the national consumption. In addition, most of the fibre quality is still low, where, 15-20 % of the fibre grouped into quality A, 40-50 % quality B and the rest, is grouped into quality C. It is likely that the *retting* process in the chain of fibre production is the main source of its low quality.

In order to reduce *retting* time and improve the fibre quality obtained, various efforts have been done to improve the *retting* processes, including the use of integrated processes of microbiological, mechanical and semi mechanical processes. The addition 2.5 % of adaptive starter of *Bacillus polymyxa* BCC-27 into *retting* process was insignificant ($p > 0.05$). It is likely that the case was nullified by the addition of 0.005 % urea.

The six and three hour per day circulation treatments could enhance the condition of *retting* processes; mainly pH and temperature, but still less than DO. Without circulation insignificant ($P > 0.005$) toward the degradation of pectin, holocellulose, cellulose and lignin.

The fibre produced by the sixth combination treatments, that are circulation treatments and 0.05 % urea by culture enrichment 2.5 % meets the standart quality A. End-point *retting* or top *retting* accured on the process period of after five day. The process is still under *retting* on the fifth day, but over *retting* after the seventh day.

PENDAHULUAN

Serat kenaf dihasilkan oleh tanaman kenaf (*Hibiscus cannabinus L.*) yang merupakan salah satu varietas andalan penghasil serat di Indonesia. Di India dan Bangladesh serat kenaf dipergunakan untuk berbagai keperluan, misalnya untuk karung goni, tekstil, karpet, harboard, industri perkapalan, dan kerajinan (IJO, 1983). Di Indonesia, walaupun terbatas untuk pemenuhan kebutuhan karung dalam negeri, namun kebutuhan serat baru terpenuhi 20-30% dari produk nasionalnya (BPS, 1989). Untuk menutupi kekurangan pemerintah mengimport serat dari Bangladesh, India, Republik Rakyat Cina dan Vietnam (Balittas, 1988).

Dilain pihak, mutu serat yang dihasilkan petani masih rendah. Mutu A hanya berkisar 15 - 20 %, mutu B 40 - 50 % dan sisanya mutu C. Untuk meningkatkan mutu serat diperlukan suatu kajian terhadap faktor-faktor yang berpengaruh terhadap mutu serat. Dari mata rantai industri serat kenaf diketahui bahwa proses *retting* merupakan proses penentu mutu serat (Ali, 1993; Alam, 1993c). Proses *retting* menurut Peikun (1993) adalah proses pemisahan atau ekstraksi serat dari material non-serat dengan cara merendam batang atau *ribbon* kenaf dalam air dan melibatkan aktivitas enzim kompleks mikroorganisme yang ada di dalamnya. Ada dua fase proses dalam *retting*, yakni fase fisik dan fase biokimia.

Dalam pelaksanaan proses *retting* dijumpai banyak masalah, diantaranya (1) tidak terpenuhinya persyaratan teknis proses *retting* secara ilmiah, seiring dengan pemanfaatan air irigasi maupun lahan secara efisien dan berencana, (2) kondisi proses kurang sehat (berbau tidak sedap) dan (3) memerlukan cukup banyak waktu, tenaga dan biaya. Oleh karena itu timbul pemikiran bahwa sebaiknya *retting* tidak dilakukan oleh petani penghasil, melainkan oleh koperasi, swasta atau instansi terkait dalam bentuk sentra-sentra *retting* (Sastrosupadi dan Isdijoso, 1993).

Mullen (1960) melaporkan bahwa beberapa faktor yang berpengaruh terhadap proses *retting*, antara lain mutu dan nisbah *ribbon*-air yang digunakan, kematangan *ribbon*, varietas kenaf, penambahan nitrogen atau bahan kimia lain, noda bekas serangan hama, suhu dan pH liquor, kandungan asam tidak menguap, dan kandungan padatan total dalam liquor. Air artetis tidak menurunkan mutu serta, tetapi proses *retting* berjalan lambat (Mullen, 1960), sedang *ribbon* basah-air optimal adalah antara 1:20 - 1:40 (Peikun, 1993).

Ketiga kultur bakteri, yakni *Bacillus polymyxa*, *B. subtilis* dan *B. pumilus* adalah kultur potensial dalam *retting* (Ghosh, 1983, Peikun, 1993 dan Alam 1993b), dipilih salah satu yang paling unggul untuk dikembangkan sebagai kultur pemer kaya. Penambahan starter juga dapat memacu aktifitas mikroorganisme *retting*, sehingga proses dapat berlangsung lebih efektif dan terhadap mutu serat memiliki korelasi yang positif (Mullen, 1960, Muhiuddin,

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan TIP-FTP UGM Yogyakarta,

²⁾ Staf Pengajar TIN-FATETA IPB Bogor,

³⁾ Staf Peneliti BALITTAS Malang

1992 dan Peikun, 1993). Media suplemen sebagai nutrisi pemerkaya adalah urea, yang secara teknis telah mampu mempersingkat waktu *retting* dan meningkatkan mutu serat (Mullen, 1960, Peikun, 1993, dan Sastrosupadi dan Isdijoso, 1993), serta mudah diperoleh di pasar. Penggunaan kolam yang dilengkapi sistem agitasi dan sirkulasi *liquor*, yang dapat mempercepat proses oksidasi, diperlukan dalam proses *retting* guna meningkatkan efisiensi (Mullen, 1960; Ali, 1992).

Salah satu alternatif pemecahan masalah penyediaan serat baik dalam jumlah maupun mutu serat adalah pengembangan proses *retting* sebagai suatu kesatuan sistem biokatalis, bahan baku atau media dan kolam *retting*. Untuk itu, dalam penelitian dilakukan penambahan kultur unggulan sebagai biokatalis, formulasi media suplemen sebagai nutrisi pemerkaya, dan rancang bangun kolam sirkulasi sebagai upaya pemenuhan persyaratan kondisi pertumbuhan mikroorganisme *retting*.

TUJUAN

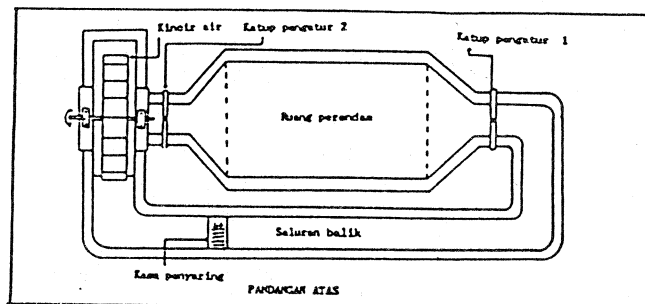
1. Mempelajari pengaruh penambahan kultur unggulan dan media suplemen (pemer kaya) dengan atau tanpa sirkulasi dalam proses *retting* serat kenaf.
2. Merancang model kolam *retting* yang secara konstruksional dan fungsional dapat dioperasikan secara baik.
3. Peningkatan efektifitas proses *retting* serat kenaf yang selama ini masih memerlukan cukup banyak waktu, tenaga, dan biaya.
4. Memperoleh petunjuk operasional batasan proses *retting*, sehingga mutu proses *retting* dan mutu serat kenaf yang dihasilkan lebih baik.

METODOLOGI

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mekanisasi dan Teknologi Hasil dan Kebun Percobaan BALITTAS Malang, Laboratorium Perbengkelan FTP-UGM dan Laboratorium Teknologi Hasil Hutan FKT-UGM Yogyakarta.

Bahan yang digunakan meliputi kulit kenaf (*ribbon*) varietas HC-G4, yang berasal dari tanaman berumur 120-130 hari, kultur *Bacillus Subtilis* BCC-2271, *B. pumilus* BCC-610 dan *B. polymixa* BCC-27 yang diperoleh dari CCAM Balitvet Bogor, Media Nutrien Agar (NA) Difco 0001 dan urea. Bahan kimia untuk analisis COD, N-organik, pH, kadar pektin, holoselulosa, lignin, dan selulosa.

Alat yang digunakan meliputi alat untuk pengujian, diantaranya unit kolam *retting* sirkulasi (**Gambar 1**), motor listrik, pengatur kecepatan, labu goyang, dsb, serta alat ukur atau analisis, seperti DO dan pH meter, termometer, timbangan analitis, dan tenacitester.



Gambar 1. Model kolam *retting* sirkulasi

Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian mencakup tiga bagian utama atau subsistem dari sistem proses *retting*, dan pengujian kinerja sistem proses *retting*. Ketiga subsistem tersebut adalah (1) subsistem biokatalis, (2) subsistem media suplemen, dan (3) subsistem kolam *retting*. Pengujian sistem proses *retting* dilaksanakan dalam enam kombinasi perlakuan dan tiga ulangan, dilakukan di lapang (kebun percobaan Balittas Malang).

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dimulai dari survey lapangan, kemudian pengujian di tingkat laboratorium dan penerapannya di lapang. Survey lapang dimaksudkan untuk melihat secara langsung permasalahan proses *retting*, kemudian diidentifikasi dan dianalisa guna memperoleh alternatif pemecahannya. Di lain pihak penelitian di tingkat laboratorium merupakan dasar dari penelitian di lapang, yang meliputi persiapan kultur potensial, pemilihan kultur unggulan dan formulasi media suplemen (nutrien pemerkaya), optimasi jumlah starter dan pemantapan perlakuan sirkulasi.

Formulasi media suplemen dan pemilihan kultur unggulan dilakukan secara bersamaan. Formula media yang diuji terdiri atas *ribbon* 5 % (10 g) ditambahkan urea masing-masing 0.05, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00 dan 2.00 % (0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, dan 4.0 g) dan air 200 ml. Masing-masing formula diinokulasi dengan salah satu kultur mikrobal pada tingkat propagasi sebanyak 5 % dari volume air (10 ml), yang diperlakukan bagi 3 kultur secara menyilang.

Optimasi starter dilakukan pada formula media suplemen terpilih dengan menginokulasi 0 % (kontrol), 1.25, 2.50, 5.00, 7.50, 10.00 dan 20.00 % starter adaptif yang juga berasal dari pertumbuhan dalam formula media optimal. Pemantapan perlakuan sirkulasi menggunakan goncangan, dengan durasi goncangan masing-masing 0 (kontrol), 3, 6, dan 9 jam per hari, dan diperlakukan pada kultur unggulan (*B. polymixa* BCC-27). Parameter yang dijadikan tolok ukur meliputi perubahan warna atau kekeruhan, padatan total *liquor* dan perubahan sifat fisik *ribbon*.

Terdapat dua faktor yang diteliti pada penerapan di lapang sebagai langkah pengujian kinerja sistem, proses *retting*, yakni (1) penambahan nutrisi pemerkaya (urea) dan sirkulasi *liquor* dengan putaran 10-12 rpm, dan (2) penambahan starter kultur unggulan. Faktor pertama terdiri atas tiga taraf, yakni (1) penambahan urea 0.05 % dari bobot air *retting* dengan 0 jam sirkulasi per hari (MPS-0), (2) penambahan urea 0.05 % dengan sirkulasi 3 jam per hari (MPS-3) dan (3) penambahan urea 0.05 % dengan 6 jam sirkulasi per hari (MPS-6). Faktor kedua terdiri atas dua taraf, yakni (1) penambahan starter adaptif kultur *B. polymixa* BCC-27 0 % (KBP-0) dan (2) penambahan starter kultur adaptif *B. polymixa* BCC-27 2.5 % dari bobot air *retting* (KBP-25). Jumlah kolam yang diperlukan adalah 6 buah dengan kapasitas 1.40 m³. Pengujian dilakukan dengan formulasi bobot *ribbon* 65 kg (5%), urea 0.65 kg (0.05%), starter 0 dan 2.5 % (0 dan 32.51), dan air 1.3 m³ (100%).

Peubah yang diamati

Peubah yang diamati meliputi perubahan sifat fisik - kimia dan mikrobiologi *liquor*, perubahan sifat fisik-kimia *ribbon* kenaf dan mutu serat yang dihasilkan. Tidak semua parameter pada masing-masing peubah diamati secara periodik, melainkan ada yang hanya pada akhir proses *retting*. Parameter yang diamati secara periodik meliputi suhu, pH, kandungan oksigen terlarut, kandungan padatan total dan N-organik *liquor*, perubahan struktur, warna, degradasi pektin, lignin, holoselulosa dan selulosa *ribbon* kenaf, kekuatan, kehalusan, elastisitas dan baku mutu serat yang dihasilkan.

Periode waktu pengamatan dilakukan pada hari ke-0, 3, 5, 7, dan ke-8 dari proses *retting*. Pengukuran total count dan COD dilakukan pada akhir proses. Untuk selanjutnya parameter tersebut dikelompokkan sesuai dengan fungsinya, yaitu (1) parameter proses, (2) parameter mutu serat, dan (3) parameter limbah.

Analisis Data

Data hasil pengamatan dikelompokkan menjadi dua, yakni data kualitatif yang dianalisa secara deskriptif, dan data kuantitatif yang dianalisa menggunakan pendekatan grafis dan statistik. Tidak semua data kuantitatif dianalisa statistik, namun dipilih yang diduga memiliki tingkat penyebaran dan korelasi memadai. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan percobaan petak terbagi (Split-plot) 3x2 dengan 3 ulangan, sebagai petak utama perlakuan penambahan urea 0.05 % dan sirkulasi, dan anak petak perlakuan starter kultur unggulan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Survey Lapang

Survey lapang dilakukan di sentra produksi serat Jawa Timur, termasuk dalam wilayah binaan PTP XXIV-XXV Surabaya. Dari survey diketahui bahwa rendahnya mutu

serat disebabkan oleh proses *retting* yang tidak memenuhi syarat teknis. Proses *retting* dilakukan di sembarang tempat, mutu air dan nisbah kenaf air tidak diperhatikan, digunakan pemberat pohon pisang atau ditimbuni lumpur dan ada yang sengaja ditanam dalam tanah. Mutu serat yang dihasilkan pada umumnya bermutu B atau C. Perbedaan harga serat mutu A, B, dan C berturut-turut adalah Rp 625,-, Rp 550,-, dan Rp 375,- per kg, belum dapat merangsang petani untuk menghasilkan serat bermutu A.

Kultur Starter dan Nutrien Pemerkaya

Ketiga kultur bakteri terseleksi, yakni *Bacillus pumilus* BCC-610, *B. subtilis* BCC-2271 dan *B. polymixa* BCC-27 dalam ampul liofilisasi diremajakan, lalu disimpan pada agar miring dalam ruang dingin. Untuk kemudian digunakan sebagai stok kultur dalam penyiapan kultur propagasi dan starter adaptif. Laju operasi *retting* ketiga kultur di tingkat laboratorium relatif sama, namun berdasarkan tingkat kesatbilan, kecepatan pertumbuhan, kenampakan koloni dan asal kultur, maka *B. polymixa* BCC-27 ditetapkan sebagai kultur unggulan. Di lain pihak penambahan starter adaptif dari pertumbuhan kultur *B. polymixa*, terlihat bahwa starter 20 % justru terlambat pada awal-awal proses, walaupun pada hari ke-6 juga sudah siap diseratkan. Berdasarkan perubahan sifat fisik *liquor* terutama padatan total, penambahan starter 1.25, 2.5, 5 dan 7.5 % memberikan nisbah padatan total *liquor* dengan padatan non-serat *ribbon* 0.59, 0.58, 0.53 dan 0.60 yang lebih tinggi dibanding 10, 20, dan 0 %, yakni 0.52, 0.49 dan 0.45. Tetapi penambahan starter 2.5 - 7.5 % menunjukkan kelebihan pada parameter kualitatif, maka starter 2.5 % dipilih sebagai dosis optimal.

Dalam formulasi penambahan urea yang dimulai dari 0.05, 0.10, 0.25, 0.5, 1.0 dan 2.0 % menunjukkan laju operasi relatif sama dalam proses *retting*. Tetapi penambahan urea 0.25 - 2 % mengakibatkan peningkatan padatan total *liquor* melebihi padatan *ribbon* yang seharusnya terlepas ke *liquor*. Hal ini terlihat pada nisbah padatan total *liquor* dengan padatan non-serat *ribbon* lebih besar dari satu, bahkan sampai 5 pada penambahan urea 0.05 - 0.1 % tidak meningkatkan padatan total *liquor*. Dengan demikian dosis urea 0.05 % ditetapkan sebagai dosis optimal.

Pemantapan Perlakuan Sirkulasi

Pemantapan sirkulasi sebagai fungsi agitasi dan aerasi digunakan kincir air cukup efektif. Putaran kincir optimal berdasarkan efektivitas kerjanya berada antara 10 - 12 rpm dengan kedalaman bucket tenggelam dalam air sebatas volume buCKET, yakni 12 cm.

Hasil pemantapan perlakuan sirkulasi menunjukkan bahwa goncangan 6 jam/hari memberikan kelebihan dibanding 3 dan 9 goncangan/hari. Nisbah padatan total dengan padatan non-serat *ribbon* 6 jam goncangan/hari menunjukkan nilai tertinggi (0.64), baru 3 jam/hari (0.61),

0 jam/hari (0.60) dan 9 jam/hari (0.44). Demikian halnya terhadap mutu serat yang dihasilkan.

Warna serat untuk 6 dan 3 jam goncangan/hari putih berkilau, sedang 0 jam/hari putih kehijauan dan 9 jam/hari putih kecoklatan. Warna serat putih kehijauan mengindikasikan proses *retting* belum selesai (*under retting*), sedang putih kecoklatan menunjukkan keterlambatan proses karena ketidakseimbangan antara perombakan mikriorganisme dengan pelepasan senyawa organik ke *liquor*.

Kinerja Kualitatif Sistem Proses *Retting*

Penambahan Urea 0.05 % secara visual tidak merubah sifat fisik *liquor*, tetapi penambahan starter adaptif 2.5 % (KBP-25) menyebabkan perubahan, terutama aroma dan kekeruhan *liquor*. Pada hari pertama *retting*, pengaruh KBP-25 terlihat lebih jelas, terutama aroma dan kekeruhan *liquor*, serta pembentukan slat di permukaan *liquor*, yang belum terlihat pada KPB-0. Pengaruh KBP-25 terhadap pembentukan slat semakin jelas sampai hari ke-3, khususnya pada perlakuan MPS-6 relatif tidak tampak. Hal ini disebabkan pengaruh MPS-3 dan MPS-6 terhadap laju pembentukan slat lebih besar. Bahkan sampai hari ke-7 pembentukan slat pada MPS-3 dan MPS-6 masih cukup tinggi, yang sudah tidak terjadi pada MPPS-0, baik untuk KBP-0 maupun KBP-25. Fenomena ini mengindikasikan bahwa proses aerobik pada MPS-3 dan MPS-6 masih aktif, sehingga produk samping berupa gas H₂S, NH₄, CO₂, dan H₂ masih tinggi dan diantaranya menjadi slat pada malam hari.

Perubahan struktur *ribbon* terjadi seiring dengan perubahan kekeruhan dan warna *liquor*. Warna *liquor* yang semula kecoklatan berubah menjadi kehijauan disebabkan oleh terlepasnya material non-serat *ribbon* yang mengandung khlorofil ke dalam *liquor*. Kejadian ini mulai terlihat sejak hari ke-3 dan hari ke-5 semakin jelas bahwa hancuran material non-serat terlihat melayang-layang dalam *liquor*. Menginjak hari ke-5 pada MPS-0 juga terlihat adanya kehidupan baru berupa rizooplankton sejenis ganggang dan makro zoo-plankton sejenis larva nyamuk dan binatang crustasea, yang pada MPS-3 dan MPS-6 relatif terlambat dan populasinya tidak sepadat pada MPS-0. Dalam kondisi demikian, laju proses antara perlakuan sudah sukar dibedakan.

Kinerja Kuantitatif Sistem Proses *Retting*

1. Parameter proses

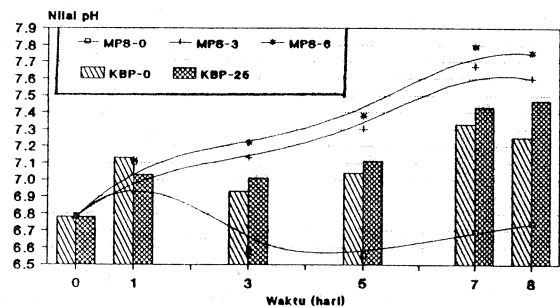
Perlakuan KBP-25 walaupun mempunyai nilai pH cenderung lebih tinggi (7.03 - 7.47) dibanding KBP-0 (6.93 - 7.33), namun tidak berbeda nyata ($P > 0.05$). Kisaran nilai pH keduanya masih dalam batasan laik untuk proses *retting*, yakni 6 - 8 (Ali, 1992). Pola perubahan nilai pH KBP-25 dan KBP-0 pada MPS-0 yang naik pada hari ke-1 dan menurun pada hari ke-3 mengindikasikan terjadinya perombakan makro karbohidrat menjadi asam-asam organik, sedang peningkatan pada hari ke-7 dan ke-8

dikarenakan terjadinya dekomposisi asam-asam organik ke dalam CO₂ dan air.

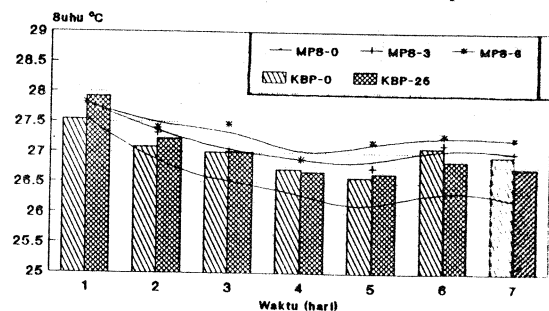
Di lain pihak perlakuan MPS-3 dan MPS-6 dapat mempertahankan dan bahkan meningkatkan nilai pH dari 6.78 menjadi 7.03 dan 7.11 pada hari ke-1 dan terus meningkat mendekati nilai pH optimal (7.78) pertumbuhan mikroorganisme potensial *retting* (Gherma, *et al*, 1989). Peningkatan nilai pH pada MPS-3 dan MPS-6 yang berbeda nyata ($P > 0.05$) dengan MPS-0 dapat disebabkan; (1) terpecahnya slat pada permukaan *liquor* yang dapat menghambat terlepasnya by product berupa biogas dan bersifat asam, (2) perlakuan sirkulasi memaksa by product yang bersifat volatil terlepas ke atmosfer, (3) merangsang meningkatnya proses *retting*, produk biogas dan slat yang optimal pada pH 6.6 - 7.6 dan suhu 35°C (Alam dan Ali, 1993) dan (4) memacu dekomposisi asam-asam organik menjadi karbondioksida dan air, sehingga tingkat keasamannya turun.

Perbaikan nilai pH oleh perlakuan MPS-3 dan MPS-6 diikuti oleh distribusi suhu *liquor* yang merata antara kedalaman kolam, karena fungsi agitasi dan sirkulasi berjalan dengan baik. Meratanya suhu menjamin keseragaman mutu serat yang dihasilkan (Alam, 1993a) dan meningkatnya rataan suhu mendekati suhu optimal (28 - 32°C) (Gherma, *et al*, 1989). Suhu kritis untuk *retting* adalah di bawah 22°C dan di atas 40°C (Ali, 1992). Pola perubahan nilai pH dan suhu disajikan pada Gambar 2 dan Gambar 3.

Perlakuan sirkulasi yang diharapkan dapat meningkatkan nilai DO *liquor*, ternyata tidak dapat. Hal ini diduga peran sirkulasi dalam memasok O₂ tidak terimbangi dengan daya jerat *liquor*. Rendahnya daya jerat *liquor* terhadap O₂ disebabkan kandungan bahan organik dan populasi mikroorganisme dalam *liquor* cukup tinggi (Alam, 1993a). Nilai DO yang sangat rendah, yakni dari 3.733 ppm menjadi 0.1 - 0.2 ppm menunjukkan proses berlangsung pada O₂ terbatas, dan mendorong proses berjalan secara anaerobik atau fakultatif.



Gambar 2. Pola perubahan nilai pH



Gambar 3. Pola perubahan suhu



Degradasi pektin, holoselulosa, selulosa dan lignin ditera berdasarkan kadar substansi bobot kering mutlak *ribbon retted* (kadar in-situ) dan kadar substansi konversi ke bobot kering mutlak *ribbon* awal sebelum ter-*retting* (kadar terkonversi). Degradasi pektin baik atas dasar kadar in-situ maupun kadar terkonversi menunjukkan pola yang sama, yakni menurun tajam pada hari ke-3 dan kemudian landai (Gambar 4A dan 4B). Penurunan kadar pektin dapat disebabkan; (1) terlepasnya pektin larut dalam air (Aurond dan Woods, 1973; May, 1992) yang ditandai dengan peningkatan kekentalan *liquor*, dan (2) terombaknya asam pektin menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti galakturonat (Bhattacharya dan Panday, 1993). Degradasi pektin dalam proses *retting* dijaga agar tidak berlebihan, karena dapat menurunkan nilai serat (Ghosh, 1983). Hal ini berkaitan dengan keberadaan pektin dalam sel tanaman, yakni di dinding sel antara selulosa dan hemiselulosa, dan di lamela tengah (Winarno, 1992), di sela-sela sel-sel dan dalam getah indosel serat (RIBFC, 1988) dan berada dalam matriks selulosa yang terselubungi oleh lignin dan selulosa, yang secara teoritis sukar didegradasi oleh enzim (Marshall dan Tipton, 1989). Pektin yang didegradasi adalah yang berada di dinding sel dan sela-sela antara sel serat, sedang yang di dalam matriks selulosa dan getah indosel dijaga keberadaannya.

Berbeda dengan pola degradasi pektin, yang relatif sama antara kadar in-situ dan terkonversi. Pola degradasi holoselulosa dan selulosa justru menunjukkan perbedaan arah berlawanan. Pola degradasi holoselulosa in-situ meningkat dari kadar awal 77.890 % menjadi sekitar 90 % pada hari ke-3, sedang pada hari ke-5 dan ke-7 cenderung menurun, di sisi lain kadar terkonversi menunjukkan penurunan sejak hari ke-3 menjadi berkisar 50 % dan menurun lagi pada hari ke-5 dan ke-7 (Gambar 4C dan 4D). Demikian halnya pola degradasi selulosa berdasarkan kadar in-situ yang meningkat dari kadar awal 46.680 % menjadi sekitar 60 % pada hari ke-3 dan 62 % pada hari ke-5, baru menurun pada hari ke-7, sedang kadar terkonversinya menunjukkan penurunan sejak hari ke-3 menjadi sekitar 37.53 - 38.67 %, hari ke-5 34.21 - 34.98 % dan hari ke-7 31.82 - 33.95 % (Gambar 4E dan 4F).

Peningkatan kadar holoselulosa in-situ pada hari ke-3 menunjukkan bahwa perombakan material di luar holoselulosa terjadi secara maksimal. Di lain pihak penurunan pada hari ke-5 dan 7 mengindikasikan mulai terbatasnya material non-serat, sedang perombakan holoselulosa tetap berlangsung. Demikian halnya kejadian pada selulosa, yaitu kenaikan kenaikan pada hari ke-3 dan ke-5 menunjukkan perombakan non selulosa terjadi secara besar-besaran dan pada hari ke-7 mulai terbatas, sementara perombakan selulosa mulai meningkat. Degradasi selulosa dalam *retting* dapat terjadi karena menurut Winarno (1992) holoselulosa merupakan serat kasar yang dihilangkan kadar ligninnya, sehingga masih merupakan gabungan dari hemiselulosa, selulosa, dan senyawa yang larut dalam alkali. Di lain pihak hemiselulosa merupakan senyawa yang mudah terdegradasi, sehingga penurunan hemiselulosa

terutama disebabkan oleh terdegradasinya hemiselulosa, kemudian selulosa atau material lainnya.

Degradasi selulosa tidak dapat dihindari karena keberadaan selulosa dalam sel tanaman membentuk struktur jaringan yang memperkuat dinding sel bersamaan dengan hemiselulosa, pektin dan protein (Winarno, 1992), sehingga terombaknya senyawa non-selulosa dapat menyebabkan terlepasnya selulosa dari jaringan serat. Di lain pihak Tsao, *et al.*, (1978) melaporkan bahwa terdapat struktur amorf ($\pm 15\%$) dalam mikrovibril selulosa. Tetapi turunnya kadar selulosa terkonversi (Gambar 4F) lebih besar disebabkan terlepasnya selulosa dari jaringan serat bersamaan dengan hemiselulosa dan pektin dibanding karena struktur amorf selulosa. Hal ini, terbukti pada kekuatan serat yang dihasilkan tetap tinggi.

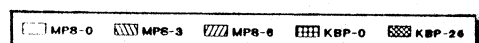
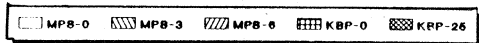
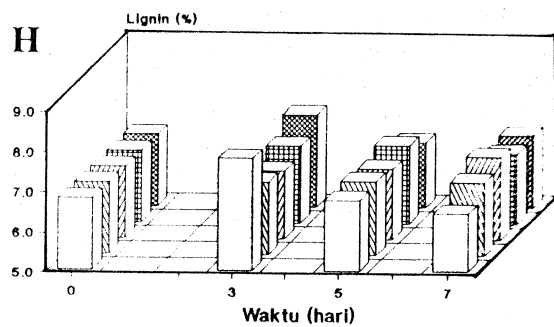
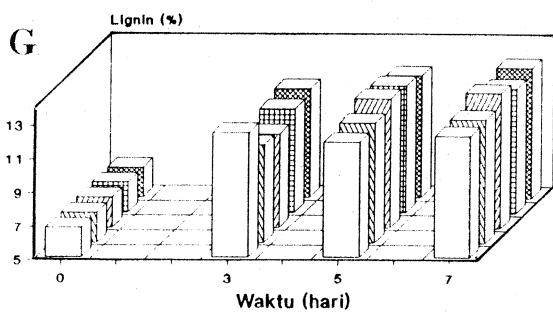
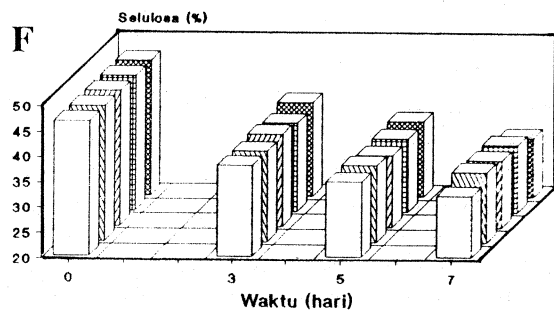
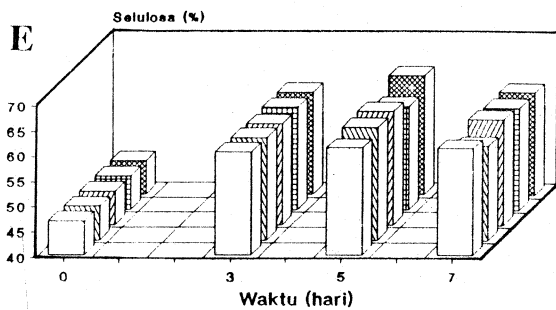
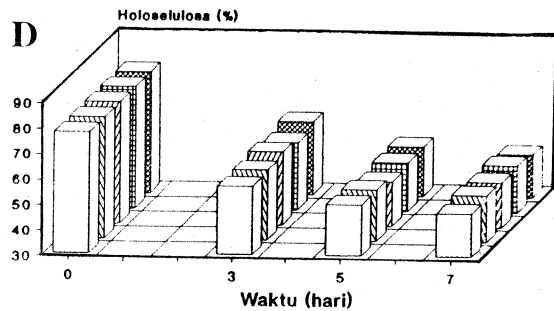
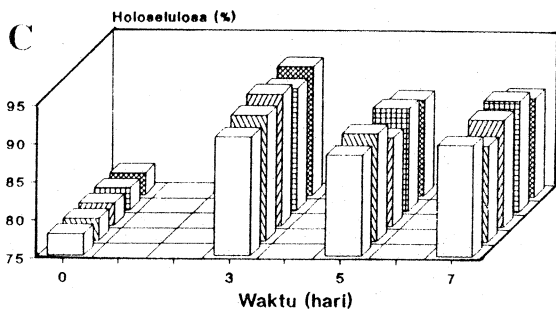
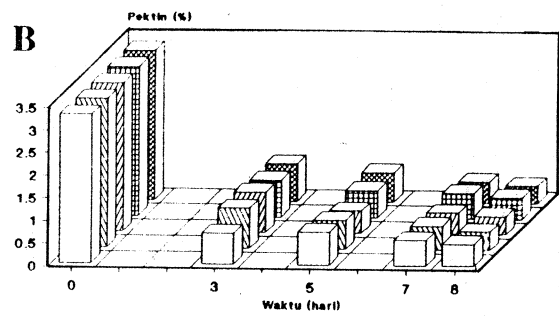
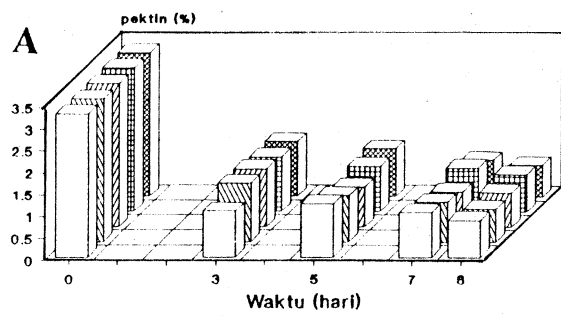
Pola perubahan kadar lignin in-situ sampai hari ke-7 belum menunjukkan penurunan setelah peningkatan pada hari ke-3 (Gambar 4G). Hal ini diduga karena perombakan lignin relatif kecil dibanding material lainnya. Fenomena ini terbukti pada perubahan kadar lignin terkonversi (Gambar 4H), yang sampai pada hari ke-7 penurunannya kecil. Lignin sukar terdegradasi karena kandungan atom C dan H cukup tinggi yang secara teoritis sukar terhidrolisis (Marshall dan Tipton, 1989).

Keberadaan lignin pada dasarnya erat dengan keamanan selulosa. Efek kimia hubungan lignin-karbohidrat dengan asetilasi hemiselulosa, dan efek fisis lignin membungkus mikrofibril selulosa dalam suatu matrik hidrofobik yang terikat secara kovalen sangat berperan dalam mencegah hidrolisa polimer selulosa. Di sisi lain kadar lignin tinggi dapat menurunkan mutu serat, khususnya sebagai penyebab warna kecoklatan. Serat hasil pencucian *ribbon ter-retting* dengan kadar lignin $\pm 11\%$ tidak menunjukkan gejala perubahan warna.

Kadar pektin, holoselulosa, selulosa dan lignin pada hari ke-5 *retting* menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0.05$), baik antara perlakuan MPS-0, MPS-3 dan MPS-6, maupun KBP-0 dan KBP-25 beserta interaksinya. Hal ini diduga pengaruh sirkulasi dan starter tertiadakan oleh pengaruh penambahan urea 0.05 %, yang secara teoritis mampu mempersingkat waktu *retting* sampai 30 % (Peikun, 1993). Dengan demikian ke-6 kombinasi perlakuan yang diuji memberikan efektifitas yang sama terhadap degradasi pektin, holoselulosa, selulosa dan lignin.

Parameter Mutu Serat

Hasil pengujian mutu perniagaan serat (kualitatif) yang melibatkan panelis menunjukkan bahwa warna, kilau, grade dan total skore mutu serat mulai hari ke-5 *retting* hampir seluruhnya masuk dalam kriteria mutu A. Terkecuali serat hasil perlakuan interaksi MPS-0 dengan PKB-0 pada ulangan ke-III yang relatif tertinggal. Hasil serat pada hari ke-7 dan 8 hampir sama dengan pada hari ke-5, meskipun pada hari ke-3 masih belum memenuhi baku mutu (*under retting*). Hasil pengamatan mutu teknis



Gambar 4. Pola degradasi pektin, holoselulosa, selulosa dan lignin dengan A dan B kadar pektin in-situ dan terkonversi, C dan D kadar holoselulosa in-situ dan terkonversi, E dan F kadar selulosa in-situ dan terkonversi, dan G dan H kadar lignin in-situ dan terkonversi

serat, khususnya kekuatan dan elastisitas juga menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) antara perlakuan MPS-0, MPS-3 dan MPS-6 juga KBP-0 dan KBP-25 beserta interaksinya. Tetapi kehalusan serat pada hari ke-5 menunjukkan berbeda nyata ($P < 0.05$) antara KBP-0 dengan KBP-25, dan tidak pada MPS-0, MPS-3 dan MPS-6.

Pola perubahan kekuatan dan elastisitas serat hampir sama, yakni terjadinya kecenderungan menurun setelah hari ke-7. Perbedaannya terletak antara hari ke-3 dan ke-5. Pada hari ke-3 kekuatan serat cukup tinggi ± 21 g/tex, pada hari ke-5 menurun ± 20 g/tex, dan meningkat pada hari ke-7 menjadi 21-22 g/tex. Di lain pihak pada hari ke-3 elastisitas serat relatif rendah ± 1.5 %, meningkat pada hari ke-5 ± 1.75 % dan ke-7 ± 1.8 %, kemudian menurun pada hari ke-8 ± 1.5 %. Pola perubahan kehalusan sedikit berbeda, yaitu pada hari ke-3 dan 5 antara perlakuan memiliki perbedaan cukup besar, yaitu pada hari ke-3 dan 5 antara perlakuan memiliki perbedaan cukup besar, sedang hari ke-7 dan 8 perbedaannya relatif kecil. Secara keseluruhan perubahan kehalusan serat pada hari ke-3, 5 dan 7 relatif konstan dan menurun pada hari ke-8. Dari pola perubahan ke-3 mutu teknis serat mengindikasikan bahwa batas akhir *retting* (endpoint *retting*) terjadi antara hari ke-5 dan ke-7.

Parameter Limbah (Liquor)

Limbah *retting* berupa *liquor* tergantung pada periode proses berlangsung, karena setelah hari ke-5 *retting* dalam *liquor* sudah menunjukkan adanya kehidupan baru yang berpengaruh, baik berupa rizoo-plankton maupun makro zoo-plankton. Dengan demikian jika proses *retting* lebih dari 5 hari, senyawa yang terkandung dalam *liquor* sudah tidak murni berasal dari perombakan atau dekomposisi media *retting*.

Padatan total dan N-organik dalam *liquor* pada hari ke-5 proses *retting* menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) antara perlakuan MPS-0, MPS-3 dan MPS-6 juga KBP-0 dan KBP-25 beserta interaksinya. Pola perubahan padatan total dan N-organik hampir sama, yakni menunjukkan peningkatan setelah *ribbon* diambil diambil untuk diseratkan. Pada hari ke-5 padatan total ± 1.5 g/l dan N-organik ± 1 %. Pada hari ke-8 (*ribbon* telah diambil) padatan total meningkat hampir menjadi 2 g/l dan N-organik ± 1.25 %. COD dan total count juga menunjukkan peningkatan setelah *ribbon* diambil. COD berkisar 324.0 - 412.5 ppm, sedang total count sebelum diangkat antara 5.10×10^3 - 2.74×10^4 cpu dan setelah diangkat menjadi berkisar 8.95×10^3 - 1.74×10^6 cpu. Hal ini mengindikasikan fungsi penyaring tidak baik dan terjadi konsentrasi proses dalam tumpukan *ribbon*.

KESIMPULAN

Kultur *Bacillus polymyxa* BCC-27 menunjukkan kelebihan dibanding *B. pumilus* BCC-610 dan *B. subtilis* BCC-2271, sehingga ditetapkan sebagai kultur unggulan di

tingkat laboratorium. Di lapang, penambahan starter adaptif unggulan *B. polymyxa* BCC-27 2.5%, menjamin proses *retting* berlangsung stabil. Penambahan urea 0.05% dinyatakan sebagai dosis optimal dan dapat berfungsi sebagai induser proses *retting*.

Perlakuan sirkulasi 3 jam per hari optimal dalam memperbaiki mutu proses khususnya, nilai pH mendekati nilai optimal (7.6) pertumbuhan mikro organisme potensial *retting*. Sirkulasi 3 dan 6 jam per hari memberi penyebaran suhu lebih merata dengan nilai rata-rata lebih tinggi, tetapi tidak dapat meningkatkan kadar DO.

Proses *retting* menggunakan kolam sirkulasi dengan penambahan urea 0,05% dan sirkulasi 3 jam per hari, dan penambahan starter *B. polymyxa* BCC-27, dapat menjamin proses *retting* berlangsung secara efektif dan efisien. Dari pola degradasi holoselulosa, selulosa dan lignin dapat ditentukan bahwa batas akhir *retting* (end-point *retting*) terjadi setelah proses berjalan 5 hari. Mutu serat yang dihasilkan dari *ribbon* retted berkadar pektin ± 0.919 %, holoselulosa ± 88.022 %, kadar selulosa ± 60.252 % dan lignin ± 12.281 % sudah tergolong dalam kategori baku mutu A.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada; Dirjen Pendidikan Tinggi DEPDIKBUD Jakarta, Yayasan Supersemar Jakarta dan BALITTAS atas bantuan fasilitas pendanaan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, A., 1993a. Improved *retting* and extraction of jute. an over-view. Proceeding of the third coordination committee meeting, 12 August. IJO, Dhaka, Bangladesh. p 21 - 35.
- - - -, 1993b. Ecological attributes of cultivation and primary processing of jute and kenaf : *retting* and Environment. Proceeding of the third co-ordination committee meeting, 12 August. IJO, Dhaka, Bangladesh. p. 152 - 179.
- - - -, 1993c. Regional technological status of jute kenaf *retting* and fibre extraction. p. 80 - 139. In A. Alam, (ed.) Improved *retting* and extraction of jute and kenaf. Proceeding of regional workshop held at Research Institute for Tobacco and Fiber Crops, 1 - 6 Feb. Malang, Indonesia.
- Ali, M. M., 1992. Research on Jute *Retting* for Improvement of Fibre Quality. Bangladesh Jute Research Institute Manikmia Avenue, Dhaka.
- Aurand, L. W. and A. E. Woods, 1973. Food chemistry. The AVI publishing company Inc. Philippine Graphic Arts, INC. Caloocan City.
- Balittas, 1988. Situasi serat karung di Indonesia dewasa ini. Laporan Bulan Juli. BALITTAS Malang, Indonesia.
- Bhattacharya, S. K. and S. N. Pandey, 1993. Technological need and state of art of jute *retting* and extraction in India. p. 153 - 159. In A. Alam, (ed.) Improved *retting*

- and extraction of jute and kenaf. Proceeding of regional workshop held at Research Institute for Tobacco and Fiber Crops, 1- 6 Feb. Malang, Indonesia.
- BPS., 1989. Kebutuhan kemasan komoditi Bulog, Biro Pusat Statistik, Jakarta.
- Gherma, R., P. Pienta and R. Cate, 1989. ATCC (American type culture collections) catalogue of bacteria and bacteriophages 17 th. Parkloun Drive, Rockville, Mayland.
- Ghost, T. 1983. Hand boók on jute. FAO plant production paper 51, United Nations. p. 59 - 101 IJO, 1983. International Jute Organization. Consultation on jute, kenaf improvement in Calcuta and Dhaka, IJO. Dhaka, Bangladesh (Unpublished).
- May, C. D., 1992. Pectins, p. 124 - 152. In A. Imesaon, (ed.) Theckening and jelling agents for food. Blackie Academic and Professional. London.
- Muhiuddin, G., 1992. A Manual for improved processing technique for low grade jute and cuttings. IJO industrial project. IJO, Dhaka Bangladesh.
- Mullen, M. D., 1960. Experiment in the cultivation, harvesting and *retting* of jute in British Genuania, p. 1-25. In R. H. Kirby and M.M. Kershow, (ed.) Tropical science, London. Vol II.
- Peikun, H., 1993. Improved *retting* and extraction of jute (GCP/RAS), Progress report and work-plan. Proceeding of the third co-ordination commitee meeting, IJO Dhaka, Bangladhes, p.36-49.
- RIBFC, 1988. Theaching materials for the training course in jute and kenaf *retting* technique held under the Austrius of ESCAP. Compiled by the Research Institute of Best Fiber Crops Under the Chinese leading of Agriculture Science, August. p.20-114.
- Satrosupadi, A. dan S.H. Isdijaso. 1993. Upaya meningkatkan produktivitas tanaman serat karung. Makalah disajikan dalam Rapat Teknis ISKARA, Balitas, Malang, Indonesia.
- Tsao, G. T., M.R. Ladisch, C. Ladisch, T.A. Hsu, B. Dale and T.Chou. 1978. Anual reports on fermentation process. Vol.2. Academic Press. New York.
- Winarno, F.G., 1992. Kimia Pangan dan gizi. PT. Gramedia, Jakarta.

OKSIDASI LIPOPROTEIN DENSITAS RENDAH DAN ATEROSKLEROSIS

Sri Raharjo

Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Abstract

One of the earliest lesion of atherosclerosis is indicated by fatty streaks appearance. The fatty streak contains foam cell which are mostly derived from monocytes. The uptake of oxidatively modified low density lipoprotein (LDL) is not down regulated by the native LDL receptors. Oxidized LDL exhibits a chemotactic activity and a cytotoxicity. With the discovery the cells of the vascular system can induce lipid peroxidation in the LDL particle, it appears now more reasonable that reactive aldehydes including malonaldehyde are generated within the LDL particle itself. Subsequently it interact at or near the site of their origin with neighboring free amino groups and other functional groups of the apo-B polypeptide chain. Vitamin E is a true antioxidant in the LDL and is most likely located in the outer phospholipid layer with the chromanol ring facing the aqueous phase.

PENDAHULUAN

Lipoprotein berdensitas rendah (LDL) merupakan sarana utama untuk mengangkut kolesterol dalam darah. Hingga saat ini sudah banyak diketahui bahwa LDL merupakan sumber kolesterol yang 'jahat' karena menyebabkan penimbunan kolesterol pada saluran darah. Disamping itu kenaikan kadar LDL dalam plasma diketahui memiliki kolerasi positif dengan resiko terjadinya aterosklerosis. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa LDL bisa teroksidasi *in vivo* dan LDL yang teroksidasi diduga merupakan salah satu komponen yang menyebabkan terjadinya lesi awal yang mengarah terbentuknya aterosklerosis. Beberapa hasil penelitian yang penting untuk dicatat dalam hal ini adalah : (a) LDL yang teroksidasi memiliki properti kemotaksis dan apabila LDL tersebut terdapat pada lapisan intima dari arteri maka akan menarik sel-sel monosit darah yang selanjutnya akan berkembang menjadi makrofag; (b) selanjutnya makrofag akan mengambil LDL yang teroksidasi secara tidak terkendali kemudian membentuk sel busa (foam cell) yang sangat berlemak; (c) LDL teroksidasi sangat sitotoksik sehingga bisa menyebabkan kerusakan pada lapisan endotelial dan destruksi sel-sel otot polos. Tujuan dari review ini adalah mengkaji hasil penelitian tentang oksidasi LDL hubungannya dengan aterosklerosis yang telah dipublikasi hingga kini.

ATEROSKLEROSIS

Lesi aterosklerosis dini ditandai oleh akumulasi sel-sel yang berisikan kolesterol dan kolesterol ester yang kenampakannya menyerupai busa (foam) sehingga disebut sebagai sel-sel busa. Apabila aterosklerosis berlanjut maka lesi tersebut dapat berubah menjadi timbunan lemak (fatty streak) dan plak (Ross and Glomset, 1976; Gerrity, 1981; Aqel et al., 1984; Rosenfeld et. al., 1987). Prekursor dari sel busa pada umumnya adalah monosit-makrofag yang masuk kedalam lapisan intima, namun ada juga yang berasal dari sel-sel otot polos (Wissler, 1978). Makrofag yang ditumbuhkan dalam kultur ternyata hanya mampu mengambil LDL natif secara lamban, bahkan jika makrofag diinkubasikan lebih lama dalam media mengandung LDL tinggi ternyata makrofag tersebut tidak mengakumulasi kolesterol ester dan tidak berubah menjadi sel-sel yang berlemak (Brown et al., 1980).

Pengambilan LDL natif oleh monosit-makrofag berlangsung melalui reseptor LDL (reseptor apo B/E) yang sekaligus berfungsi sebagai pengendali, yaitu apabila kadar kolesterol intraseluler meningkat maka semakin banyak LDL yang diambil oleh makrofag. Brown and Goldstein (1983) menemukan bahwa makrofag juga mengekspresikan reseptor penangkap (scavenger receptor) yang memungkinkan terjadinya endositosis terhadap LDL yang telah termodifikasi. Reseptor ini tidak dikendalikan oleh status kolesterol intraseluler. Dalam kultur sel, pengambilan LDL termodifikasi melalui reseptor penangkap dapat mengakibatkan akumulasi kolesterol yang selanjutnya tersimpan dalam bentuk titik-titik lemak, sehingga makrofag berubah menjadi sel-sel menyerupai sel busa. Dalam penelitian itu Brown dan Goldstein (1983) menggunakan LDL yang telah direaksikan secara *in vitro* dengan asam asetat anhidrid. Salah satu hasil dari reaksi tersebut adalah terjadinya asetilasi pada e-amino grup dari residu lisin pada protein apo B, sebagai akibatnya maka muatan positifnya menjadi hilang dan sebaliknya muatan negatif pada permukaan LDL menjadi bertambah.

Reseptor untuk LDL mampu mengenali domain bermuatan positif yang berasal dari residu lisin, arginin dan histidin pada protein apo B (Gianturco and Bradley, 1987). Apabila domain tersebut mengalami perubahan, misal dengan adanya asetilasi terhadap gugus amino bebas, maka reseptor tidak mampu mengenali LDL yang sudah terasetilasi. Sebaliknya peningkatan LDL termodifikasi oleh

reseptor penangkap (scavenger receptor) menjadi lebih mudah karena adanya muatan negatif pada protein apo B yang telah termodifikasi. Hal ini didukung hasil penelitian dari Brown et al. (1980) yang menunjukkan bahwa peningkatan muatan negatif pada apo B melalui modifikasi kimiawi ternyata meningkatkan kemampuan dari reseptor penangkap untuk mengambil kolesterol pada LDL yang sudah termodifikasi. Modifikasi LDL tersebut bisa dilakukan secara kimiawi melalui asetilasi, asetoasetilasi, karbamilasi, suksinilasi serta perlakuan dengan glutaraldehida (Haberland et al., 1984). Seluruh prosedur di atas memiliki kesamaan pada kemampuannya untuk bereaksi dengan gugus amino bebas (misal : ϵ -amino group) dari residu lisin. Meskipun demikian hal tersebut tidak terjadi secara *in vivo*, sehingga hingga kini masih belum jelas senyawa apa yang bisa memodifikasi LDL secara *in vivo*. Fogelman et al. (1980) menduga bahwa malonaldehida yang dihasilkan oleh sel-sel inflamatori yang ada pada arteri yang terluka merupakan senyawa yang mampu memodifikasi LDL natif *in vivo* menjadi termodifikasi yang dikenal oleh scavenger receptor. Penelitian tentang inkubasi LDL dengan malonaldehida menghasilkan makrofag yang berisi kolesterol (Haberland et al., 1982; Haberland and Fogelman, 1987). Namun malonaldehida yang digunakan dalam inkubasi tersebut konsentrasinya sangat tinggi (10 - 100 mM) dan sel-sel inflamatori tidak akan mungkin bisa menghasilkan malonaldehida setinggi itu. Penelitian lain menunjukkan bahwa sel-sel pada sistem vasculer bisa menginduksi peroksidasi lemak pada partikel LDL (Steinbrecher et al., 1984). Oleh karena itu sangat besar kemungkinannya bahwa bukan hanya malonaldehida tetapi juga senyawa aldehida lain bisa dihasilkan di dalam partikel LDL sendiri, yang selanjutnya berinteraksi dengan gugus fungsional dari protein apo-B.

MODIFIKASI LDL OLEH OKSIDASI LEMAK

Akibat lain yang ditimbulkan oleh oksidasi lemak pada LDL yaitu degradasi protein apo-B menjadi fragmen peptida yang berukuran lebih kecil (Schuh et al., 1987; Steinbrecher et al., 1984). Sangat besar kemungkinannya bahwa degradasi apo-B ataupun reaksi aldehida dengan apo-B secara bersama-sama menyebabkan perubahan struktur/bentuk apo-B yang tidak terkendali lagi oleh reseptor B/E, melainkan justru bisa berikatan dengan scavenger receptor. Partikel LDL yang sudah teroksidasi bersifat toksik terhadap sel-sel endotelial, sel-sel otot polos, dan fibroblas. Di samping itu biasanya sel-sel yang sedang proliferasi lebih rentan terhadap LDL teroksidasi daripada sel-sel yang sedang dalam fase tidak berproliferasi (Hessler et al., 1983; Morel et al., 1983). Komponen dari LDL teroksidasi yang bersifat toksik ternyata tidak berupa protein, namun komponen toksik tersebut berada dalam fase lipida pada partikel LDL. Karakteristik dari komponen toksik pada LDL teroksidasi dapat ditiru dengan modifikasi LDL secara kimiawi dengan menggunakan 4-

hidroksinonenal (HNE). Partikel LDL yang telah diperlakukan dengan HNE menunjukkan penghambatan pertumbuhan sel fibroblas yang sebanding dengan partikel LDL teroksidasi (Hoff et al., 1988).

Kaneko et al., (1987) meneliti sitotoksitas dan penghambatan pertumbuhan dari produk peroksidasi lemak pada kultur sel fibroblas dan sel endotelial. Hasilnya menunjukkan bahwa senyawa hasil dari peroksidasi lemak yang paling toksik adalah 2, 4-alkadienal (yaitu nonadienal dan dekadienal) serta 4-HNE, sedangkan alkenal dan alkana toksisitasnya lebih rendah. Perlakuan aldehida menunjukkan bahwa toksisitasnya meningkat sebanding dengan bertambah panjangnya rantai karbonnya (Kaneko et al., 1988). Lisofosfatida yang diketahui juga terdapat dalam partikel LDL teroksidasi ternyata bisa menimbulkan gangguan bagi sel, misalnya penghambatan terhadap pompa K/Na (Parthasarathy et al., 1985).

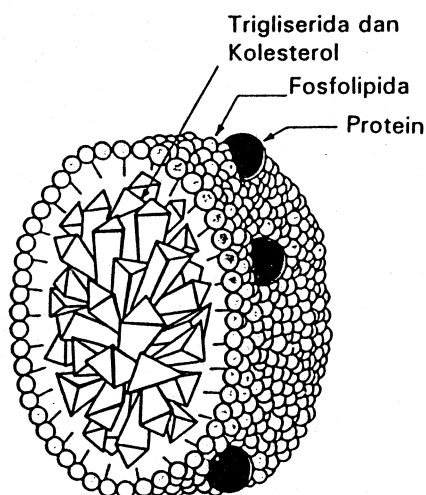
Hingga kini belum diketahui dengan jelas tentang toksitas dari LDL teroksidasi apakah hanya disebabkan oleh satu senyawa ataukah dari kombinasi berbagai senyawa hasil proses peroksidasi lemak pada LDL. Adanya hipotesis bahwa LDL teroksidasi adalah atherogenik maka sitotoksitas dari LDL tersebut menjadi satu aspek yang sangat penting. Oleh karena itu identifikasi senyawa yang bersifat sitotoksik dan penjelasan tentang mekanisme kematian sel yang disebabkan oleh senyawa yang dihasilkan oleh LDL teroksidasi perlu perhatian lebih lanjut. Hal yang sama juga berlaku untuk karakteristik kemotaktis dari LDL teroksidasi. Parthasarathy et al. (1985) menduga bahwa oksidasi LDL menyebabkan aktivasi fosfolipase A₂ yang selanjutnya menyebabkan terlepasnya lisofosfatida dan asam lemak teroksidasi. Dalam kondisi *In vitro* diketahui bahwa lisofosfatida menunjukkan peran sebagai penarik monosit darah (Quinn et al., 1987).

Hipotesis yang menyatakan bahwa LDL teroksidasi memiliki peran yang krusial dalam patogenesis dari arteriosklerosis selanjutnya bisa muncul dengan didukung beberapa bukti meskipun secara tidak langsung. Misalnya, Glavind et al. (1952) Mengemukakan bahwa lesi atherosklerosis pada aorta manusia (diperoleh dalam kondisi post mortem) mengandung peroksida lemak dan tingkat peroksidasi lemak tersebut berkaitan dengan perkembangan atheromata. Pasien penderita penyakit jantung diketahui memiliki kenaikan kadar peroksida lemak dalam serumnya. Hal yang sama juga ditemukan pada perokok kronis dan diabetes (Goto, 1982). Kadar peroksida lemak dalam plasma nampaknya semakin meningkat dengan bertambahnya usia (Yagi, 1986). Pemberian probucol yang memiliki efek anti-atherogenik antara lain didasarkan pada kemampuannya untuk masuk ke dalam LDL dan melindunginya dari oksidasi (Carew et al., 1987; Kita et al., 1987). Probuocol memiliki struktur sangat mirip dengan antioksidan sintetik BHT (butylated hydroxytoluene). Hasil penelitian epidemiologis pada populasi masyarakat di Eropa menunjukkan adanya hubungan yang negatif antara kadar antioksidan dalam plasma darah dengan tingkat resiko penyakit

kardiovaaskuler. Semakin tinggi kadar vitamin E dalam plasma berkaitan dengan semakin rendahnya tingkat mortalitas akibat penyakit jantung (Gey and Puska, 1989).

KOMPOSISI LDL

Partikel LDL dalam manusia berbentuk bola seperti terlihat pada Gambar 1 (Kritchevsky, 1979) dengan diameter sekitar 22 nm dan rata-rata berat molekul sekitar 2.500.000 (Goldstein and Brown, 1978) serta densitas sekitar 1,020 - 1,050 g/mL (Esterbauer et al., 1990). Setiap partikel LDL tersusun dari 20 - 24 % fosfolipida, 9 - 10 % kolesterol (bebas), 40 - 44 % kolesteril ester, 3 - 5 % trigliserida, dan 21 - 26 % protein. Kolesteril ester dan trigliserida sebagai lemak netral membentuk bagian pusat yang hidrofobik yang dilapisi oleh lapisan tunggal yang tersusun dari kolesterol dan fosfolipida. Pada lapisan inilah terdapat sebuah protein yang disebut apolipoprotein B dengan berat molekul sekitar 500.000 (Goldstein and Brown, 1978). Berdasarkan berat molekul yang sudah diketahui maka Esterbauer et al. (1990) menganalisa lebih lanjut bahwa lapisan tunggal tersebut terdiri dari sekitar 700 molekul fosfolipida dan 600 molekul kolesterol, sedangkan bagian pusatnya tersusun dari sekitar 1600 molekul kolesteril ester dan 100 molekul trigliserida (Tabel 1). Komposisi asam lemak dari partikel LDL yang diekstraksi dan ditera dengan kromatografi gas berkolom kapiler juga ditunjukkan pada Tabel 1 (Esterbauer et al., 1987; 1988a; 1989a). Jumlah seluruh asam lemak yang tersebar pada berbagai kelompok lemak rata-rata sekitar 2700 molekul, separuh diantaranya adalah asam lemak tak jenuh jamak terutama asam linoleat (C_{18:2}) dan arakidonat (C_{24:4}). Analisa lebih lanjut terhadap distribusi asam lemak pada beberapa kelompok lemak dalam partikel LDL menunjukkan distribusi yang tidak sama (Esterbauer et al., 1990). Asam linoleat pada umumnya banyak (68 %) terikat pada fosfolipida. Asam dokosaheksanoat hanya bisa ditemukan pada fosfolipida.



Gambar 1. Struktur skemis partikel lipoprotein berdensitas rendah (Sumber : Kritchevsky, 1979)

Tabel 1. Komposisi LDL dari darah manusia

	n	mg/mg LDL	Perkiraan Jumlah molekul dalam tiap LDL partikel
Fosfolipida	6	271 ± 19	700
Kolesterol	6	94 ± 6	600
Kolesteril ester	6	414 ± 14	1600
Trigliserida	6	37 ± 10	100
Protein	6	237 ± 20	1
Asam Miristat	4	6,6 ± 2,0	70
Asam Palmitat	19	70,9 ± 20,9	700
Asam palmitoleat	19	4,3 ± 2,5	50
Asam Stearat	19	16,3 ± 7,4	150
Asam Oleat	19	57,2 ± 18,3	450
Asam linoelat	19	120,8 ± 32,4	1100
Asam arakidonat	19	16,1 ± 8,8	150
Asam dokosahek- sanoat	4	2,1 ± 2,0	20
Total asam lemak	19	290	2700
Total PUFA*	19	138	1300
α-tokoferol	25	1,03 ± 0,27	6
γ-tokoferol	25	0,087 ± 0,033	0,5
β-karoten	20	0,069 ± 0,048	0,3
likopen	20	0,037 ± 0,017	0,2

Sumber : Esterbauer et al., 1990.

* : Polyunsaturated fatty acids,

n : Jumlah sampel LDL dari individu yang berbeda

Jumlah molekul asam lemak di dalam partikel LDL secara tidak langsung bisa dihitung berdasarkan jumlah molekul fosfolipida, kolesteril ester dan trigliserida. Dengan cara ini maka akan diperoleh jumlah molekul asam lemak sekitar 3300. Hal ini berbeda dengan hasil analisa yang dilaporkan oleh Esterbauer et al. (1990) yang menunjukkan angka 2700 molekul asam lemak. Perbedaan ini bisa disebabkan antara lain oleh variasi komposisi LDL sampel dari donor. Di samping itu bisa juga disebabkan oleh perbedaan dasar perhitungan yang digunakan untuk menghitung jumlah total LDL. Analisa asam lemak didasarkan pada total berat kering atau total kandungan kolesterol. Esterbauer et al. (1990) menggunakan faktor konversi dalam menghitung jumlah partikel LDL (LDL mg/mL = 3,16 x total kolesterol mg/mL), sedangkan total kolesterol ditentukan menggunakan metoda Monotest dari Boehringer Mannheim.

Bila dihitung dalam basis molar maka antioksidan terbanyak dalam LDL adalah α-tokoferol, yaitu rata-rata sekitar 1,03 µg/mg LDL (Estebauer et al., 1989b). Kadar tersebut kurang lebih setara dengan 6 molekul α-tokoferol dalam setiap partikel LDL. Senyawa antioksidan lain yang telah terdeteksi (misal : gama-tokofero, β-karoten dan likopen) dalam partikel LDL jumlahnya amat sedikit.

Hingga kini sudah terdeteksi kurang lebih sebanyak 20 macam karotenoid dalam plasma darah, oleh karena itu sangat mungkin bukan hanya β -karoten dan likopen yang terdapat dalam LDL namun masih banyak antioksidan lain seperti α -karoten, zeaxantin, kriptosantin, fitofluena (Esterbauer et al., 1988b; 1989a; 1989b; 1990; Di Mascio et al., 1989). Pada Tabel 1 dituliskan jumlah molekul antioksidan lain yang terdapat dalam 1 partikel LDL. Untuk β -karoten tertulis angka 0,3 berarti bahwa hanya sebagian dari partikel LDL yang mengandung β -karoten sedangkan partikel LDL yang lain tidak mengandung. Belum diketahui apakah keberadaan antioksidan dalam LDL dapat berpindah dari satu partikel ke partikel LDL yang lain. Berdasarkan angka hasil perhitungan yang tertera pada Tabel 1 maka diperkirakan perbandingan jumlah molekul antioksidan dengan PUFA adalah 1 : 200. Khusus untuk jumlah vitamin E keberadaannya berbanding lurus dengan jumlah molekul PUFA.

Urutan asam amino penyusun komponen protein apo-B telah diketahui dan tiap satu komponen protein apo-B (512,937 Da) mengandung 478 Asp + Asn, 298 Thr, 393 Ser, 529 Glu+Gln, 169 Pro, 207 Gly, 266 Ala, 25 Cys, 251 Val, 78 Met, 288 Ile, 523 Leu, 152 Tyr, 223 Phe, 115 His, 356 Lys, 148 Arg dan 37 Trp (Yang et al., 1987). Sedangkan karbohidrat penyusun komponen apo-B mencapai sekitar 8-10% (berdasarkan berat kering masa LDL) dan terdiri dari manosa, galaktosa, glukosamin, dan asam sialat (Esterbauer et al., 1990).

MODIFIKASI LDL OLEH SEL-SEL VASKULER

Partikel LDL dengan konsentrasi 1 mg/mL yang diinkubasikan selama 24 jam bersama dengan sel endotelial dari aorta kelinci menyebabkan LDL diambil oleh makrofag peritoneal dari mencit 3-4 kali lebih cepat dibandingkan LDL kontrol yang diinkubasikan tanpa sel endotelial tersebut (Henriksen et al., 1981). Diduga sel endotelial bisa memodifikasi LDL menjadi terasetilasi. Mekanisme sel endotelial memodifikasi partikel LDL semakin jelas ketika dua grup peneliti secara terpisah menemukan bahwa medium yang telah digunakan untuk menginkubasikan LDL mengandung thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS). Oleh karena itu disimpulkan bahwa sel-sel endotelial yang diinkubasikan bersama dengan LDL mampu menginisiasi proses peroksidasi lemak dalam partikel LDL. Sebagai akibat proses oksidasi lemak ini maka komponen protein apo-B menjadi berubah sedemikian hingga menjadi bisa dikenali oleh scavenger receptor (Steinbrecher et al., 1984; Morel et al., 1984). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Fogelman et al. (1980) yang melaporkan bahwa partikel LDL yang diinkubasi dengan malonaldehidida akhir terambil melalui scavenger receptor. Selanjutnya diasumsikan bahwa malonaldehidida yang dihasilkan dari proses peroksidasi bereaksi dengan asam amino (residu lisin) dari protein apo-B. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa sel endotel, sel otot polos dan makrofag mampu mengoksidasi partikel LDL selama

inkubasi dan mengubahnya menjadi suatu bentuk yang dikenali oleh scavenger receptor dari makrofag.

Mengenai waktu terbentuknya TBARS selama inkubasi LDL dengan sel menunjukkan data yang berlainan. Antara sel-sel otot polos pada aorta manusia, sel endotel pada aorta kelinci paling banyak menghasilkan TBARS dalam waktu yang terpendek (Hiramatsu et al., 1987). Dalam percobaan oksidasi LDL dalam PBS (phosphate buffered saline) yang disuplementasi dengan Cu^{2+} , proses pembentukan TBARS diawali fase lag dimana belum terbentuk TBARS sama sekali. Bila LDL diinkubasi dengan sel maka fase lag tersebut hanya berlangsung selama sekitar 3 jam, sedangkan bila diinkubasikan tanpa sel maka fase lag bisa berlangsung hingga 6 jam. Setelah fase lag dilampaui maka pada fase selanjutnya (hingga 12 jam) laju pembentukan TBARS pada kedua kondisi inkubasi tersebut tidak berbeda nyata (Esterbauer et al., 1990). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan kondisi inkubasi (dengan atau tanpa sel) hanya bisa dilihat pada kisaran waktu inkubasi yang relatif pendek yaitu 3 - 6 jam.

Perlu disampaikan juga bahwa kadar TBARS yang dilaporkan dari berbagai penelitian menunjukkan variasi yang besar meskipun diinkubasikan dengan sel dan medium yang sama. Pada penelitian menggunakan sel endotel dan medium M199 dihasilkan kisaran TBARS 1.85 - 6.2 nmol MDA/mg LDL (Morel et al., 1984; van Hinsbergh et al., 1986); bila digunakan sel endotel dan medium F10 maka diperoleh kisaran TBARS 2.0 - 14.6 nmol MDA/mg LDL (Steinbrecher et al., 1984; Parthasarathy et al., 1985). Ada beberapa alasan yang bisa digunakan untuk menjelaskan terjadinya variasi TBARS yang cukup besar tersebut yaitu antara lain adanya perbedaan dalam cara pengukuran TBARS, interferensi absorbansi dari phenol red yang digunakan dalam medium inkubasi, dihasilkannya MDA oleh sel-sel yang mati atau rusak, dan perbedaan kandungan asam lemak pada partikel LDL. Sebelumnya pernah dinyatakan bahwa MDA hanya bisa terbentuk dari asam lemak tidak jenuh dengan sedikitnya 3 ikatan rangkap atau lebih, yaitu misalnya asam arakidonat (Esterbauer et al., 1989c). Kadar asam arakidonat pada partikel LDL juga sangat bervariasi antara donor satu dengan lainnya.

PERAN ANTIOKSIDAN DALAM MENCEGAH OKSIDASI LDL

Penambahan vitamin E dengan konsentrasi yang tinggi (100 μM) pada medium inkubasi ternyata mampu mencegah oksidasi partikel LDL yang dimediasi oleh sel-sel dalam medium inkubasi. Konsentrasi vitamin E sebesar 100 μM adalah setara dengan 200 nmol vitamin E per mg LDL, atau setara dengan 100 kali lebih tinggi dari pada kadar vitamin E yang terkandung dalam LDL secara alami. Esterbauer et al. (1989b) mencoba menentukan kapasitas antioksidatif dari antioksidan endogenus dalam partikel LDL. Untuk itu satu batch LDL (0.25 mg/mL) dibagi menjadi dua bagian sebelum reaksi oksidasi yang dimulai dengan penambahan Cu^{2+} (1,66 μM). Bagian pertama

digunakan untuk mengukur kinetika peroksida lemak melalui kenaikan absorbbansi pada 234 nm, sedang bagian yang lain untuk analisa kandungan antioksidan. Hasilnya menunjukkan bahwa perlindungan terhadap oksidasi lemak pertama kali dilakukan oleh vitamin E, terutama α -tokoferol dan gamma-tokoferol. Apabila vitamin E sudah habis terpakai maka perlindungan terhadap oksidasi lemak selanjutnya dilakukan oleh karotenoid terutama likopen, β -karoten dan fitofluen. Ketika perlindungan lapis kedua ini sudah tidak mampu lagi menahan, maka progasi reaksi oksidasi berantai mulai berlangsung yang ditunjukkan dengan meningkatnya absorbbansi pada 234 nm. Urutan perlindungan terhadap oksidasi lemak ini masih sama meskipun di dalam medium inkubasi (PBS) ditambahkan antioksidan yang larut dalam air. Penambahan asam urat dan askorbat dalam medium inkubasi bisa memperpanjang periode fase lag proportional dengan konsentrasinya. Lebih khusus lagi adanya antioksidan yang larut dalam air ternyata dapat menghambat kerusakan antioksidatif endogenus dalam LDL. Apabila dalam medium inkubasi ditambahkan 10 μ M asam askorbat maka konsentrasi antioksidan endogenus tetap tidak berubah selama 90 menit pertama, selama waktu itu konsentrasi asam askorbat menurun jadi nol. Selanjutnya konsentrasi vitamin E dan karotenoid mulai menurun dengan urutan yang sama dengan kondisi jika asam askorbat tidak ditambahkan pada medium inkubasi. Akhirnya peroksidasi lemak memasuki tahap propagasi reaksi berantai ketika LDL sudah kehabisan antioksidan endogenus yang lipofilik (Esterbauer et al., 1989b).

Vitamin E dalam LDL terletak pada lapisan fosfolipida bagian luar dengan cincin kromanol menghadap ke luar ke arah fase air. Peran vitamin C sebagai antioksidan yang larut dalam air ditunjukkan dengan kemampuannya untuk mereaktifasi vitamin E yang sudah dilemahkan oleh peroksi radikal. Mengingat urutannya bahwa vitamin E lebih dahulu teroksidasi sebelum karotenoid maka vitamin E diduga memiliki peran melindungi karotenoid dari serangan radikal bebas (Esterbauer et al., 1989a). Namun demikian mekanisme reaktifasi karotenoid yang sudah bereaksi dengan radikal oleh vitamin E hingga kini masih belum jelas.

Untuk membuktikan lebih jauh bahwa vitamin E adalah antioksidan dalam LDL maka dilakukan penelitian menggunakan plasma darah yang disuplementasi dengan D,L- α -tokoferol (125 - 1000 μ M) sebelum dilakukan isolasi LDL (Esterbauer et al., 1990). Dengan cara ini kadar α -tokoferol dalam LDL, sehingga lama fase lag menjadi lebih panjang sebanding dengan kenaikan kadar α -tokoferol dalam LDL.

ALDEHIDA DALAM LDL YANG TEROKSIDASI

Sudah banyak diketahui dan dibuktikan oleh berbagai penelitian bahwa beberapa jenis aldehida terbentuk melalui proses dekomposisi hidroperoksida asam lemak. Partikel LDL bisa membentuk senyawa-senyawa aldehida apabila partikel LDL tersebut diinkubasikan selama 24 jam dengan bufer yang telah disaturasi oksigennya. Jumlah total kadar aldehida rata-rata dalam partikel LDL reratanya adalah 5.76 nmol/mg LDL. Adapun distribusi dari masing-masing aldehida adalah MDA (36.6 %), heksanal (25%), propanal (8.9%), 4-hidroksinonenal (8.2%), butanal (7.6%), 2,4-heptadienal (4.1%), pentanal (3.4%), 4-hidroksiheksenal (3.4%), dan 4-hidroksioktenal (3.5%). LDL yang diinkubasikan dalam PBS yang mengandung 1,66 μ M Cu^{2+} selama 2 jam diketahui di dalamnya terakumulasi senyawa aldehid (Esterbauer et al., 1989c). Dalam hal ini jumlah keseluruhan aldehid yang terakumulasi mencapai 40 nmol/mg LDL, sekitar 41% diantaranya adalah malonaldehid (MDA) dan 8,8% adalah 4-hidroksinonenal (HNE). Esterbauer et al. (1987) menyatakan bahwa 90% dari TBARS adalah terdiri dari malonaldehid bebas. Malonaldehid merupakan substansi yang hidrofilik dan hampir seluruhnya dilepaskan dari bagian LDL yang lipofilik menuju bagian di sekitar LDL yang berfase air, sedangkan senyawa aldehid yang lain karena sifatnya lipofilik maka sebagian besar tetap berada di dalam LDL dan bisa mencapai konsentrasi milimolar. Konsentrasi setinggi itu dinilai cukup untuk menimbulkan reaksi dengan asam amino pada protein apo B, misalnya terjadi ikatan dengan gugus amino bebas.

Reaksi antara aldehid dengan gugus amino sangat mungkin terjadi dengan pembentukan basa Schiff melalui reaksi gugus aldehid dan gugus NH_2 . Aldehid dengan konfigurasi α , β dan mengandung ikatan rangkap (misal : $\text{CH} = \text{CH} - \text{CHO}$) adalah bersifat fungsional ganda (bifunctional) dan dapat bereaksi dengan nukleofil (misal NH_2 , SH, OH) membentuk 'Michael adducts' dengan nukleofil XH terikat pada karbon nomor 3 yaitu seperti $\text{CHX} - \text{CH}_2 - \text{CHO}$. Gugus CHO selanjutnya mampu berkonsentrasi dengan NH_2 membentuk basa Schiff (Esterbauer et al., 1976; Esterbauer, 1985)

Reaksi malonaldehid dengan gugus amino akan membentuk struktur aminoiminopropena ($\text{RN} = \text{CH} - \text{CH} = \text{NHR}$). Berbagai reaksi mungkin sekali berlangsung setelah diawali dengan terikatnya aldehid pada komponen apo-B. Adanya aldehid atau gugus fungsional karbonil dalam komponen apo-B ditunjukkan dengan mereaksikan LDL yang teroksidasi dengan 2,4-dihidroksifenilhidrazin dan diikuti pemisahan apo-B dari bagian lemaknya. Apo-B yang terpisahkan berwarna kuning sebagai akibat terikatnya hidrazon secara kovalen dan memberikan absorbbansi maksimum pada panjang gelombang 365 nm (Esterbauer et al., 1990).

DAFTAR PUSTAKA

- Aqel, N.M., Ball, R.Y., Waldman, H., and Mitchinson, M.J. 1984. Monocyte origin of foam cells in human atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 53 : 256 - 271
- Brown, M.S., Basu, S.P., Falck, J.R., Ho, Y.R., and Goldstein, J.L. 1980. The scavenger pathway for lipoprotein degradation : specificity of the binding site that mediate the uptake of negatively charged LDL by macrophage. *J. Supramol. Struct.* 13 : 67 - 81.
- Brown, M.S., and Goldstein, J.L. 1983. Lipoprotein metabolism in the macrophage : Implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.* 52 : 223 - 261.
- Carew, T.E., Schwenke, D.C., and Steinberg, D. 1987. Antiatherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect : Evidence that antioxidants in vivo can selectively inhibit low density lipoprotein degradation in macrophage-rich fatty streaks and slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84 : 7725 - 7729
- Curzio, M. 1988. Interaction between neutrophils and 4-hydroxyalkenals and consequences on neutrophil motility. *Free Radical Res. Commun.* 5 : 55 - 66.
- Di Mascio, P., Kaiser, S., and Sies, H. 1989. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quancer. *Arch. Biochem. Biophys.* 274 : 532 - 538.
- Esterbauer, H., Ertl, A., and Scholz, N. 1976. The reaction of cysteine with α , β -unsaturated aldehydes. *Tetrahedron* 32 : 285 - 289
- Esterbauer, H. 1985. Lipid peroxidation products : formation, chemical properties and biological activities. Dalam *Free Radicals in Liver Injury* (Poly, G., Cheeseman, K.H., Dianzani, M.U., and Slater, T.F., Eds.), IRL Press, Oxford, England. pp. 29 - 47.
- Esterbauer, H., Jurgens, G., Quehenberger, O., and Koller, E. 1987. Autoxidation of human low density lipoprotein : Loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J. Lipid Res.* 28 : 495 - 509.
- Esterbauer, H., Quehenberger, O., and Jurgens, G. 1988a. Oxidation of human low density lipoprotein with special attention to aldehydic lipid peroxidation products. Dalam *Free radicals : Methodology and concepts* (Rice-Evans, C., and Halliwell, B., Eds.). The Richelieu Press, London, pp. 243 - 268.
- Esterbauer, H., Jurgens, G., and Quehenberger, O. 1988b. Modification of human low density lipoprotein by lipid peroxidation. Dalam *Oxygen radical in biology and medicine* (Simic, M., Taylor, K., Ward, J., and van Sonntag, C., Eds.), Plenum Press, New York. pp. 369 - 373.
- Esterbauer, H., Striegl, G., Puhl, H., Oberreither, S., Rotheneder, M., El-Saadani, M., and Jurgens, G. 1989a. The role of vitamin E and carotenoids in preventing oxidation of low density lipoproteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 570 : 254 - 267.
- Esterbauer, H., Rotheneder, M., Striegl, G., Waeg, G., Ashy, A., Sattler, W., and Jurgens, G. 1989b. Vitamin E and other lipophilic antioxidants protect LDL against oxidation. *FAT Sci. Technol.* 91 : 316 - 324.
- Esterbauer, H., Zollner, H., and Schaur, R.J. 1989c. Aldehydes formed by lipid peroxidation : Mechanism of formation, occurrence and determination. Dalam *Membrane lipid oxidation* (Vigo-Pelfrey, C., Ed.) Vol. I., CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 239 - 268.
- Esterbauer, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G., Triegl, G., and Jurgens, G. 1990. Biochemical, structural, and functional of oxidized low density lipoprotein. *Chem. Res. Toxicol.* 3 (2) : 77 - 92.
- Fogelman, A.M., Schechter, I., Saeger, J., Hokom, M., Child, J.S., and Edwards, P.A. 1980. Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 77 : 2214 - 2218.
- Gerrity, R.G. 1981. The role of the monocyte in atherogenesis. I. Transition of blood-borne monocytes into foam cells in fatty lesions. *Am J. Pathol.* 103 : 181 - 190.
- Gey, K.F., and Puska, P. 1989. Plasma vitamin E and A inversely related to mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 570 : 268 - 282.
- Gianturco, S.H., and Bradley, W.A. 1987. Lipoprotein receptors. Dalam *Plasma lipoproteins* (Gotto, A.M., Ed.). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 183 - 220.
- Glasgow, W.C., Harris, T.M., and Brash, A.R. 1986. A short chain aldehyde is a major lipoxygenase product in arachidonic acid stimulated porcine leucocytes. *J. Biol. Chem.* 261 : 200 - 204.
- Glavind, J., Hartmann, S., Clemmensen, J., Jessen, K.E., and Dam, H. 1952. Studies on the role of lipoperoxides in human pathology. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 30 : 1 - 6.
- Goldstein, J.L., and Brown, M.S. 1979. Low density lipoprotein pathways and its relation to atherosclerosis. *Annu. Rev. Biochem.* 46 : 897 - 930.
- Goto, Y. 1982. Lipid peroxides as a cause of vascular disease. Dalam *Lipid peroxides in biology and medicine* (Yagi, K., Ed.), Academic Press, Orlando. pp. 295 - 303.
- Haberland, M.E., Fogelman, A.M., and Edwards, P.A. 1982. Specificity of receptor-mediated recognition of malondialdehyde-modified low density lipoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 79 : 1712 - 1716.
- Haberland, M.E., Olch, C.L., and Fogelman, A.M. 1984. Role of lysine in mediating interaction of modified low density lipoproteins with the scavenger receptor of human monocyte macrophages. *J. Biol. Chem.* 259 : 11305 - 11311.

- Haberland, M.E., and Fogelman, A.M. 1987. The role of altered lipoprotein in the pathogenesis of low atherosclerosis. *Am. Heart J.* 113 : 573 - 577.
- Henriksen, T., Mahoney, E.M., and Steinberg, D. 1981. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells : recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78 : 6499-6503.
- Hessler, J.R., Morel, D.W., Lewis, L.J., and Chisolm, G.M. 1983. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Arteriosclerosis* 3 : 215 - 222.
- Hiramatsu, K., Rosen, H., Heinecke, J.W., Wolfbaur, G., and Chait, A. 1987. Superoxide initiates oxidation of low density lipoprotein by human monocytes. *Arteriosclerosis* 7 : 55 - 60.
- Hoff, H.F., Chisolm, G.M., Morel, D.W., Jurgens, G., and Esterbauer, H. 1988. Chemical and functional changes in LDL following modification by 4-hydroxynonenal. *Dalam Oxy-radicals in Molecular Biology and Pathology* (Cerutti, P.A. McCord, J.M. and Fridovich, T., Eds.). Alan R. Liss, New York, pp. 459-472.
- Kaneko, T., Honda, S., Nakano, S.I., and Matsuo, M. 1987. Lethal effects of a linoleic acid hydroperoxide and its autoxidation products, unsaturated aliphatic aldehydes, on human diploid fibroblasts. *Chem.-Biol. Interact.* 63 : 127 - 137.
- Kaneko, T., Kaji, K., and Matsuo, M. 1988. Cytotoxicities of a linoleic acid hydroperoxide and its related aliphatic aldehydes toward cultured human umbilical vein endothelial cells. *Chem.-Biol. Interact.* 67 : 295 - 304.
- Kita, T., Nagano, Y., Yokode, M., Ishi, K., Kume, N., Ooshima, A., Yoshida, H., and Kawai, C. 1987. Probucol prevents the progression of atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit, an animal model for familial hypercholesterolemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84 : 5928 - 5931.
- Kritchevsky, D. 1979. An update on lipids, lipoproteins and fat metabolism. *Dalam Medicines called nutrition.* Medical education programs, Ltd. Englewoods Cliffs. p.61.
- Morel, D.W., Hessler, J.R., and Chisolm, G.M. 1983. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J. Lipid Res.* 24 : 1070-1076.
- Morel, D.W., DiCorleto, P.E., and Chisolm, G.M. 1984. Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis* 4 : 357 - 367.
- Rosenfeld, M.E., Tsukada, T., Gown, A.M., and Ross, R. 1987. Fatty streak initiation in Watanabe heritable hyperlipidemic and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis* 1 : 9 - 23.
- Parthasarathy, S., Steinbrecher, U.P., Barnett, J., Witztum, J.L., and Steinberg, D. 1985. Essential role of phospholipase A₂ activity in endothelial-induced modification of low density lipoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82 : 3000 - 3004.
- Quinn, M.T., Parthasarathy, S., Fong, L.G., and Steinberg, D. 1987. Oxidatively modified low density lipoproteins : A potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophage during atherogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84 : 2995 - 2998.
- Ross, R., and Glomset, J.A. 1976. The pathogenesis of atherosclerosis (Part I). *N. Engl. J. Med.* 295 : 369 - 377.
- Schuh, J., Fairclough, G.F., and Haschemeyer, R.H. 1978. Oxygen mediated heterogeneity of apo-low-density-lipoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75 : 3173 - 3177.
- Steinbrecher, U.P., Parthasarathy, S., Leake, D.S., Witztum, J.L., and Steinberg, D. 1984. Modification of low density lipoprotein by endothelial cell involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81 : 3883 - 3887.
- van Hinsbergh, V.M.W., Scheffer, M., Havekes, L., and Kempen, H.J.M. 1986. Role of endothelial cells and their products in the modification of low density lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta* 878 : 49 - 64.
- Wissler, R.W. 1978. Progression and regression of atherosclerosis lesions. *Adv. Exp. Med. Biol.* 104 : 77 - 109.
- Yagi, K. 1986. Increased serum lipid peroxides initiate atherogenesis. *Bio Essays* 1 : 58 - 60.
- Yang, C.Y., Chan, L., and Gotto, A.M. 1987. The complete structure of human apolipoprotein B-100 and its messenger RNA. *Dalam Plasma Lipoproteins* (Gotto, A.M., Ed.). Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, pp. 77 - 93).