

**EFEK EKSTRAK KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) TERHADAP
JUMLAH SEL ENDOTEL DAN KETEBALAN DINDING ARTERI KORONER
TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*) DENGAN PAPARAN ASAP
MESIN BERBAHAN BAKAR BENSLIN**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh:
Sakinah**

NIM: 0910710012

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**EFEK EKSTRAK KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) TERHADAP
JUMLAH SEL ENDOTEL DAN KETEBALAN DINDING ARTERI KORONER
TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*) DENGAN PAPARAN ASAP**

MESIN BERBAHAN BAKAR BENSLIN

Oleh :

Sakinah

NIM. 0910710012

Telah diuji pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 14 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Arliek Rio Julia, MS

NIP. 19700526 199702 2 005

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Prof. dr. Moch. Aris Widodo, MS, SpFK, PhD

NIP. 19480408 197903 2 001

dr. Rachmad Sarwo Bakti

NIP. 19810619 200812 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono DTM& H, MSc, SpPark

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat, karunia, serta hidayah yang senantiasa tercurah, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Arteri Koroner Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin”. Tak lupa penulis sampaikan shalawat serta salam terhadap junjungan kita Nabi Muhammad Saw.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono S. Mintaroem, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Prof. Dr. Dr. Teguh Wahyu Sardjono DTM & H, MSc, SpParK, Kajur Kedokteran atas bimbingannya.
3. Prof. dr. Moch. Aris Widodo, Ms. SpFK. PhD, selaku dosen pembimbing pertama yang telah membimbing dalam pemilihan judul dan penelitian.
4. dr. Rachmad Sarwo Becti, selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan dukungan dan bantuan, serta membimbing untuk bisa menulis dengan baik.
5. dr. Arliek Rio Julia, MS, selaku dosen penguji atas saran-saran yang telah diberikan demi perbaikan tugas akhir ini.
6. Segenap tim pengelola tugas akhir, etik, dan staf Laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi FKUB atas bantuan dan dukungannya untuk memudahkan saya dalam menyelesaikan penelitian.

7. Yang tercinta ibunda Ratna dan ayahanda Syahrir Marzuki, serta kak Udin, kak Riar, kak Mila, kak Arni, kak Syahnaz, kak Santi, dan kak Zulfa atas segala perhatian, kasih sayang, bantuan, dan doa demi kesuksesan saya.
8. Tim peneliti kacang tunggak (Arum Gladys, Vidi Prasetyo, Diana Bonton, Obi Chandra, Mesha Syafitra, Dhany Pristianto) atas kerjasama dan bantuannya.
9. Keluarga heries dan tkp yang luar biasa (Ines, Luki, Cendy, Adis, Ditaris, Vivi, Ratih, Fika, Nying, Anis, Desty, Dedy, Er, Ersyad, Bogi, Ote) atas semangat dan bantuan yang tidak pernah putus.
10. Sahabat SMA (Sevi, Eli, Alvita, Mutia) dan sahabat di rumah (Wahyuningsih) yang selalu menemani selama proses penulisan.
11. Teman-teman Pendidikan Dokter FKUB 2009, dan semua teman-teman lainnya atas persahabatan, persaudaraan, dan kenangan indah lainnya.
12. Seluruh pihak yang telah memberikan bantuan moril maupun materiil demi penyelesaian tugas akhir ini.

Meskipun penulis telah mencurahkan segala kemampuan demi kesempurnaan tugas akhir ini, namun penulis menyadari segala kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun merupakan masukan yang sangat berarti demi penyempurnaan karya selanjutnya. Akhirnya, semoga tugas akhir ini dapat menambah wawasan para pembaca.

Malang, 3 Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Sakinah. 2013. **Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Arteri Koroner Tikus Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin**. Tugas akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembimbing: (1) Prof. dr. Moch. Aris Widodo, Ms. SpFK. PhD (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti.

Particulate Matter merupakan komponen emisi buang kendaraan bermotor yang memiliki efek proaterogenik, melalui mekanisme stres oksidatif menyebabkan pelepasan sel endotel dan penebalan dinding arteri akibat disfungsi endotel, sebuah penanda awal aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit kardiovaskuler yang dapat bermanifestasi sebagai penyakit jantung koroner. Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) berdasarkan kajian teoritis mengandung senyawa genistein yang dapat bekerja sebagai antioksidan dan antiinflamasi sehingga mampu mencegah terjadinya disfungsi endotel akibat paparan asap. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh pemberian ekstrak kacang tunggak terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Tiga puluh enam tikus wistar jantan dibagi secara random dalam 9 kelompok, terdiri dari kelompok kontrol negatif (N), kelompok yang diberi oksigen 4 menit (N+O₄) kelompok yang diberi ekstrak kacang tunggak (N+G), kelompok yang diberi perlakuan asap 2, 3 dan 4 menit, masing-masing diberikan oksigen 4 menit dengan ekstrak kacang tunggak (A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, A₄O₄(+)G) dan tanpa ekstrak kacang tunggak (A₂O₄(-)G, A₃O₄(-)G, A₄O₄(-)G). Penghitungan jumlah sel endotel dan pengukuran ketebalan dinding arteri koroner dilakukan dengan menggunakan mikroskop digital dot slide dan *software Olyvia*. Berdasarkan uji *One Way ANOVA*, didapatkan nilai $p < 0,05$ untuk sel endotel dan ketebalan dinding arteri. Hasil analisa *Post Hoc LSD* menunjukkan adanya peningkatan yang signifikan dari jumlah sel endotel dan penurunan yang signifikan dari ketebalan dinding arteri pada kelompok A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, A₄O₄(+)G dibandingkan dengan kelompok A₂O₄(-)G, A₃O₄(-)G, A₄O₄(-)G. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kacang tunggak dapat mencegah penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding arteri pada tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.

Kata Kunci : kacang tunggak; particulate matter; asap; sel endotel; ketebalan dinding arteri

ABSTRACT

Sakinah. 2013. **Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Extract to the Vascular Wall Thickness and Endothelial Cell Count in the Coronary Artery Wistar Male Rats (*Rattus norvegicus*) Exposed to Smoke of Gasoline-Fueled Machine**. Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. dr. Moch. Aris Widodo, MS. SpFK. PhD, (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti.

Particulate matter from vehicle engine exhaust have a proatherogenic effect through oxidative stress mechanism can cause the thickening of vascular wall and the shedding of endothelial cell as result of endothelial dysfunction, an early marker for atherosclerosis. Atherosclerosis is the main cause of cardiovascular diseases may manifest as coronary heart disease. From the previous study, cowpea (*Vigna unguiculata*) contains genistein as an antioxidant and anti-inflammatory, can prevent endothelial dysfunction after exposed to smoke of gasoline-fueled machine. The purpose of this study was to determine the effect cowpea extract to vascular wall thickness and endothelial cell count in wistar rat (*Rattus norvegicus*) coronary artery. Thirty six male wistar rat were divided randomly into seven groups, comprised of groups that were wistar rat with negative control (N), normal + oxygen (N+O₄), normal + cowpea extract (N+G), wistar rat with 2, 3, and 4 minute exposure with cowpea extract (A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, A₄O₄(+)G) and without cowpea extract (A₂O₄(-)G, A₃O₄(-)G, A₄O₄(-)G). Each intervention was given for thirty days. Vascular wall thickness and endothelial cell count was calculated using scan dot and Olyvia software. One Way ANOVA analysis showed significant differences of both vascular wall thickness and endothelial cell count. Statistical analysis result Post Hoc LSD Test, showed significant decreasing vascular wall thickness and significant increasing of endothelial cell in A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, A₄O₄(+)G compared with A₂O₄(-)G, A₃O₄(-)G, A₄O₄(-)G. It is concluded that extract of cowpea can prevent the thickening of vascular wall and the shedding of endothelial cell on the coronary artery wistar rat exposed to smoke of gasoline-fueled machine.

Key words : cowpea; particulate matter; smoke; endothelial cell; vascular wall thickness;

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Aterosklerosis.....	7
2.1.1 Epidemiologi.....	7
2.1.2 Faktor Resiko	8

2.1.3 Patofisiologi.....	9
2.1.4 Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Arteri.....	10
2.2 Pembuluh Darah Arteri.....	12
2.2.1 Struktur Mikroskopik Umum Arteri	12
2.2.2 Arteri Koroner	13
2.3 Radikal Bebas	15
2.4 Asap Kendaraan Bermotor.....	16
2.4.1 Asap Kendaraan Bermotor dan Polusi Udara	16
2.4.2 PM dan Disfungsi Endotel	17
2.5 Oxidative Burst.....	20
2.5.1 Proses	20
2.5.2 Myeloperoxidase (MPO).....	21
2.6 Stres Oksidatif.....	22
2.7 Antioksidan.....	24
2.8 Kacang Tunggak	25
2.8.1 Morfologi	25
2.8.2 Taksonomi.....	26
2.8.3 Penyebaran.....	27
2.8.4 Pemanfaatan	27
2.8.5 Kandungan Gizi.....	28
2.8.6 Efek Antioksidan dan Antiinflamasi.....	29
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN.....	31
3.1 Kerangka Konsep.....	31
3.2 Hipotesis Penelitian.....	33
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	34

4.1	Rancangan Penelitian	34
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian	34
4.2.1	Populasi Penelitian	34
4.2.2	Pemilihan Sampel.....	34
4.2.2.1	Kriteria Inklusi.....	34
4.2.2.2	Kriteria Eksklusi.....	34
4.2.3	Jumlah Sampel.....	37
4.3	Variabel Penelitian	37
4.3.1	Variabel Bebas	37
4.3.2	Variabel Tergantung	37
4.3.3	Variabel Kendali	37
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian	38
4.5	Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian.....	38
4.5.1	Bahan Penelitian	38
4.5.2	Alat/Instrumen Penelitian	38
4.6	Definisi Istilah/Operasional	39
4.7	Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data.....	40
4.7.1	Prosedur Ekstraksi Kacang Tunggak.....	40
4.7.2	Penentuan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak.....	41
4.7.3	Proses Perlakuan pada Tikus Percobaan	42
4.7.4	Pengambilan dan Pembuatan Sampel.....	45
4.7.4.1	Pengambilan Organ Arteri Koroner Tikus	45
4.7.4.2	Pembuatan Sediaan Histopatologi Arteri Koroner.....	46
4.7.5	Penghitungan Jumlah Sel Endotel	48
4.7.6	Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner	48

4.8	Pengolahan dan Analisis Data.....	49
4.9	Alur Penelitian	50
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	51
5.1	Hasil Penelitian	51
5.1.1	Jumlah Sel Endotel.....	55
5.1.2	Ketebalan Dinding Arteri.....	57
5.2	Analisis Data	59
5.2.1	Jumlah Sel Endotel.....	60
5.2.2	Ketebalan Dinding Arteri.....	63
BAB 6	PEMBAHASAN	66
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	71
5.1	Kesimpulan	71
5.2	Saran	71
	DAFTAR PUSTAKA.....	73
	PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	79
	LAMPIRAN.....	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Jantung dan Arteri Koroner	13
Gambar 2.2	Ukuran PM	18
Gambar 2.3	Kacang Tunggak	26
Gambar 4.1	Mesin untuk Pemberian Asap Kendaraan Bermotor	39
Gambar 4.2	Skema Alur Penelitian	50
Gambar 5.1	Arteri Koroner Tikus Normal	52
Gambar 5.2	Arteri Koroner Tikus Normal Oksigen 4 Menit	52
Gambar 5.3	Arteri Koroner Tikus Normal Ekstrak Kacang Tunggak	53
Gambar 5.4	Arteri Koroner Tikus Paparan Asap 2 Menit	53
Gambar 5.5	Arteri Koroner Tikus Paparan Asap 2 Menit dan Ekstrak Kacang Tunggak	53
Gambar 5.6	Arteri Koroner Tikus Paparan Asap 3 Menit	54
Gambar 5.7	Arteri Koroner Tikus Paparan Asap 3 Menit dan Ekstrak Kacang Tunggak	54
Gambar 5.8	Arteri Koroner Tikus Paparan Asap 4 Menit	54
Gambar 5.9	Arteri Koroner Tikus Paparan Asap 2 Menit dan Ekstrak Kacang Tunggak	55
Gambar 5.10	Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Kelompok Tanpa Paparan Asap	56
Gambar 5.11	Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap	56

Gambar 5.12 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel

Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan

Ekstrak Kacang Tunggak..... 56

Gambar 5.13 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel

Kelompok Paparan Asap tanpa dengan Ekstrak Kacang

Tunggak 57

Gambar 5.14 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Ketebalan Dinding Arteri

Kelompok Tanpa Paparan Asap 58

Gambar 5.15 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Ketebalan Dinding Arteri

Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap 58

Gambar 5.16 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Ketebalan Dinding Arteri

Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan

Ekstrak Kacang Tunggak..... 59

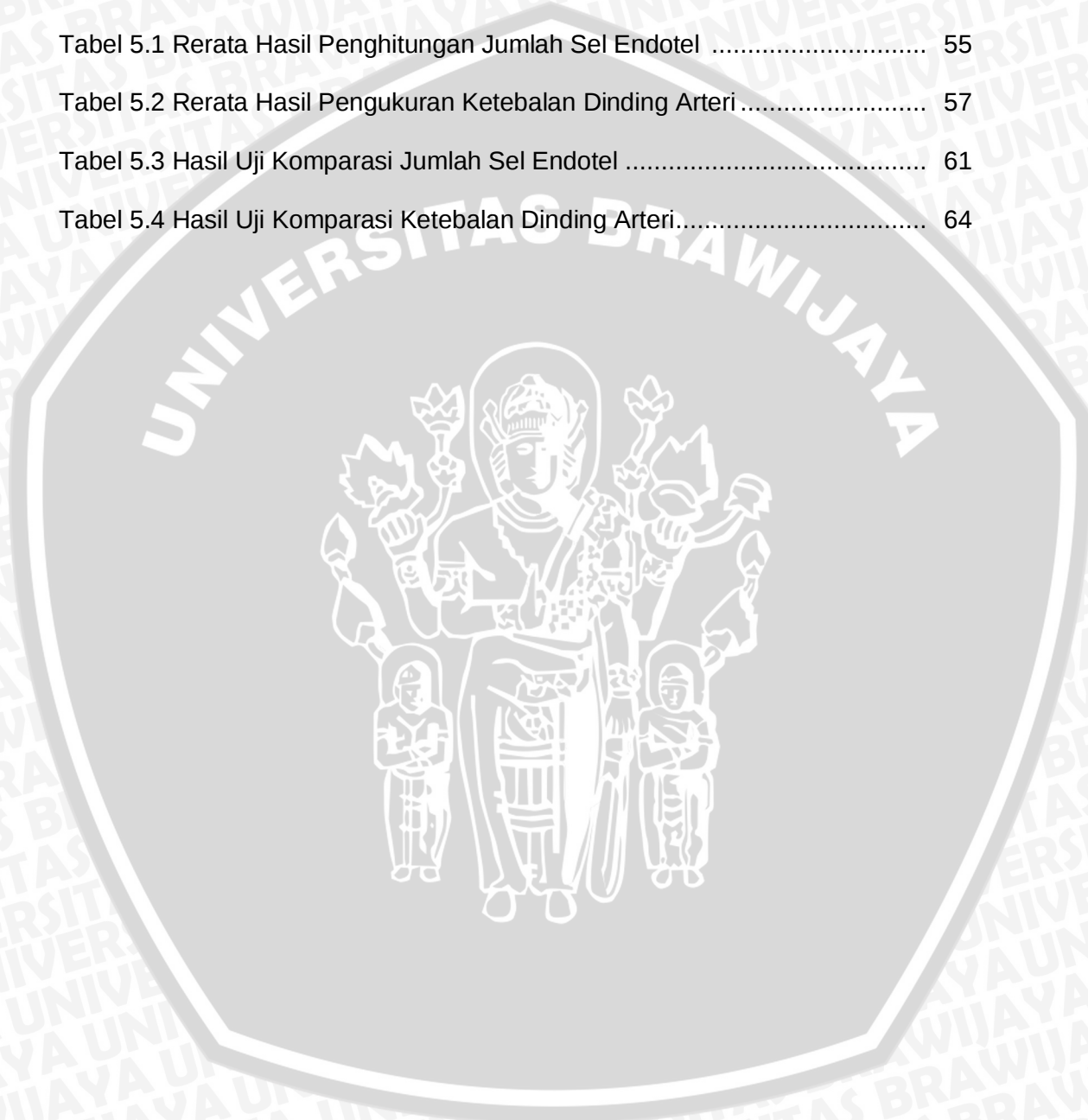
Gambar 5.17 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Ketebalan Dinding Arteri

Kelompok Paparan Asap tanpa dengan Ekstrak Kacang

Tunggak 59

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Biji Kacang Tunggak Setiap 100g	28
Tabel 5.1 Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel	55
Tabel 5.2 Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri	57
Tabel 5.3 Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel	61
Tabel 5.4 Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Arteri.....	64



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian.....	80
Lampiran 2 Data Berat Badan Tikus	83
Lampiran 3 Perhitungan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak	84
Lampiran 4 Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel.....	86
Lampiran 5 Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri.....	87
Lampiran 6 Analisis Data Jumlah Sel Endotel.....	88
Lampiran 7 Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel	92
Lampiran 8 Analisis Data Ketebalan Dinding Arteri.....	93
Lampiran 9 Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Arteri.....	97



DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

ADMA	Asymmetric Dimethylarginine
AHA	American Heart Association
AISI	Asosiasi Industri Sepeda Motor Indonesia
ANOVA	Analysis of Variance
CO	Karbon Monoksida
DDAH	Dimethylarginine Dimethylaminohydrolase
eNOS	Endothelial Nitric Oxide Synthase
Gaikindo	Gabungan Industri Kendaraan Bermotor Indonesia
H ₄ B	Tetrahydrobiopterin
H ₂ O ₂	Hidrogen Peroksida
HDL	High Density Lipoprotein
HE	Hematoksin Eosin
HOCL	Asam Hipoklorit
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule-1
iNOS	Inducible Nitric Oxide Synthase
LDL	Low Density Lipoprotein
LSD	Least Significant Difference
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MPO	Myeloperoxidase
NF-κB	Nuclear Factor-kappa B
nNOS	Neural Nitric Oxide Synthase
NO	Nitrit Oksida

NO_2	Nitrogen Dioksida
O_2^-	Superoksida
$\text{OH}^\cdot$	Hidroksil
ONOO^-	Peroksinitrit
Pb	Timbal
PJK	Penyakit Jantung Koroner
PM	Particulate Matter
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
$\text{RO}^\cdot$	Alkoksil
$\text{RO}_2^\cdot$	Peroksil
SO_2	Sulfur Dioksida
SOD	Superoxide Dismutase
SPSS	Statistical Product and Service Solution
STAT-1	Signal Transducers and Activators of Transcription-1
$\text{TNF-}\alpha$	Tumor Necrosis Factor- α
UFP	Ultrafine Particulate Matter
VCAM-1	Vascular Adhesion Molecule-1
VOC	Volatile Organic Compounds

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah kendaraan bermotor roda empat atau lebih sejak tahun 1986 terus bertumbuh. Tahun 2010 total kendaraan bermotor di seantero dunia mencapai 1,015 miliar unit. Data dari Gabungan Industri Kendaraan Bermotor Indonesia (Gaikindo) dan Asosiasi Industri Sepeda Motor Indonesia (AIS) kendaraan bermotor di Indonesia, termasuk di dalamnya roda dua, mobil, *pick up*, truk dan bus menembus angka 50.824.128 unit. Jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat 10 - 15 % per tahun (Arianto, 2011).

Penggunaan kendaraan bermotor yang meningkat menjadi masalah sendiri, mengingat emisi gas buangan kendaraan bermotor merupakan salah satu polutan yang dapat mencemari lingkungan dan berefek buruk pada kesehatan. Efek yang ditimbulkan tergantung dosis/kadarnya di udara dan lama/waktu paparan. Pada kendaraan bermotor sedang beroperasi, knalpot akan mengeluarkan *volatile organic compounds* (VOC), nitrogen dioksida (NO_2), sulfur dioksida (SO_2), *particulate matter* (PM) termasuk timbal (Pb) dan karbon monoksida (CO) (Amin, 2009; Prasetyo, 2013).

Particulate matter (PM) merupakan partikulat tersuspensi, termasuk komponen emisi buang kendaraan bermotor yang penting terkait pengaruhnya terhadap kesehatan. Studi epidemiologi memperlihatkan adanya konsistensi peningkatan resiko penyakit kardiovaskular akibat paparan PM baik dalam jangka waktu singkat maupun lama. Banyak mekanisme telah dijelaskan,

termasuk peningkatan koagulasi, vasokonstriksi arteri akut, respon sistem inflamasi dan aterosklerosis (Brook *et al.*, 2004).

Keberadaan PM pada organ vaskular dapat memicu *oxidative burst*, menyebabkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), mediator kimia, dan enzim sel periperal terutama neutrofil. Aktivasi fagositosis sudah terbukti secara *in vitro* dan *in vivo* menghasilkan ROS seperti superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) serta merelease *myeloperoxidase* (MPO). Peningkatan ROS karena *oxidative burst* memicu adanya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan sehingga dapat terjadi stres oksidatif (Halliwell dan Whiteman, 2004; Sierra-Vargas *et al.*, 2009).

Adanya suatu stres oksidatif memodulasi terjadinya disfungsi endotel. Disfungsi dan rusaknya endotel merupakan faktor penting dalam patogenesis penyakit kardiovaskular. Rusaknya endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah. Hal ini bisa disebabkan karena terjadi apoptosis, proteolisis matrix subendotelial dan pada kondisi inflamasi, hal ini berhubungan dengan sitokin, protease dan *complement-dependent neutrophil attack* (Lampka *et al.*, 2010).

Disfungsi endotel dapat berkembang menjadi aterosklerosis. Pada perkembangan plak aterosklerotik, terjadi perlekatan monosit ke molekul adhesi pada sel endotel arteri yang rusak. Monosit kemudian bermigrasi melalui endotel masuk ke dalam lapisan intima dinding arteri dan berubah menjadi makrofag. Makrofag kemudian mencerna dan mengoksidasi molekul lipoprotein, sehingga menjadi sel busa makrofag. Sel busa tersebut melepaskan zat-zat yang menimbulkan inflamasi dan pertumbuhan sel intima. (Guyton dan Hall, 2006).

Pertumbuhan sel ini dapat menyebabkan terjadinya penebalan pada dinding arteri.

Aterosklerosis yang terjadi pada pembuluh darah jantung bermanifestasi sebagai penyakit jantung koroner. Aterosklerosis pada arteri koroner merupakan penyebab kematian nomor satu, bertanggung jawab terhadap hampir 20% dari seluruh total kematian yang terjadi di Amerika Serikat (Ladich *et al.*, 2012). Perkembangan pengetahuan tentang bahaya ateroskeloris belum memberi efek signifikan terhadap penurunan angka kejadian penyakit tersebut. Angka kematian akibat penyakit jantung koroner (PJK) di Singapura hampir mencapai prosentase yang sama dengan Amerika Serikat dan Australia, merupakan peringatan bahwa negara - negara lain di Asia dapat mengalami peningkatan kejadian PJK secara tiba - tiba (Janus *et al.*, 1996).

Resiko terpapar asap kendaraan yang semakin tinggi perlu menjadi dasar pentingnya untuk mengupayakan suatu tindakan pencegahan terjadinya aterosklerosis. Masyarakat memiliki kecenderungan memanfaatkan pengobatan tradisional atas kesadaran untuk kembali ke alam sebagai bagian dari penerapan pola hidup alami. Kekayaan tumbuhan obat yang tersedia mendukung pemanfaatan pengobatan tradisional (Hembing, 2001).

Berbagai jenis tanaman kacang-kacangan banyak tumbuh di Indonesia sepanjang tahun. Salah satunya adalah kacang tunggak. Kacang tunggak dikenal sebagai jenis kacang-kacangan yang istimewa karena tahan terhadap panas. Kandungan karbohidrat kacang tunggak lebih tinggi dari kacang kedelai sedangkan kandungan protein kedua kacang tersebut setara. Akan tetapi pemanfaatan kacang tunggak di Indonesia masih sangat kurang. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai manfaat kacang tunggak dari segi

kesehatan untuk meningkatkan nilai kacang tunggak di masyarakat (Haliza dkk., 2010).

Kacang tunggak diketahui memiliki efek sebagai antioksidan dan antiinflamasi melalui kerja genistein. Genistein adalah turunan dari antioksidan isoflavon yang mampu menurunkan kadar lipid peroksidase dan meningkatkan enzim *superoxide dismutase* (SOD). Genistein bersifat reaktif terhadap radikal bebas sehingga dapat menghambat perkembangan sel kanker pada fase promosi (Pawiroharsono, 2001). Dilaporkan juga genistein dapat mencegah inflamasi melalui penekanan ekspresi mRNA yang dapat menghambat produksi molekul-molekul proinflamasi (Lu et al., 2009)

Efek kacang tunggak telah beberapa kali diteliti. Akan tetapi penelitian mengenai efeknya terhadap gambaran histopatologis arteri yang dipapar asap belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penulis tertarik untuk membuktikan adakah efek ekstrak kacang tunggak terhadap histopatologi arteri koroner tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek pemberian ekstrak kacang tunggak terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka tujuan dari penelitian dalam Tugas Akhir ini sebagai berikut:

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek ekstrak kacang tunggak terhadap histopatologi arteri koroner tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan penelitian ini secara khusus adalah:

1. Membuktikan pemaparan asap mesin berbahan bakar bensin dapat menyebabkan penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding arteri koroner.
2. Membuktikan bahwa ada hubungan lama paparan dengan penurunan jumlah sel endotel dan penebalan dinding arteri pada gambaran histopatologi arteri koroner tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.
3. Membuktikan bahwa ekstrak kacang tunggak dapat menghambat kerusakan dan pelepasan sel endotel dan mencegah penebalan dinding arteri pada gambaran histopatologi arteri koroner tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.

1.4 Manfaat Penelitian

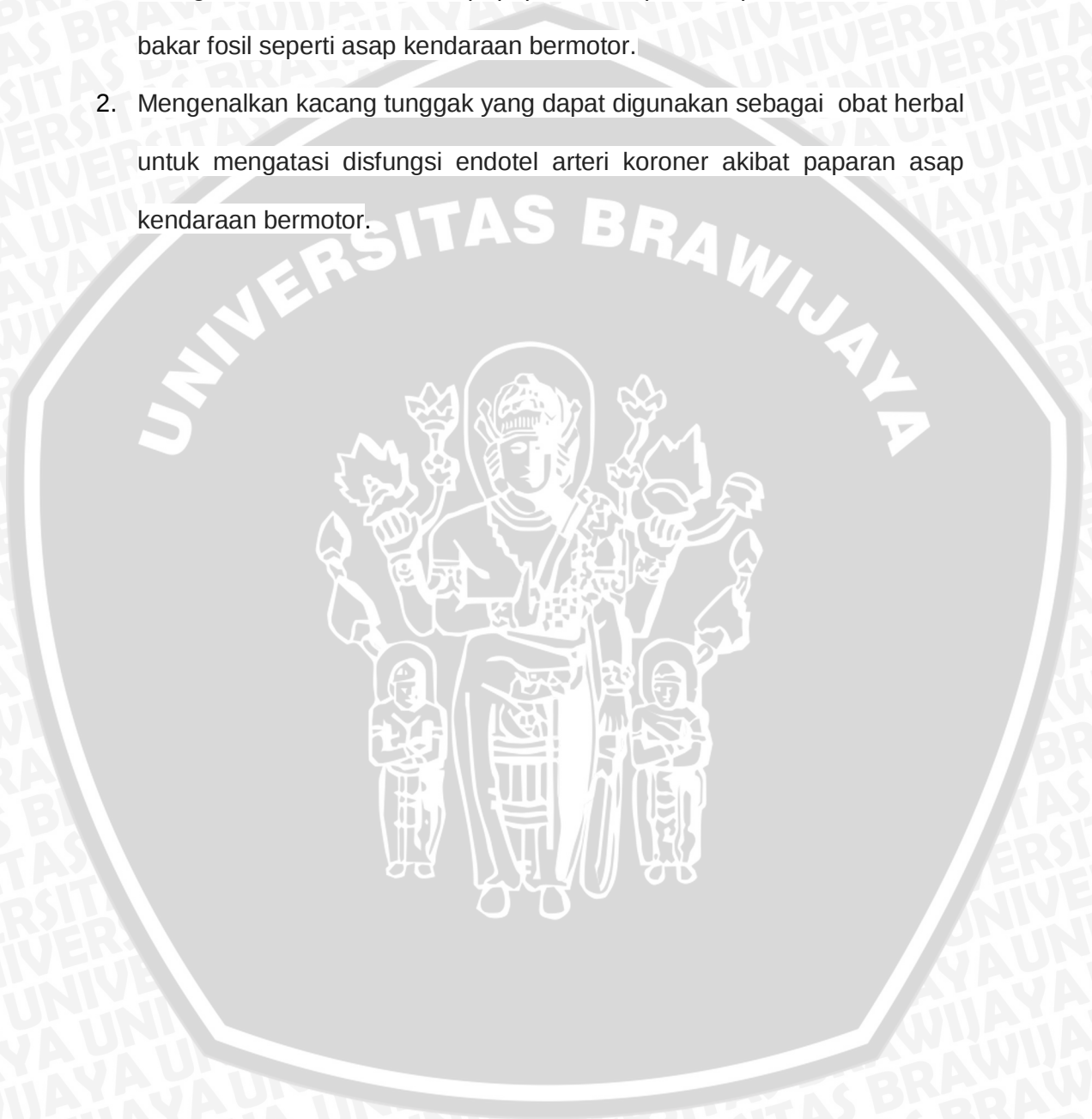
Manfaat yang dapat diambil dari penelitian dalam Tugas Akhir ini adalah:

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Turut menyumbang pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan, khususnya farmakologi obat tradisional.
2. Menambah referensi bacaan ilmiah yang dapat dijadikan kajian pustaka untuk penelitian atau penulisan karya ilmiah berikutnya yang terkait dengan efek ekstrak kacang tunggak

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memperluas pengetahuan masyarakat tentang efek dari kacang tunggak sebagai antioksidan terhadap paparan asap hasil pembakaran bahan bakar fosil seperti asap kendaraan bermotor.
2. Mengenalkan kacang tunggak yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk mengatasi disfungsi endotel arteri koroner akibat paparan asap kendaraan bermotor.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Epidemiologi

Aterosklerosis adalah kelainan pada pembuluh darah ditandai dengan lesi intima yang disebut ateroma atau *fibrofatty plaques* yang menonjol ke dalam dan menyumbat lumen pembuluh, memperlemah lapisan media di bawahnya (Robbin dkk., 2004). Aterosklerosis menjadi penyebab 75% kematian akibat gangguan kardiovaskuler dan ditemukan pada 80—90% penduduk Amerika Serikat berusia di atas tiga puluh tahun. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit kardiovaskuler, yang merupakan penyebab tersering kematian pada usia di atas 45. (Ehrlich, 2010). Aterosklerosis pada arteri koroner merupakan penyebab kematian nomor satu, bertanggung jawab terhadap hampir 20% dari seluruh total kematian yang terjadi di Amerika Serikat (Ladich *et al.*, 2012). Penyakit ini juga menjadi penyebab kematian dan kecacatan yang paling membebani dana kesehatan di negara berkembang. Karakteristik penyakit ini adalah fase asimtomatik yang sangat panjang (Tousoulis *et al.*, 2006).

Perkembangan pengetahuan tentang bahaya ateroskeloris belum memberi efek signifikan terhadap penurunan angka kejadian penyakit tersebut. Angka kematian akibat PJK di Singapura hampir mencapai prosentase yang sama dengan Amerika Serikat dan Australia, merupakan peringatan bahwa negara - negara lain di Asia dapat mengalami peningkatan kejadian PJK secara tiba - tiba (Janus *et al.*, 1996). Diperkirakan tahun 2020 penyakit *ischemic heart*

disease akibat PJK akan menjadi penyebab utama kecacatan dan kematian di seluruh dunia (Murray and Lopez, 1997 dalam Pasternak et al., 2004).

2.1.2 Faktor Resiko

Aterosklerosis adalah penyakit multifaktorial. Berdasarkan teori dan hasil analisis beberapa penelitian, faktor resiko dari aterosklerosis dikelompokkan menjadi tiga yaitu faktor resiko tradisional, faktor resiko lama/baru, dan faktor resiko baru. Faktor resiko tradisional adalah umur, jenis kelamin (laki-laki > wanita), sejarah dalam keluarga menderita penyakit kardiovaskular prematur, Total kolesterol, level *low density lipoprotein* (LDL) yang tinggi, level *high density lipoprotein* (HDL) yang rendah, hipertensi, merokok, obesitas. Faktor lama/baru tekanan darah yang tinggi sampai normal, sindrom metabolik, Diabetes mellitus atau dalam status *impaired glucose tolerance* dan *impaired fasting glucose*. Faktor resiko baru adalah kadar apolipoprotein B, trigliserida, lipoprotein, homosistein, dan *high-sensitivity C-reactive protein* (Fruchart et al., 2004).

Aterosklerosis meningkat seiring pertambahan usia dan secara klinis belum nyata hingga usia pertengahan, saat lesi mulai mencederai organ. Insiden infark miokardium akibat aterosklerosis meningkat lima kali lipat pada usia empat puluh dan enam puluh tahun. Aterosklerosis juga jarang ditemukan pada wanita usia subur, kecuali memiliki predisposisi diabetes melitus, hiperlipidemia, atau hipertensi berat. Namun, setelah menopause, insiden penyakit akibat aterosklerosis meningkat karena penurunan hormon estrogen alami. Predisposisi keluarga terhadap aterosklerosis sebagian besar bersifat poligenik, sehingga biasanya berhubungan dengan faktor risiko lain, seperti hipertensi atau diabetes melitus (Robbin et al., 2004).

Beberapa dekade terakhir berkembang suatu fakta epidemiologi dan klinis tentang potensi merusak polusi udara terhadap kesehatan yang berhubungan dengan penyakit jantung dan stroke. Polusi udara terutama adalah CO, NO₂, SO₂, ozon dan PM (Brook, 2004). Hubungan antara polusi udara dengan kejadian kelainan kardiovaskular didemonstrasikan pada penelitian paparan jangka panjang oleh *American Cancer Society* pada 500.000 orang dewasa. Terjadi peningkatan sebanyak 12% kematian akibat penyakit kardiovaskular setiap peningkatan 10 µg/m³ *Fine* PM setelah paparan jangka panjang. Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa peningkatan terbanyak kasus kematian adalah *ischemic heart disease* yaitu sebesar 18% (Araujo dan Nel, 2009).

2.1.3 Patofisiologi

Endotel pembuluh darah merupakan jaringan yang sangat responsif secara metabolik. Apabila terdapat rangsangan terhadap endotel pembuluh darah yang terus - menerus, akan mengakibatkan keadaan yang dinamakan disfungsi endotel (Lawrence, 2006). Istilah disfungsi endotel menerangkan beberapa jenis perubahan status fungsional sel endotel yang terjadi sebagai respon terhadap rangsangan lingkungan. Disfungsi endotel dapat bermanifestasi sebagai gangguan *endothelium-dependent vasodilatation*, penurunan sintesis nitrit oksida (NO), peningkatan kadar endotelin, dan pembentukan ROS (Robbin *et al.*, 2004). Proses patologis yang mendasari perkembangan dan kejadian disfungsi endotel dimodulasi oleh stress oksidatif (Lawrence, 2006).

Adanya suatu disfungsi endotel menyebabkan monosit dan LDL yang beredar mulai menumpuk di tempat yang mengalami kerusakan. Monosit melalui endotel masuk ke dalam lapisan intima pembuluh darah dan berdiferensiasi

menjadi makrofag. Makrofag selanjutnya mencerna dan mengoksidasi tumpukan lipoprotein, sehingga penampilan makrofag menyerupai sel busa. Sel busa ini kemudian bersatu pada pembuluh darah dan membentuk *fatty streak*. Dengan berjalannya waktu *fatty streak* menjadi lebih besar dan bersatu, dan jaringan otot polos serta jaringan fibrosa di sekitarnya berproliferasi membentuk plak. Makrofag melepaskan zat yang menimbulkan inflamasi dan proliferasi lebih lanjut dari jaringan fibrosa dan otot polos pada permukaan dalam dinding arteri. Penimbunan lipid ditambah proliferasi sel menjadi sangat besar sehingga plak menonjol ke arah lumen dan sangat mengurangi aliran darah. Pada tempat penonjolan plak, permukaan plak yang kasar dapat menyebabkan terbentuknya trombus, memicu terjadinya aterosklerosis (Guyton dan Hall, 2006).

2.1.4 Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Arteri

Endotelium merupakan lapisan selular yang mengelilingi seluruh pembuluh darah yang ada di sistem peredaran darah, dan juga sebagai pembatas antara ruang pembuluh darah dan jaringan. Lapisan seluler ini tidak hanya sebatas sebagai struktur yang kaku, tetapi juga diakui sebagai organ dinamis yang berperan penting dalam mengatur fungsional kesehatan dan penyakit. Sebagai pembatas, endotelium bersifat semipermeable dan mengatur dalam transport molekul-molekul kecil dan besar. Sifatnya yang dinamis, endotelium memiliki fungsi metabolik dan sintetik (Limaye dan Vadas, 2007).

Sel endotel mengatur beberapa aspek hemostasis normal. Pada tingkat dasar, sel ini menunjukkan adanya perangkat antitrombosit, antikoagulan, dan fibrinolisis akan tetapi setelah mengalami cedera, sel ini mampu menunjukkan fungsi prokoagulan. Endotel dapat diaktifkan oleh agen infeksi, faktor hemodinamik, mediator plasma dan yang paling bermakna, oleh sitokin. Jejas

endotel mungkin merupakan penyebab aterosklerosis. Kehilangan nyata (*denudation*) sel endotel memicu trombosis dan proliferasi otot polos (Robbin *et al.*, 2004).

Ketika suatu pembuluh darah terpapar faktor resiko, endotelium akan berespon, mengaktivasi protein kinase C dan *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B). Selanjutnya akan terjadi upregulasi gen yang menginduksi aktivitas *angiotensin converting enzyme*, produksi local angiotensin II, dan ekspresi untuk adhesi molekul pada permukaan endotel. Respon-respon ini akan menginisiasi terjadinya respon selular yang akan menjadikan endotel arteri koroner mengalami disfungsi (Tousoulis *et al.*, 2006).

Disfungsi dan rusaknya endotel penting dalam perkembangan penyakit kardiovaskular. Rusaknya endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah. Hal ini bisa disebabkan karena terjadi apoptosis, proteolisis matrix subendotelial dan pada kondisi inflamasi, hal ini berhubungan dengan sitokin, protease dan *complement-dependent neutrophil attack* (Lampka *et al.*, 2010).

Pelepasan endotel dapat menyebabkan adhesi platelet pada subendotel, kemotaksis faktor monosit, pelepasan *platelet-derived* dan *monocyte derived growth factor* yang memicu migrasi otot polos pembuluh darah dari tunika media ke tunika intima, diikuti replikasi sintesis jaringan ikat dan proteoglikan serta pembentukan plak fibrosa. Sel endotel dan sel otot polos sendiri juga menghasilkan *growth factor* berperan pada proliferasi sel otot di tunika intima dan produksi matrik ekstraseluler (Russel, 1999). Pada perkembangan plak aterosklerotik, terjadi perlekatan monosit ke molekul adhesi pada sel endotel arteri yang rusak. Monosit kemudian bermigrasi melalui endotel masuk ke dalam

lapisan intima dinding arteri dan berubah menjadi makrofag. Makrofag kemudian mencerna dan mengoksidasi molekul lipoprotein, sehingga menjadi sel busa makrofag. Sel busa tersebut melepaskan zat-zat yang menimbulkan inflamasi dan pertumbuhan sel di tunika intima. (Guyton dan Hall, 2006).

Ketika proses aterosklerosis berkembang, lesi lanjut aterosklerosis terbentuk pertama pada daerah yang mengalami penebalan tunika intima (Stary *et al.*, 1992). Penebalan tunika intima merupakan penanda fase awal terjadinya aterosklerosis. Evaluasi penebalan tunika intima sangat penting secara klinis (Kume *et al.*, 2005). *American Heart Association* (AHA) merekomendasikan pengukuran dari Kompleks Intima Media sebagai metode paling baik untuk identifikasi aterosklerosis. Ketebalan tunika intima media dianggap sebagai penanda awal terjadinya aterosklerosis (Muis dan Murtala, 2011).

2.2 Pembuluh Darah Arteri

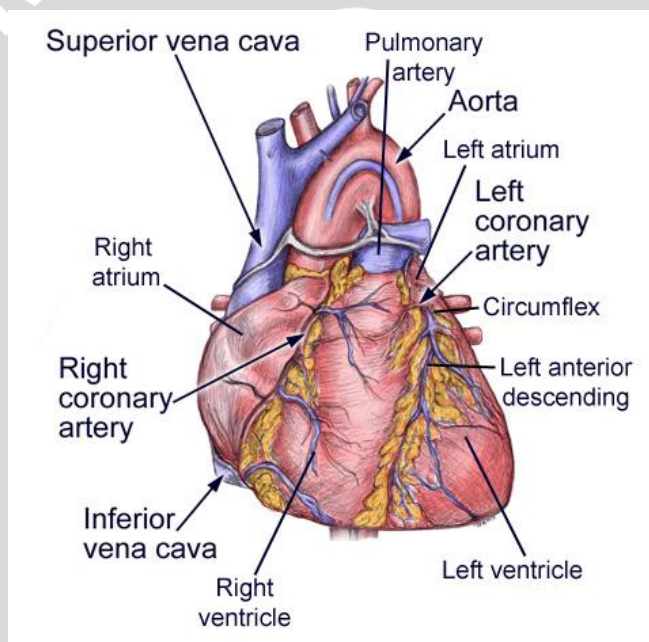
2.2.1 Struktur Mikroskopik Umum Arteri

Secara histologi arteri memiliki struktur yang umum yaitu tersusun atas 3 lapisan konsentris yaitu : tunika intima atau lapisan intima, tunika media atau lapisan tengah dan lapisan luar yang disebut tunika adventitia. Tunika intima terdiri dari satu lapis sel endotel, yang ditopang oleh lapisan subendotel jaringan ikat longgar yang kadang mengandung sel otot polos. Pada arteri, tunika intima memiliki lamina elastika interna. Tunika media terutama terdiri atas lapisan konsentris sel-sel otot polos, terdapat serat dan lamina elastin, serat retikulin (kolagen tipe III), proteoglikan, dan glikoprotein dalam jumlah bervariasi. Pada arteri, tunika media memiliki lamina elastika eksterna. Tunika adventisia terutama terdiri atas serat kolagen dan elastin. Kolagen dalam adventisia berasal dari tipe

l. Lapisan adventisia berangsur menyatu dengan jaringan ikat organ tempat pembuluh darah berada (Junqueira and Carneiro, 2004).

2.2.2 Arteri Koroner

Sirkulasi darah melalui arteri adalah sirkulasi untuk jantung sendiri. Arteri koroner kanan dan kiri merupakan cabang dari *aorta ascending*. Arteri koroner bercabang menjadi arteri interventrikular anterior dan posterior, marginal dan *circumflex*. Melalui cabang inilah otot jantung disuplai (Buddiga *et al.*, 2012).



Gambar 2.1 : Jantung dan Arteri Koroner (Buddiga *et al.*, 2012)

Arteri terbagi atas arteri besar, arteri kecil dan sedang, dan arteri berukuran terkecil disebut arterioli (Buddiga *et al.*, 2012). Arteri koroner termasuk dalam arteri muskular sedang. Arteri ini berfungsi untuk mensuplai darah bagi organ jantung. Insiden penyempitan atau obstruksi arteri koroner karena penebalan tunika intima (proliferasi intimal) sering terjadi pada usia yang lebih

muda dari pada kasus penyempitan arteri lainnya. Hal ini dikarenakan arteri koroner mengalami proliferasi intimal yang lebih awal (Simanjuntak, 2003).

Arteri koroner kanan dan kiri yang mendistribusikan darah ke jaringan otot jantung, dapat digolongkan sebagai tipe muskuler dan mempunyai lumen yang relatif besar. Gambaran struktur mikroskopis dinding arteri koroner dari arah dalam keluar dinding adalah sebagai berikut (Simanjuntak, 2003):

1. Tunika intima (tunika interna) sebagai lapisan dalam yang terdiri dari selapis sel-sel endothelialis. Dibawah lamina endothelialis terdapat jaringan ikat yang sangat tipis, tidak jelas dan disebut lamina subendothelialis. Pada lamina subendothelialis dijumpai serabut-serabut elastik dan tidak jelas, kelihatan adanya sel-sel. Pada batas tunika intima dengan tunika media serabut-serabut elastik kelihatan lebih jelas, bergelombang dengan arah sirkuler disebut sebagai membrana elastika internal oleh karena serabut-serabut elastik ini tebal dan merupakan membrana.
2. Tunika media adalah lapisan serabut otot polos yang mempunyai arah sirkuler dengan susunaan serabut-serabut yang rapat dan diantaranya terdapat serabut-serabut elastik. Lapisan ini jauh lebih tebal dibanding dengan tunika intima (dua kali tebal tunika intima).
3. Tunika adventitia menyelubungi tunika media dari sebelah luar adalah jaringan ikat fibroelastik yang lebih tipis dari tunika media. Lapisan ini bergabung dengan jaringan ikat epikardium. Sebagai batas tunika media dan tunika adventitia cukup jelas kelihatan lamina elastika eksterna, tetapi tidak setebal dan sejelas lamina elastika interna.

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dapat berasal dari proses metabolisme normal. Selama makanan dioksidasi untuk menghasilkan energi, sejumlah radikal bebas juga terbentuk. Radikal bebas berfungsi untuk memberikan perlindungan tubuh terhadap serangan bakteri dan parasit, namun ia tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga juga dapat menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membrane sel, struktur sel, dan DNA. Radikal bebas adalah oksidan, tetapi tidak semua oksidan merupakan radikal bebas. Oksidan merupakan senyawa yang dapat menerima elektron dan radikal bebas merupakan atom atau gugus yang orbital luarnya memiliki elektron yang tidak berpasangan (Hariyatmi, 2004).

Reactive oxygen species (ROS) adalah ion dengan tingkat reaktif sangat tinggi, termasuk di dalamnya radikal bebas yang mengandung molekul oksigen. Radikal bebas yang termasuk kelompok ROS adalah superoksida (O_2^-), hidroksil ($OH^\cdot$), peroksil ($RO_2^\cdot$), alkoksil ($RO^\cdot$). Akan tetapi tidak semua kelompok ROS adalah radikal bebas. Beberapa agen oksidasi yang dapat dengan mudah dikonversikan menjadi radikal masuk dalam kelompok ini seperti asam hipoklorit ($HOCL$), ozon, peroksinitrit ($ONOO^-$), dan hidrogen peroksida (H_2O_2). *Reactive nitrogen species* (RNS) memiliki pengertian yang sama dengan ROS, akan tetapi digunakan untuk agen yang mengandung molekul nitrogen seperti NO dan produksi nitrogen oksida lain ketika NO bereaksi dengan O_2^- , $RO^\cdot$, dan $RO_2^\cdot$ (Wiseman dan Halliwell, 1996).

2.4 Asap Kendaraan Bermotor

2.4.1 Asap Kendaraan Bermotor dan Polusi Udara

Jumlah kendaraan bermotor roda empat atau lebih sejak tahun 1986 terus bertumbuh. Tahun 2010 total kendaraan bermotor di seantero dunia mencapai 1,015 miliar unit. Data dari Gabungan Industri Kendaraan Bermotor Indonesia (Gaikindo) dan Asosiasi Industri Sepeda Motor Indonesia (AISI) kendaraan bermotor di Indonesia, termasuk di dalamnya roda dua, mobil, *pick up*, truk dan bus menembus angka 50.824.128 unit. Jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat 10 - 15 % per tahun (Arianto, 2011).

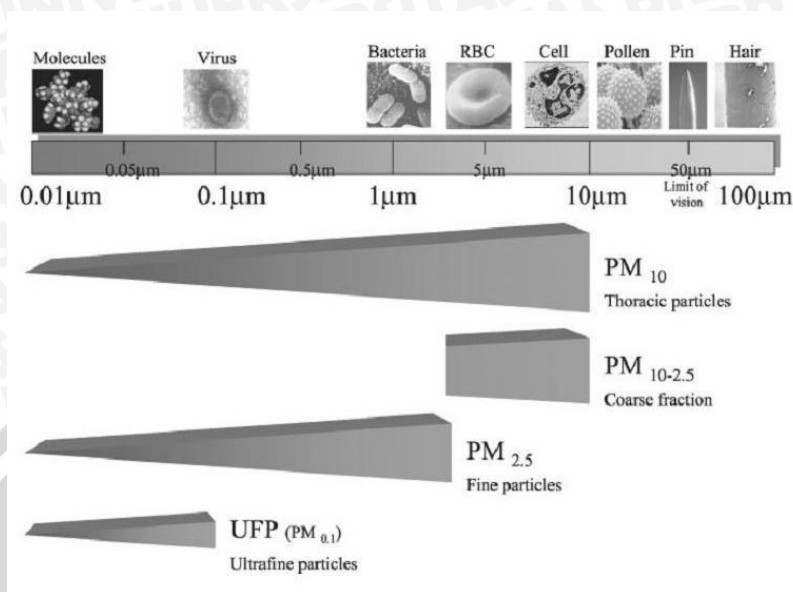
Sebagian besar kendaraan bermotor menghasilkan emisi gas buang yang buruk dan dapat mencemari udara di lingkungan. Hal ini bisa dikarenakan perawatan yang kurang memadai, pembakaran yang tak sempurna, ataupun penggunaan bahan bakar dengan kualitas yang kurang baik. Polusi udara yang ditimbulkan ini sangat berpotensi mengganggu kesehatan karena bahan-bahan berbahaya yang terkandung di dalamnya. Pernah dilaporkan adanya dampak polusi udara terhadap kesehatan di daerah perkotaan di Meuse Valley, Belgia tahun 1930, Donora, Pennsylvania tahun 1948, dan London, Inggris tahun 1952, di mana polusi udara mengakibatkan peningkatan angka mortalitas dan morbiditas yang berakibat pada penurunan produktivitas dan peningkatan pembiayaan kesehatan (Zaini, 2008).

Ketika kendaraan bermotor sedang beroperasi, knalpot akan mengeluarkan VOC, NO₂, SO₂, PM, Pb, dan CO (Amin, 2009). Semakin tingginya tingkat penggunaan kendaraan bermotor, maka semakin tinggi pula kandungan zat berbahaya tersebut di udara. Orang-orang yang hidup dan bekerja di tempat dengan paparan asap tinggi rentan terhadap berbagai penyakit, salah satunya

penyakit kardiovaskular. Di negara besar seperti Amerika Serikat, tindakan pengontrolan jumlah zat kimia maksimal yang dihasilkan kendaraan bermotor dilaporkan tidak berpengaruh besar dalam mengurangi masalah kesehatan akibat polusi udara. Hal ini disebabkan karena kadar zat yang dimonitor hanya sebagian kecil dari yang sebenarnya dihasilkan oleh sebuah mesin kendaraan bermotor (Wargo *et al.*, 2006). Masalah polusi udara dilaporkan berakibat buruk pada sistem kardiovaskular. Mortalitas dan tingkat masuk rumah sakit akibat infark miokard, gagal jantung kongestif, dan aritmia jantung meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi PM dan polutan lain (Routledge dan Ayres, 2005).

2.4.2 PM dan Disfungsi Endotel

PM merupakan partikulat tersuspensi, termasuk komponen emisi buang kendaraan bermotor yang penting terkait pengaruhnya terhadap kesehatan. Normalnya, sebuah mesin menghasilkan 0.127 gr/kwh PM (Dlukha *dkk.*, 2012). PM dapat diklasifikasikan menjadi 3; yaitu *coarse* PM (PM kasar atau PM_{2,5-10}) berukuran 2,5-10 µm, bersumber dari abrasi tanah, debu jalan (debu dari ban atau kampas rem), ataupun akibat agregasi partikel sisa pembakaran. Partikel seukuran ini dapat masuk dan terdeposit di *trakheobronchial*; sedangkan *fine* PM (<2,5 µm) dan *ultrafine* PM (UFP) (<0,1 µm) berasal dari pembakaran bahan bakar fosil dan dapat dengan mudah terdeposit dalam unit terkecil saluran napas (alveoli) bahkan dapat masuk ke sirkulasi darah sistemik (Zaini, 2008).



Gambar 2.2: Ukuran PM (Brook, 2004)

Studi epidemiologi membuktikan bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi PM di udara yang dihasilkan oleh sisa pembakaran mobil dengan beberapa masalah buruk pada kesehatan berupa: kematian, penyakit kardiovaskular, serangan asma, bronkhitis akut (Ostro, 2004). Pada penelitian Chen & Nadziejko (2005) paparan *fine* PM yang disaring dari udara bebas dengan dosis 5 jam/hari, 5 hari/minggu, selama 5 bulan pada tikus 39 - 41 minggu yang diberi konsumsi pakan normal memperlihatkan adanya peningkatan 57% area plak aterosklerosis di daerah batang aorta. Penelitian dengan metode yang sama pada tikus 6 minggu lebih muda memperlihatkan peningkatan 45 % area plak aterosklerosis yang tidak berbeda signifikan dengan penelitian pertama. Berdasarkan penelitian Araujo *et al.*(2008) paparan *fine* PM dan UFP pada yang disaring dari udara bebas dengan dosis 5 jam/ hari, 3 hari/ minggu, selama 5 minggu pada tikus memperlihatkan perkembangan plak aterosklerosis sebesar 23 % dan 55 % pada cabang aorta (Araujo dan Nel, 2009).

Studi pertama untuk membuktikan hubungan antara paparan PM dengan aterosklerosis pada manusia mendapatkan data bahwa terdapat korelasi antara penebalan tunika intima media arteri karotis dengan level konsentrasi rata-rata *fine* PM. Terdapat sekitar 5.9% peningkatan penebalan tunika intima-media arteri karotis untuk setiap $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ *fine* PM (Araujo dan Nel, 2009). Dua puluh empat jam setelah paparan asap kendaraan (konsentrasi PM $300 \mu\text{g}/\text{m}^3$) kepada 15 laki-laki sehat ditemukan adanya kerusakan endotelium yang selektif dan persisten. Keadaan ini merupakan tanda bahwa terjadi inflamasi sistemik ringan pada tubuh sampel. Penemuan tersebut memberikan fakta polusi udara akibat pembakaran memiliki efek samping negatif pada pembuluh darah dan sirkulasi sistemik setelah minimal 24 jam paparan (Tornqvist *et al.*, 2007).

Pada beberapa penelitian yang dilakukan oleh AHA didapatkan hasil: paparan terhadap *fine* PM ($<2,5 \mu\text{m}$) selama beberapa jam sampai minggu dapat menjadi trigger meningkatnya mortalitas karena penyakit kardiovaskular; Paparan jangka panjang (beberapa tahun) meningkatkan resiko mortalitas penyakit kardiovaskular lebih besar. Penurunan level PM berhubungan dengan penurunan mortalitas kardiovaskular. Mekanisme efek kesehatan akibat PM diyakini melibatkan stres oksidatif. Stres yang dimediasi oleh PM timbul karena pembentukan langsung ROS dari permukaan partikel, senyawa soluble seperti logam transisi atau senyawa organik yang mengubah fungsi mitokondria atau NADPH-oksidade, dan aktivasi sel inflamasi yang mampu menghasilkan ROS dan RNS. Pada penelitian terdahulu didapatkan bahwa pada orang yang terpapar polutan udara kadar O_2^- , H_2O_2 , ONOO^- serum lebih tinggi dibandingkan yang tidak terpapar (Brook *et al.*, 2010).

2.5 Oxidative Burst

2.5.1 Proses

Oxidative burst menggambarkan proses penggunaan oksigen oleh sel fagositik dalam jumlah tinggi selama proses fagositosis berlangsung. *Oxidative burst* terjadi jika sistem imun yang teraktivasi oleh infeksi bakteri memicu pengeluaran dan aktivasi enzim NADPH oksidase. Kadar oksigen yang tinggi sekitar 70-90% ini dapat menyebabkan terjadinya radikal bebas O_2^- oleh membran sel (Arief, 2006).

Ketika neutrofil dan sel fagositik lainnya menelan bakteri atau partikel-partikel asing, sel tersebut akan memperlihatkan peningkatan konsumsi oksigen yang cepat, keadaan inilah yang disebut *oxidative burst*. Fenomena ini mencerminkan pemakaian oksigen yang cepat (diikuti periode interval selama 15-60 detik) dan produksi sejumlah besar derivat reaktif dari pemakaian oksigen tersebut, seperti O_2^- , H_2O_2 , $OH^\cdot$ dan ion hipoklorit (OCI^-). OCI^- dapat bekerja sebagai preparat mikrobisida yang ampuh. Sistem rantai transportal elektron yang bertanggung jawab terhadap *oxidative burst* disebut NADPH oksidase. Reaksi NADPH oksidase sebagai berikut: $2O_2 + NADPH \rightarrow 2O_2^- + NADP + H^+$ (Paravicini and Touyz, 2008)

Elder, 2006 mengemukakan bahwa PM apabila terhirup dapat mengalami translokasi ke situs ekstrapulmonar. Keberadaan PM pada organ vaskular dapat memicu *oxidative burst*, menyebabkan pembentukan ROS, mediator kimia, dan enzim sel periperal terutama neutrofil. Aktivasi fagositosis sudah terbukti secara in vitro dan in vivo menghasilkan ROS seperti O_2^- dan H_2O_2 serta merelease *myeloperoxidase* (MPO). Peningkatan ROS karena *oxidative burst* memicu adanya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan

sehingga dapat terjadi stres oksidatif. (Halliwell dan Whiteman, 2004; Sierra-Vargas *et al.*, 2009).

2.5.2 Myeloperoxidase (MPO)

Ketika distimulasi oleh kontak dengan bakteri, neutrofil akan memperlihatkan *oxidative burst* dan memproduksi O_2^- dalam sebuah reaksi yang dikatalisis oleh enzim NADPH oksidase. O_2^- secara spontan mengalami dismutase sehingga terbentuk H_2O_2 dan O_2 dengan bantuan SOD. H_2O_2 mengalami sejumlah peristiwa. Neutrofil memiliki enzim yang unik yang menggunakan H_2O_2 dan halida (Cl^- , Br^- , I^-) untuk memproduksi HOCl (Clark, 1999).

Griendling *et al.* (2000) memaparkan secara normal enzim MPO diaktifkan jika terdapat H_2O_2 yang berasal oksidasi NADPH dilanjutkan proses dismutasi O_2^- karena adanya aktivitas fagositosis. Apabila tubuh terpapar faktor-faktor resiko aterosklerosis, terdapat peningkatan jumlah O_2^- , dengan demikian terdapat pula peningkatan H_2O_2 . MPO akan menjadi lebih aktif dan menghasilkan HOCl dalam jumlah besar (Stocker *et al.*, 2004).

Zhang *et al.* (2002) mengemukakan bahwa akibat aktivitas MPO yang tinggi, pembentukan HOCL dan RNS juga meningkat, menyebabkan oksidasi tirosin dan nitrit, kemudian menghasilkan tirosil dan NO_2 . Reaksi ini dapat menginisiasi oksidasi lipid pada membrane plasma. Konsekuensi lain dari aktivitas MPO adalah konsumsi NO yang pada akhirnya menginduksi disfungsi endotel (Sierra-Vargas *et al.*, 2009).

Menurut Chunxiang *et al.* (2001) MPO dan produk reaksinya, HOCL, memberikan efek buruk pada fungsi endotel. HOCL dapat bereaksi dengan *L-arginine*, menurunkan jumlah substrat untuk mensintesis NO dan membentuk

chlorinated arginine species yang dapat menghambat aktivitas enzim *L-arginine*. MPO dan HOCL juga menurunkan availabilitas dari NADPH, kofaktor penting pada sintesis NO. MPO memiliki kapasitas protein nitrat melalui produksi RNS seperti ONOO^- dan NO_2 . RNS dapat memodifikasi lipid melalui jalur oksidasi dan menyebabkan *uncoupling* pada *endotelial nitric oxide synthase* (eNOS) sehingga aktivitas RNS dikenal bersifat aterogenik (Auchère dan Blandin, 1999; Vita *et al.*, 2004).

MPO dikenal sebagai salah satu enzim katalisis untuk oksidasi LDL melalui beberapa proses kimia. Menurut Hazen (1997) banyaknya ditemukan LDL dengan marker klorinasi seperti *3-chlorotyrosine* menjadikan MPO sebagai enzim katalisis pertama yang memiliki peran secara spesifik pada jalur oksidatif pembentukan plak aterosklerosis dan proses modifikasi LDL secara *in vivo*. Kerja MPO dalam mengkatalisis jalur oksidatif pada dinding arteri menghasilkan *nitric oxide-derived oxidants* yang menyebabkan terbentuknya LDL nitrat. Tereksposnya LDL kepada monosit yang teraktivasi melalui MPO yang menghasilkan RNS menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Lipid kemudian dimakan oleh makrofag dengan bantuan reseptor CD36 (Podrez *et al.*, 1999; Nicholls dan Hazen, 2009).

2.6 Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan suatu keadaan di mana produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan alami tubuh untuk mengeliminasinya mengalami gangguan sehingga menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal, menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan (Winarsi, 2007).

Adanya peningkatan ROS pada tubuh yang dapat terjadi karena respon terhadap *oxidative burst* setelah terpapar asap kendaraan memicu terjadinya

ikatan antara ROS dengan NO yang dihasilkan oleh eNOS. Perubahan pada bioavailabilitas NO setelah dipapar PM telah diimplikasikan pada vena mesenter, aorta, dan arteriol otot skeletal. Perubahan ini diperkirakan karena *uncoupling* eNOS. Dalam keadaan ini, eNOS lebih memproduksi ROS daripada NO (Nurkiewicz, 2009).

Dalam studi yang dikerjakan oleh Knuckles et al. (2008) dan Sun et al. (2008), bukti *uncoupling* eNOS meliputi penurunan respon vaskular untuk bersaing dengan inhibitor eNOS dan penurunan kadar endogenous *tetrahydrobiopterin* (H_4B) setelah terpapar partikel. Tetapi tidak terbatas pada *uncoupling* eNOS saja untuk terjadinya peningkatan produksi ROS. Terdapat beberapa mekanisme lain yang menginduksi produksi ROS terkait keterpaparan terhadap partikel (Nurkiewicz, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian Sorescu et al. (2002) didapatkan data adanya peningkatan produksi O_2^- pada arteri koroner pasien penyakit jantung koroner. O_2^- yang merupakan anggota ROS bereaksi sangat cepat dengan NO, menghasilkan $ONOO^-$ dan mengakibatkan NO kehilangan bioaktivitasnya. Selain mengikat NO, ROS juga meningkatkan oksidasi H_4B sebagai kofaktor eNOS, sehingga eNOS mengalami *uncoupling*. *Uncoupling* eNOS tidak melaksanakan fungsi normalnya memproduksi NO tetapi justru menghasilkan produk radikal bebas O_2^- . Pengaruh ROS yang lain yaitu menghambat enzim *dimethylarginine dimethylaminohydrolase* (DDAH) menyebabkan peningkatan inhibitor eNOS, *asymmetric dimethylarginine* (ADMA), yang menurunkan aktivitas dari eNOS (Landmesser et al., 2004). Ketiga proses di atas secara terus menerus akan meningkatkan akumulasi radikal bebas di tubuh, apabila jumlah

radikal bebas melebihi jumlah antioksidan yang mampu mengontrolnya, maka terjadilah stress oksidatif.

Tiga tipe *nitric oxide synthase* (NOS) telah diidentifikasi. eNOS, NOS *neural nitric oxide synthase* (nNOS) dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). eNOS dan nNOS *neural* merupakan NOS konstitutif yang kerjanya menjaga keseimbangan vasoaktif, sebaliknya iNOS yang aktif apabila tereksposur stimulator endogen dan eksogen akan meningkatkan respon selular dan memicu terjadinya inflamasi (Ricciardolo *et al.*, 2004).

Secara prinsip, produksi NO oleh endotelium sebagai hasil dari aktivitas eNOS akan memelihara tonus pembuluh darah. Tetapi iNOS yang terstimulasi apabila terdapat aktivitas sitokin akan menghasilkan NO dalam jumlah yang jauh lebih besar dan akan berakibat buruk. Dalam suatu studi ditemukan bahwa lesi aterosklerosis berkembang setelah eNOS tereleminasi, sedang dalam studi lain memakai bahan yang sama, terdapat penurunan jumlah pembentukan plak aterosklerosis setelah kandungan iNOS dihilangkan (Miralles *et al.*, 2009).

2.7 Antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Oleh Packer (1995), dikemukakan bahwa sebagai bahan penetral radikal bebas, maka antioksidan yang dikenal ada yang berupa enzim dan ada yang berupa mikronutrien (Hariyatmi, 2004).

Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) (Dalimartha dan Soedibyo, 1999). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah

berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005). Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan spesies oksigen reaktif, mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Meningkatnya minat untuk mendapatkan antioksidan alami terjadi beberapa tahun terakhir ini. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksi dalam struktur molekulnya (Sunarni, 2005).

2.8 Kacang tunggak

2.8.1 Morfologi

Kacang tunggak merupakan anggota dari famili kacang-kacang polong dari Afrika. Kacang tunggak biasanya dimanfaatkan di dunia pertanian sebagai tanaman rotasi. Kacang tunggak ditanam untuk mengembalikan kandungan nitrogen dan mengontrol erosi (Valenzuela dan Smith, 2002).

Kacang tunggak di beberapa daerah lebih dikenal dengan nama kacang tolo atau kacang dadap. Kacang tunggak memiliki ciri polong nya tegak ke atas dan kaku. Tanaman kacang tunggak merupakan tanaman herbal, lemah, tumbuh tegak setinggi 15-80 cm setiap tahunnya. Penampilan visual tanaman kacang tunggak hampir sama dengan tanaman kacang panjang, namun tidak merambat, batangnya pendek dan berbuku-buku. Daunnya agak kasar, melekat pada tangkai daun yang agak panjang, dengan posisi daun bersusun tiga. Daunnya selalu berganti, memiliki petiole dengan panjang 5-25 cm. Bagian lateral daunnya asimetris, sedangkan bagian daun tengahnya simetris. Bunga berbentuk seperti

kupu-kupu, terletak pada ujung tangkai yang panjang. Buah kacang tunggak berukuran kurang lebih 10 cm, berbentuk polong, berwarna hijau, dan kaku. Biji kacang tunggak berbentuk bulat panjang, agak pipih dengan ukuran 4mm-6mm x 7mm-8mm, dan berwarna kuning kecoklatan (Rukmana dan Oesman, 2000).



Gambar 2.3 Kacang tunggak

Sumber : <http://davesgarden.com/guides/pf/showimage/112725/#b>

2.8.2 Taksonomi

Tanaman kacang tunggak dalam tata nama (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Rosales
 Famili : Leguminosae
 Genus : [Vigna](#)
 Spesies : *Vigna unguiculata* (L.)
 (Fachruddin, 2007)

2.8.3 Penyebaran

Kacang tunggak adalah tanaman kacang - kacangan yang paling baik adaptasinya terhadap panas. Kacang tunggak umumnya ditanam di lahan kering pada musim kemarau, namun dapat pula di lahan sawah setelah padi. Keistimewaan lainnya jenis kacang ini dapat tumbuh di tanah sulfat masam (Haliza dkk., 2010).

Kacang tunggak mampu menyerap 140 mm air dengan cepat selama 66 hari periode hidupnya. Kondisi tanah yang paling ideal bagi pertumbuhan kacang tunggak adalah tanah yang porus, banyak mengandung bahan organik (humus), dapat menahan kelembapan tanah, dan mempunyai pH tanah 5,5 - 6,5. Tanaman kacang tunggak ini tersebar di daerah tropis dan subtropis, meliputi kawasan Asia, Afrika, Eropa Selatan, Amerika Tengah, dan Amerika Latin. Di Indonesia daerah yang potensial untuk pengembangan tanaman kacang tunggak seperti di pantai utara Jawa, kawasan Indonesia Timur, Sulawesi Selatan, dan daerah transmigrasi Sumatera dan Kalimantan yang bertanah sulfat asam (Rukmana dan Oesman, 2000).

2.8.4 Pemanfaatan

Kacang tunggak telah dikenal luas di Indonesia. Kandungan karbohidrat kacang tunggak lebih tinggi dari kacang kedelai sedangkan kandungan protein kedua kacang tersebut setara.. Oleh karena itulah kacang tunggak dianggap berpotensi sebagai bahan baku utama pembuatan tempe (Haliza dkk., 2008). Hasil penelitian Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian (BB Pascapanen) menunjukkan, kacang tunggak dapat diolah menjadi tempe tanpa harus disubstitusi dengan kedelai (Wirdayanti, 2012).

Mengingat secara umum konsumsi protein penduduk Indonesia adalah kurang, maka sangat perlu meningkatkan produksi pangan sumber protein yang murah, baik hewani maupun nabati. Jenis kacang-kacangan yang terdapat di Indonesia cukup potensial untuk dikembangkan menjadi produk yang bergizi, aman dan sesuai dengan selera masyarakat. Misalnya produk atau olahan biji kacang tunggak, biji turi, koro benguk (Handayani, 1994 dalam Wirdayanti, 2012).

2.8.5 Kandungan gizi

Dalam upaya diversifikasi pangan di bidang kacang-kacangan, kacang tunggak dinilai mampu menjadi pengganti kacang kedelai. Kandungan karbohidrat kacang tunggak lebih tinggi dari kacang kedelai sedangkan kandungan protein kedua kacang tersebut setara. Berikut adalah data kandungan gizi biji kacang tunggak:

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Biji Kacang Tunggak Setiap 100g (Rukmana dan Oesman, 2000)

No.	Kandungan Gizi	Jumlah
1	Kalori	342,00 kal
2	Karbohidrat	61,60 g
3	Protein	22,90 g
4	Lemak	1,40 g
5	Kalsium	77,00 g
6	Fosfor	449,00 mg
7	Zat besi	6,50 mg
8	Vitamin B1	0,92 mg
9	Vitamin C	2,00 mg
10	Air	11,00 g

2.8.6 Efek Antioksidan dan Antiinflamasi

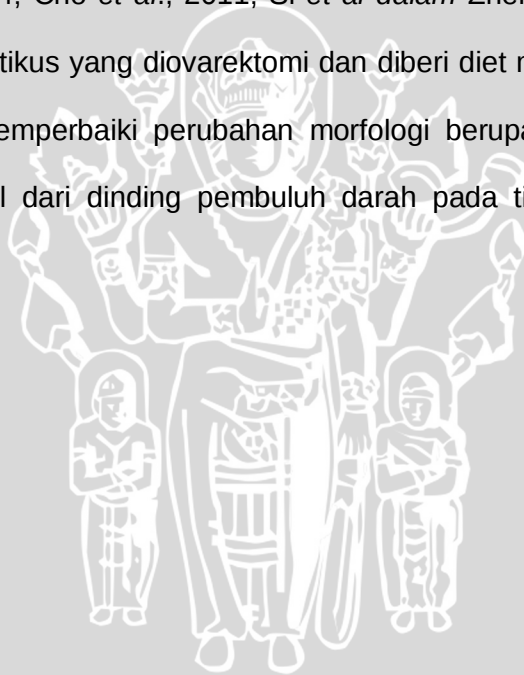
Biji kacang tunggak memiliki kandungan senyawa-senyawa flavonoid seperti golongan flavonol (quercetin, kaempferol, dan myricetin) dan turunan isoflavon (genistein dan deidzein). Dengan analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), ditemukan bahwa kacang tunggak mengandung kadar daidzein yang sangat kecil, kadar genistein dan kaempferol yang terbatas, dan kadar myricetin dan quercetin yang tinggi. Kacang tunggak *Vigna unguiculata subspecies unguiculata* mengandung jumlah genistein tertinggi (16,9 ug/g) dan kadar kaempferol yang lebih tinggi (20,3 ug/g) dibandingkan subspecies lainnya. Kacang tersebut ternyata memiliki kadar myricetin sebesar 51,3 ug/g dan quercetin sebesar 412,5 ug/g (Wang et al., 2008).

Senyawa dalam kacang tunggak yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi misalnya genistein. Sebagai antioksidan, genistein dapat menurunkan kadar lipid peroksidase dan meningkatkan enzim SOD. Dilaporkan juga bahwa genistein memiliki sifat antioksidan yang disebabkan sifat reaktif terhadap radikal bebas sehingga dapat menghambat perkembangan sel kanker pada fase promosi (Pawiroharsono, 2001). Selain efek antioksidan, genistein juga mempunyai efek antiinflamasi baik *in vivo* maupun *in vitro*. Genistein dilaporkan dapat menghambat produksi molekul-molekul proinflamasi pada kondrosit manusia (Hooshmand, 2007) dan menghambat aktivasi kedua faktor transkripsi yang penting untuk iNOS, yaitu *signal transducers and activator of transcription-1* (STAT-1) dan NF- κ B yang turut menjelaskan efeknya sebagai antiinflamasi (Hamalainen, 2007).

Genistein mempunyai efek menekan ekspresi mRNA molekul-molekul proinflamasi, seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *monocyte chemoattractant*

protein-1 (MCP-1), dan *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) pada sel-sel endotel mikrovaskular otak yang terinduksi hemolisis, meskipun tidak berefek terhadap ekspresi *vascular adhesion molecule-1* (VCAM-1) (Lu *et al.*, 2009).

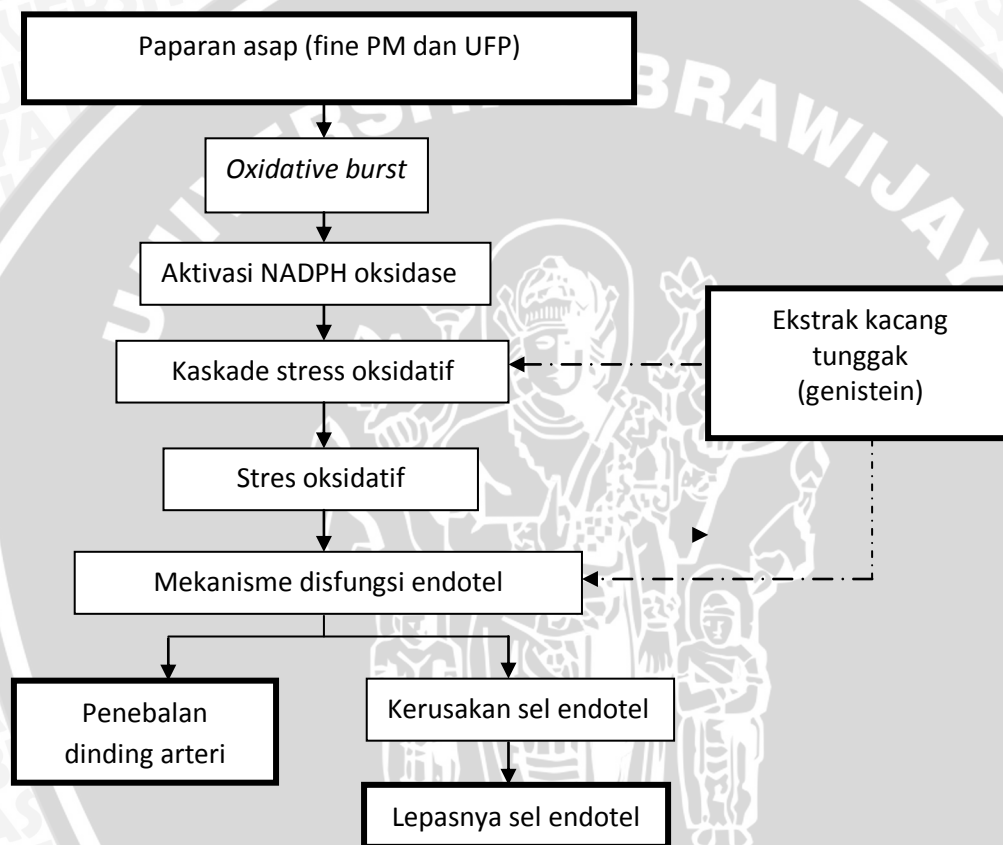
Genistein diketahui dapat berfungsi sebagai protektif vaskular yang potensial (Si dan Liu, 2007 dalam Zhen *et al.*, 2012). ROS terutama O_2^- dapat menurunkan bioavailabilitas NO menyebabkan terjadinya gangguan pada reaktivitas pembuluh darah. Genistein meningkatkan produksi NO dan menurunkan ROS melalui regulasi eNOS serta menekan ekspresi *ROS-producing enzymes* (Wassmann *et al.*, 2004; Cho *et al.*, 2011; Si *et al* dalam Zhen *et al* 2012). Dari hasil percobaan pada tikus yang diovarektomi dan diberi diet metionin, genistein dilaporkan mampu memperbaiki perubahan morfologi berupa degenerasi dan pelepasan sel endotel dari dinding pembuluh darah pada tikus (Zhen *et al.*, 2012).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

————> = menyebabkan

- - - - -> = menghambat

□ = Area yang diteliti

Ketika kendaraan bermotor sedang beroperasi, knalpot akan mengeluarkan VOC, NO₂, SO₂, PM, Pb dan CO (Amin, 2009). *Fine PM* dan UFP dapat lolos dari saluran pernapasan menuju sirkulasi sistemik (Zaini, 2008). Keberadaan PM pada organ vaskular dapat memicu *oxidative burst*. Sistem rantai transportal elektron yang bertanggung jawab terhadap *oxidative burst* disebut NADPH oksidase, menyebabkan pembentukan ROS, mediator kimia, dan enzim sel peripheral terutama neutrofil. Peningkatan ROS karena *oxidative burst* memicu adanya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan sehingga dapat terjadi stres oksidatif (Halliwell dan Whiteman, 2004; Paravicini and Touyz, 2008; Sierra-Vargas *et al.*, 2009).

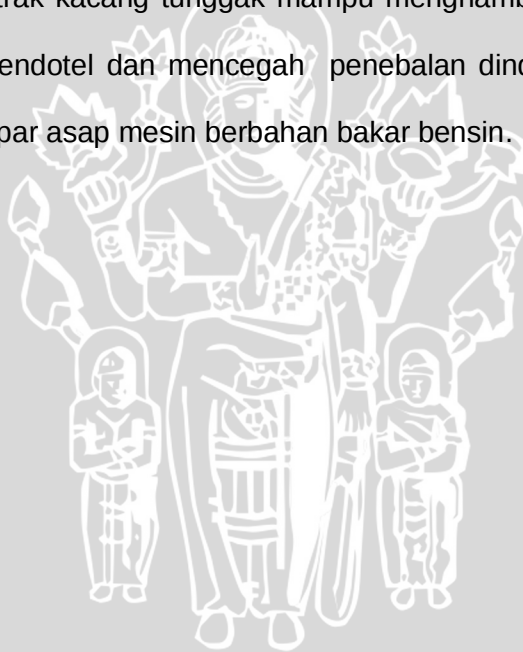
Stres oksidatif memicu terjadinya disfungsi endotel (Lawrence, 2006). Disfungsi endotel dapat berkembang menjadi aterosklerosis. Disfungsi endotel menyebabkan kerusakan dan terlepasnya sel endotel dari dinding pembuluh darah (Lampka *et al.*, 2010). Pada perkembangan plak aterosklerotik, terjadi perlekatan monosit ke molekul adhesi pada sel endotel arteri yang rusak. Monosit kemudian bermigrasi melalui endotel masuk ke dalam lapisan intima dinding arteri dan berubah menjadi makrofag. Makrofag kemudian mencerna dan mengoksidasi molekul lipoprotein, sehingga menjadi sel busa makrofag. Sel busa tersebut melepaskan zat-zat yang menimbulkan inflamasi dan pertumbuhan sel intima (Guyton dan Hall, 2006).

Proses ini bisa dicegah dengan zat antioksidan dan zat antiinflamasi yang dapat mencegah terjadinya stres oksidatif. Kacang tunggak yang banyak tumbuh di Indonesia ternyata memiliki kandungan antioksidan dan antiinflamasi, seperti genistein. Genistein sebagai antioksidan dapat menangkal radikal bebas akibat paparan asap dan memiliki efek antiinflamasi baik *in vivo* maupun *in vitro*

(Pawiroharsono, 2001; Hooshmand, 2007). Hal ini berarti stres oksidatif dan disfungsi endotel dapat dicegah.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Paparan asap mesin berbahan bakar bensin dapat menurunkan jumlah sel endotel dan meningkatkan ketebalan dinding arteri koroner tikus.
2. Terdapat hubungan antara lama paparan dengan penurunan jumlah sel endotel dan penebalan dinding arteri pada gambaran histopatologi arteri koroner tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.
3. Pemberian ekstrak kacang tunggak mampu menghambat kerusakan dan pelepasan sel endotel dan mencegah penebalan dinding arteri koroner tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam adalah eksperimental laboratorik karena terdapat perlakuan dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus Wistar serta menggunakan randomisasi dengan menggunakan desain penelitian *Control Group Post Test Design* dimana pengujian dilakukan setelah intervensi. Pemilihan objek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), hal ini dikarenakan hewan coba, tempat percobaan dan bahan penelitian lainnya bersifat homogen.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus *Rattus norvegicus* putih jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2.2 Pemilihan Sampel

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan
2. Berat badan tikus 300 - 500 gram
3. Usia >8 minggu
4. Kondisi sehat (aktif, tidak cacat)

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram
2. Tikus mati dalam masa penelitian

Sampel yang digunakan adalah tikus jenis *Rattus norvegicus*. Jenis kelamin tikus yang digunakan adalah tikus jantan yang sehat karena pada tikus betina terdapat estrogen yang mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol (Julia dkk., 2011).

Penelitian ini membagi sampel dalam sembilan kelompok perlakuan dan kontrol, yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif (N) : Sampel dengan kondisi tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, tanpa pemberian oksigen, dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.
2. Kelompok N + O₄ : Sampel dengan kondisi tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, diberikan oksigen 4 menit perhari.
3. Kelompok N + G : Sampel dengan kondisi tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, diberikan ekstrak kacang tunggak.
4. Kelompok A₂O₄(-)G : Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.
5. Kelompok A₂O₄(+)G : Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu dengan pemberian ekstrak kacang tunggak.

6. Kelompok $A_3O_4(-)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 3 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.

7. Kelompok $A_3O_4(+)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 3 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu dengan pemberian ekstrak kacang tunggak 2ml/hari.

8. Kelompok $A_4O_4(-)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.

9. Kelompok $A_4O_4(+)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu dengan pemberian ekstrak kacang tunggak.

4.2.3 Jumlah Sampel

Jumlah replikasi yang digunakan untuk setiap kelompok memakai rumus :

$(t-1)(r-1) \geq 15$ (Hanafiah, 2005).

t = jumlah kelompok

r = jumlah replikasi

15 = nilai konstanta

Pada penelitian ini, jumlah kelompok adalah 9 ($t = 9$) sehingga jumlah replikasi adalah:

$$(9-1) (r-1) \geq 15$$

$$8r \geq 23 \quad r \geq 23 : 8 \quad r \geq 2.875$$

Jadi pengulangan yang dibutuhkan untuk setiap kelompok minimal 3 ekor.

Pada penelitian ini digunakan pengulangan sebesar 4 ($n = 4$) untuk setiap kelompok. Total tikus adalah 36 ekor tikus untuk 9 kelompok perlakuan dan kontrol.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama paparan asap mesin berbahan bakar bensin yang diberikan dalam berbagai dosis waktu.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar.

4.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali adalah variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti agar obyek penelitian selalu terkendali dan dalam keadaan homogen. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah:

1. Jenis tikus
2. Umur tikus
3. Jenis kelamin tikus
4. Pemberian diet normal
5. Kondisi lingkungan kandang

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan mulai bulan Februari sampai Maret 2012 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba. Pengamatan tentang histologi arteri koroner tikus wistar dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

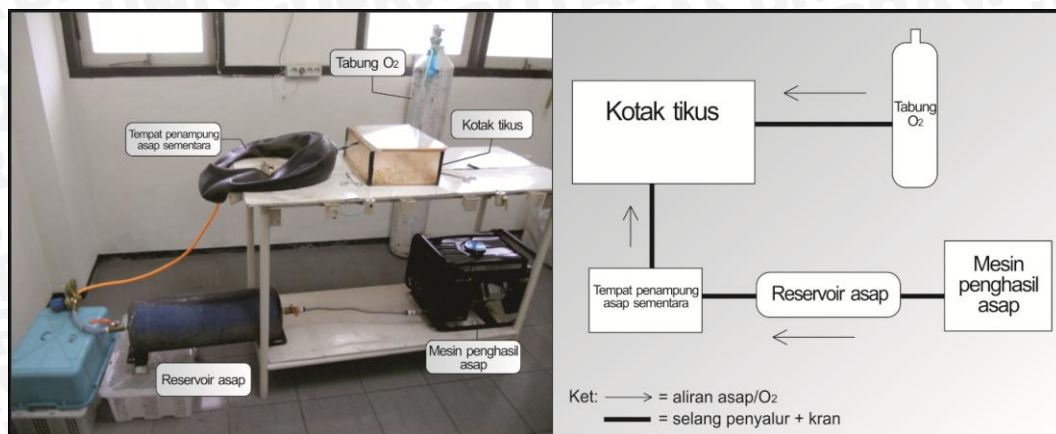
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Pakan standar yang terdiri dari Comfeed PARS 66,67% (dengan kandungan air 12%, protein 11%, lemak 4%, serat 7%, abu 8%, Ca 1,1 %, Fosfor 0,9%, antibiotic coccidiostat 53%) dan air 33,33%.
2. Asap yang dipaparkan berasal dari mesin modifikasi, bahan bakar bensin.
3. Kacang tunggak yang telah diekstraksi.
4. Bahan pengambilan organ.
5. Bahan pembuatan sediaan histopatologi arteri koroner.

4.5.2 Alat/Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mesin untuk pemberian asap buatan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Terdiri atas kotak tempat pengasapan, mesin dengan bahan bakar bensin (w : 1000w, PM : 0.127 gr/kwh), alat pengatur banyak sedikitnya asap, dan tabung oksigen (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Mesin untuk Pemberian Asap

2. Alat pembuatan pakan hewan coba: timbangan, neraca analitik, baskom, pengaduk, gelas ukur, penggiling pakan, dan nampan.
3. Alat untuk membuat ekstrak kacang tunggak
4. Alat untuk pengambilan organ
5. Alat pembuatan dan pemeriksaan sediaan histopatologi arteri koroner

4.6 Definisi Istilah/Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah:

- a. Paparan asap: pemaparan dengan menggunakan mesin yang dapat menyalurkan asap hasil pembakaran bahan bakar bensin ke dalam kotak yang diisi tikus-tikus kelompok perlakuan (gambar 4.1). Lama waktu pengasapan dalam penelitian ini adalah 2 menit, 3 menit, dan 4 menit per hari selama 30 hari.
- b. Ekstrak kacang tunggak : kacang tunggak kering diperoleh jenis KT-6 di Balitkabi Malang. Diekstraksi menggunakan metode maserasi. Pemberian ekstrak secara per oral dengan menggunakan sonde. Dosis pemberian 0.5 mg/kgBB/hari untuk setiap ekor tikus. Ekstrak diberikan 30 menit sebelum tikus dipapar asap.

- c. Jumlah Sel endotel arteri koroner: selapis pada lapisan tunika intima yang terlihat di sediaan histopatologi arteri koroner tikus.
- d. Ketebalan dinding arteri koroner : tebal dinding arteri yang diukur dari tunika intima sampai dengan tunika media.

4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data

4.7.1 Prosedur Ekstraksi Kacang Tunggak

Untuk mendapatkan kandungan zat aktif genistein dalam kacang tunggak diperlukan suatu proses pengekstraksian. Ekstraksi ini dilakukan dengan metode Maserasi. Adapun cara pembuatannya adalah :

1. Proses pengeringan
 - a. Cuci bersih bahan alam (sample basah) yang akan dikeringkan
 - b. Potong kecil-kecil
 - c. Lalu masukkan oven dengan suhu 40-60°C atau dengan panas matahari hingga kering (bebas kandungan air)
2. Proses ekstraksi
 - a. Setelah kering, haluskan dengan blender sampai halus
 - b. Timbang sebanyak 100 gram (sample kering)
 - c. Masukkan 100 gram sample kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran ± 1 L
 - d. Kemudian rendam dengan metanol sampai volume 900 mL
 - e. Kocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit)
 - f. Diamkan 1 malam sampai mengendap
 - g. Ambil lapisan atas campuran metanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring)

- h. Lakukan proses perendaman ini sampai 3 kali
3. Proses evaporasi
 - a. Masukkan dalam labu evaporasi 1 L
 - b. Pasang labu evaporasi pada evaporator
 - c. Isi water bath dengan air sampai penuh
 - d. Pasang semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (atur sampai 90°C atau sesuai dengan Titik Didih pelarut), sambungkan dengan aliran listrik
 - e. Biarkan larutan metanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi
 - f. Tunggu sampai aliran metanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu) ± 900 ml.
 - g. Hasil yang diperoleh kira-kira $\frac{1}{4}$ dari bahan alam kering
 - h. Masukkan hasil ekstraksi ke dalam botol plastik/kaca
 - i. Kemudian simpan dalam freezer

4.7.2 Penentuan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak

Perhitungan didasarkan pada kandungan genistein dalam ekstrak kacang tunggak yaitu:

$$= 140.7 \text{ ppm}$$

$$= 140.7 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$= 140.7 \text{ mg/1000 ml}$$

Dosis efektif genistein dalam ekstrak kacang tunggak berdasarkan penelitian tentang efek antioksidan ekstrak kacang tunggak pada tikus yang diovarektomi adalah 0.5 mg/kgBB/hari . Dalam penelitian ini digunakan 2 ml/ekor

ekstrak kacang tunggak berdasarkan perhitungan rata-rata berat badan tikus (lampiran).

4.7.3 Proses Perlakuan pada Tikus Percobaan

1. Semua tikus dilihat umur dan ditimbang berat badannya. Dilakukan randomisasi dengan metode RAL agar setiap tikus mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.
2. Tikus wistar dibagi menjadi 9 kelompok, 6 kelompok perlakuan dan 3 kelompok kontrol, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Pembagian kelompok dilakukan secara acak (*simple random sampling*). Pembagian kelompok adalah sebagai berikut :
 - a. Kelompok kontrol negatif (N) : Sampel dengan kondisi tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, tanpa pemberian oksigen, dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.
 - b. Kelompok N + O₄ : Sampel dengan kondisi tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, diberikan oksigen 4 menit perhari.
 - c. Kelompok N + G : Sampel dengan kondisi tanpa paparan asap mesin berbahan bakar bensin, diberikan ekstrak kacang tunggak.
 - d. Kelompok A₂O₄(-)G : Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.
 - e. Kelompok A₂O₄(+)G : Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu dengan pemberian ekstrak kacang tunggak.

- f. Kelompok $A_3O_4(-)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 3 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.
- g. Kelompok $A_3O_4(+)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 3 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu dengan pemberian ekstrak kacang tunggak 2ml/hari.
- h. Kelompok $A_4O_4(-)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak.
- i. Kelompok $A_4O_4(+)G$: Sampel dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit dan oksigen 4 menit perhari selama 4 minggu dengan pemberian ekstrak kacang tunggak.

3. Persiapan hewan uji

- a. Tikus ditempatkan dalam kandang terpisah.
- b. Sebelum perlakuan, semua kelompok tikus percobaan diadaptasikan pada kondisi laboratorium tempat percobaan, kandang, waktu makan dan eksplorasi terhadap pakan tikus selama 7 hari. Tiap tikus diberikan pakan standar yang terdiri dari 66% PARS dan 33% terigu sejumlah 40 gram secara ad libitum.

4. .Pemberian ekstrak kacang tunggak tikus

Bahan:

- Ekstrak kacang tunggak

Alat:

- Sonde

Cara kerja:

Pemberian ekstrak kacang tunggak pada kelompok tikus yang akan dilakukan 30 menit sebelum perlakuan melalui alat sonde sesuai dengan dosis yang sudah ditentukan secara per oral. Sonde dipasang pada ujung spuit kemudian dimasukkan ke dalam mulut tikus wistar sehingga mencapai esophagus bahkan sampai lambung.

5. Kelompok kontrol

- a. Tikus kelompok kontrol N + O₄ dimasukkan ke dalam kotak tikus, kemudian kotak dialiri oksigen 10 mmHg melalui selang.
- b. Tikus kelompok kontrol N + G diberikan ekstrak kacang tunggak 2ml/hari.

6. Pemaparan asap menggunakan bantuan mesin berbahan bakar bensin:

Cara pemaparan:

- a. Tempat pemaparan dibersihkan dari kotoran dan asap.
- b. Peralatan yang akan digunakan untuk pemaparan diperiksa terlebih dahulu dan dipastikan dapat berfungsi dengan baik.
- c. Untuk kelompok perlakuan A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, A₄O₄(+)G sebelum dilakukan pemaparan, tikus diberikan ekstrak kacang tunggak 30 menit sebelumnya.
- d. Selanjutnya dua ekor tikus (satu kelompok perlakuan) dimasukkan ke dalam kotak dan segera ditutup. Dalam penelitian ini, satu kelompok perlakuan dibagi menjadi 2 tahap pemaparan, masing-masing 2 ekor tikus.
- e. Pemaparan asap kendaraan dilakukan dengan cara menyalakan mesin dan kran penyalur asap dan O₂ sesuai dengan waktu yang

telah ditentukan untuk masing-masing kelompok perlakuan (hingga maksimal 4 menit).

- f. Setelah itu mesin dan kran penyalur dimatikan, lalu tutup kotak dibuka dan tikus dipindahkan ke kandang semula.
- g. Setiap pemaparan asap kendaraan berikutnya, kotak selalu dibersihkan lebih dahulu dari sisa asap kendaraan sebelumnya.

4.7.4 Pengambilan dan Pembuatan Sampel

4.7.4.1 Pengambilan Organ Arteri Koroner Tikus

Bahan:

1. Eter
2. Kapas
3. Formalin 10%

Alat:

1. Alat bedah minor
2. Tabung sebagai tempat sementara pengawetan organ
3. Kotak tertutup

Cara Kerja:

1. Hewan coba tikus dianestesi dengan cara dimasukkan ke dalam wadah tertutup yang di dalamnya berisi kapas yang telah dituangi eter.
2. Tikus dibiarkan lemas dan tidak bergerak lagi.
3. Lalu dilakukan pembedahan dan diambil jantungnya.
4. Jantung yang telah diambil, diletakkan dalam kotak sementara dan difiksasi dengan formalin 10%.

5. Organ jantung selanjutnya siap untuk dibuat preparat histologi untuk kemudian diteliti arteri koronernya.

4.7.4.2 Pembuatan Sediaan Histopatologi Arteri Koroner

Bahan:

1. Sediaan organ jantung tikus
2. Formalin 10%
3. Cat utama Harris Hematoksilin
4. Cat pembanding Eosin 1%
5. Amonia air
6. Alkohol asam
7. Xylol
8. Alkohol (70%, 80%, 96%, Absolut)
9. Entellan
10. Parafin cair
11. Aquades



Alat:

1. Mikrotom
2. Pisau pemotong preparat gross
3. *Object glass*
4. *Cover glas*
5. Tissue Tex Prosesor
6. Oven
7. Kaset

Cara pembuatan

Proses awal untuk preparat gross :

1. Organ jantung dimasukan ke larutan formalin 10 (fiksasi) semalam.
2. Organ dipilih yang pada daerah terbaik sesuai dengan yang akan di teliti dan dilakukan pemotongan vertikal agar didapatkan gambaran potongan melintang arteri koroner.
3. Dilakukan pemotongan dengan ketebalan kurang lebih 2-3 mili meter
4. Di masukan kekaset dan di beri kode sesuai dengan kode gross peneliti
5. Dimasukan ke larutan formalin 10 % sebelum di proses/ dimasukan ke alat Tissue Tex Prosesor
6. Di proses menggunakan alat/mesin Tissue Tex Prosesor selama 90 menit
7. Alarm bunyi tanda selesai.

Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan

1. Preparat gross di angkat dari mesin Tissue Tex Prosesor
2. Preparat gross di blok dengan paraffin cair sesuai kode jaringan
3. Setelah paraffin cair dingin dan mengeras di potong dengan alat microtome ketebalan 3-5 mikron.

Proses deparaffinasi : setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron , di taruh dalam oven selama 30 Menit dengan suhu panas 70-80 drajat , kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan Xylol masing-masing 20 menit, setelah itu di masukan ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (Hidrasi), dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit.

Proses pewarnaan *hematoksilin-eosin* (HE) :

1. Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit
2. Cuci dengan air mengalir selama 15 menit
3. Alkohol asam 1% 2-5 celup
4. Amonia air 3-5 celup
5. Cat pembanding Eosin 1% selama 10-15 menit

Proses dehidrasi

1. Alkohol 70% selama 3 menit
2. Alkohol 80% selama 3 menit
3. Alkohol 96% selama 3 menit
4. Alkohol Absolut selama 3 menit

Proses penjernihan : dengan dicelupkan pada xylol 2x60 menit

Proses mounting dengan entellan

Selanjutnya sediaan berupa gambaran jantung siap untuk discan dengan alat scan dot pada daerah arteri koroner.

4.7.5 Penghitungan Jumlah Sel endotel

Penentuan jumlah sel endotel arteri koroner tikus didapatkan melalui pengamatan pada sediaan histopatologi arteri koroner tikus dengan pengecatan HE yang dihitung menggunakan gambaran hasil scan dot dan *software Olyvia* dengan perbesaran 400x. Pada pengamatan dihitung jumlah seluruh sel endotel yang tampak pada arteri koroner.

4.7.6 Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner

Untuk pengukuran ketebalan dinding arteri koroner, gambaran hasil scan dot dilihat dengan menggunakan pembesaran 400x. Pengukuran ketebalan penampang lintang arteri, dari tunika intima sampai tunika media dilakukan dengan menggunakan pengukur mikrometer *software Olyvia*.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

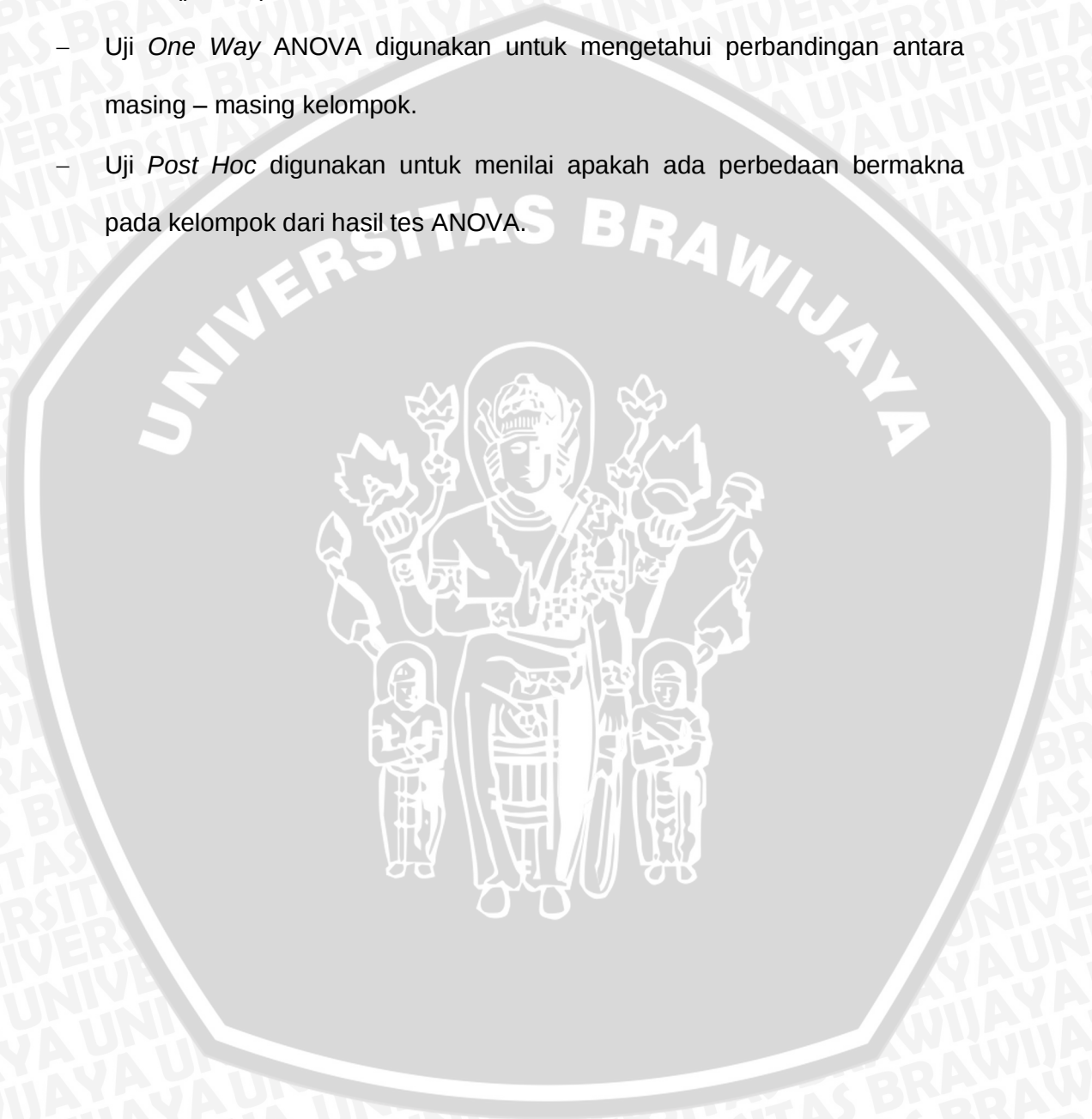
Data hasil perhitungan jumlah sel endotel dan ketebalan lapisan tunika intima-media arteri koroner masing-masing kelompok yang dilihat rata-ratanya disajikan dalam bentuk tabel dan grafik kemudian dianalisis secara deskriptif. Data ketebalan lapisan tunika intima-media arteri yang telah dikumpulkan, diolah dengan cara tabulasi. Berdasarkan tabulasi tersebut, dilakukan uji statistik menggunakan *software statistical product and service solution (SPSS) 17.0* sebagai berikut (Dahlan, 2011):

- Menilai distribusi normalitas data secara analitis dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* atau *Shapiro-Wilk*. Uji *Kolmogorov-Smirnov* digunakan untuk sampel yang besar (lebih dari 50) sedangkan *Shapiro-Wilk* untuk sampel yang sedikit (kurang atau sama dengan dari 50).
- Uji homogenitas untuk menilai atau menguji apakah data yang diperoleh dari setiap kelompok memiliki varian homogen. Jika varians data sama, maka

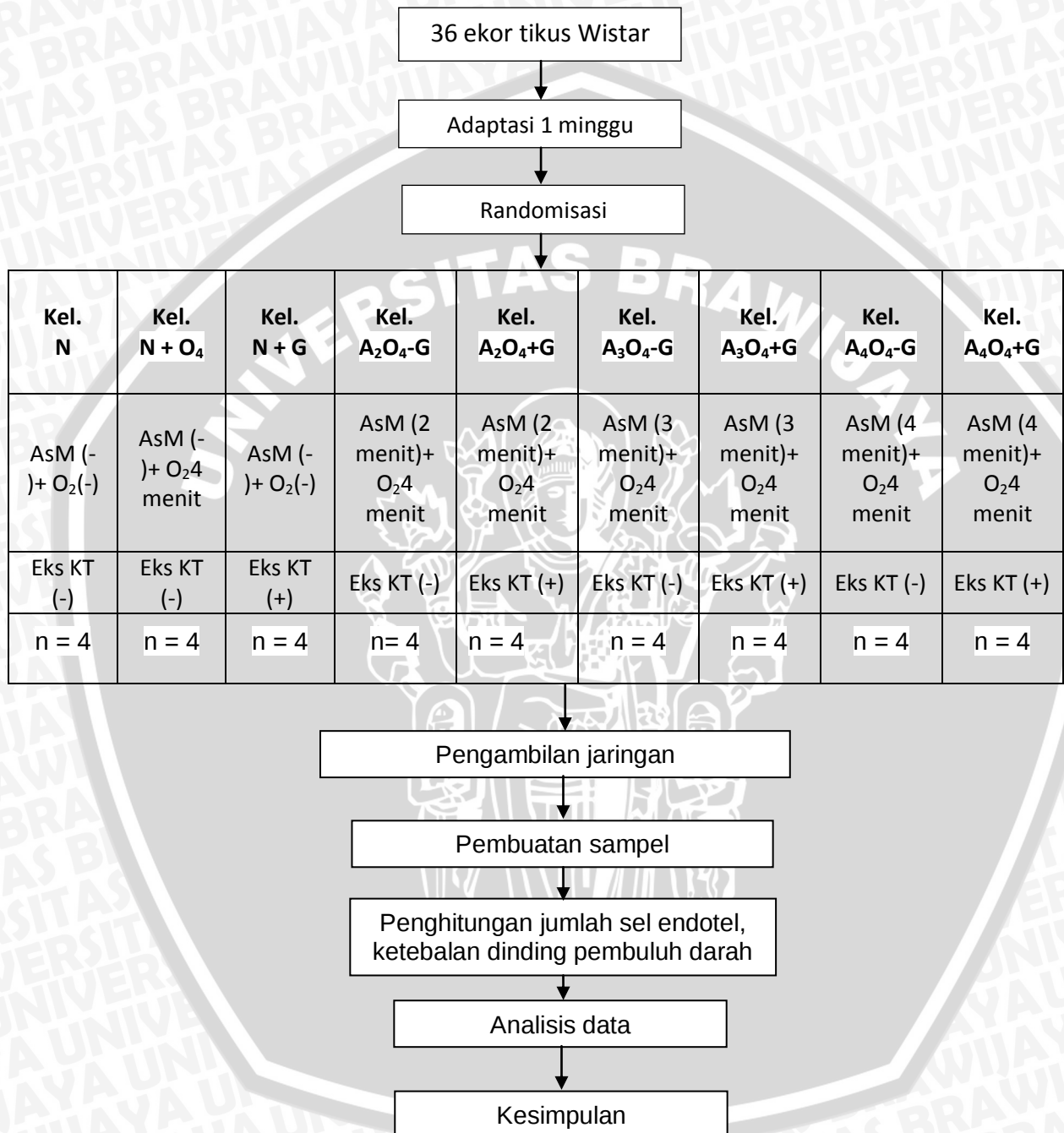
hasil dapat dilanjutkan dengan uji *One Way analysis of variance* (ANOVA).

Karena syarat untuk kelompok tidak berpasangan adalah varians data harus sama ($p > 0,05$).

- Uji *One Way* ANOVA digunakan untuk mengetahui perbandingan antara masing – masing kelompok.
- Uji *Post Hoc* digunakan untuk menilai apakah ada perbedaan bermakna pada kelompok dari hasil tes ANOVA.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

Keterangan:

AsM : Asap mesin

Eks KT: Ekstrak kacang tunggak 0,5 mg/kgBB/hari

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik terhadap 36 ekor tikus dengan menggunakan *post test only control group design* yang terdiri dari 9 kelompok, yaitu kelompok normal (kontrol negatif), kelompok yang diberi oksigen 4 menit, kelompok yang diberi ekstrak kacang tunggak, kelompok yang diberi perlakuan asap 2, 3 dan 4 menit, masing-masing diberikan oksigen 4 menit dengan dan tanpa ekstrak kacang tunggak. Dosis ekstrak kacang yang digunakan untuk tikus didasarkan pada berat rata - rata tikus yaitu 2 ml ekstrak kacang tunggak yang telah diencerkan. Pemberian ekstrak kacang tunggak dilakukan sejak awal perlakuan, 30 menit sebelum dilakukan pengasapan setiap harinya secara bersamaan.

Setelah 30 hari dilakukan pembedahan dan pengambilan organ arteri koroner pada seluruh sampel. Penghitungan jumlah sel endotel dan pengukuran ketebalan dinding arteri koroner bagian tunika intima-media dilakukan dengan menggunakan mikroskop digital dot slide, kemudian selanjutnya membaca hasil pemotretan slide dengan *software Olyvia* dengan pembesaran 400x. Hasil pengamatan diperoleh data kuantitatif, data ini dianalisis dengan program SPSS 17.0 for Windows melalui uji *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc*.

5.1 Hasil Penelitian

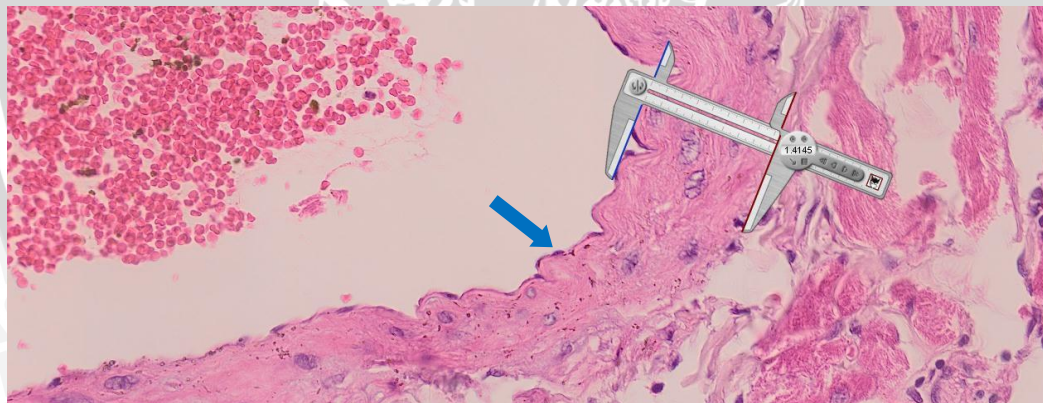
Penghitungan jumlah sel endotel dan pengukuran ketebalan dinding tunika intima-media pada preparat histopatologi arteri koroner dilakukan pada semua kelompok pada akhir penelitian. Setelah 30 hari perlakuan jaringan diambil dari arteri koroner hewan coba diproses dengan pewarnaan HE lalu

dihitung seluruh jumlah sel endotel dan tebal dinding di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.



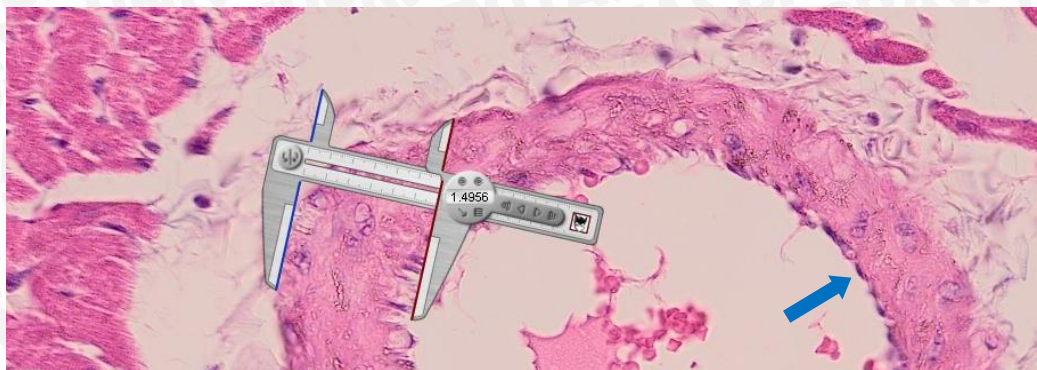
Gambar 5.1 Arteri koroner tikus normal

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 30.5. Rata - rata ketebalan dinding arteri 36.08 μ m



Gambar 5.2 Arteri koroner tikus normal + oksigen 4 menit

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 29.25. Rata-rata ketebalan dinding arteri 37.48 μ m



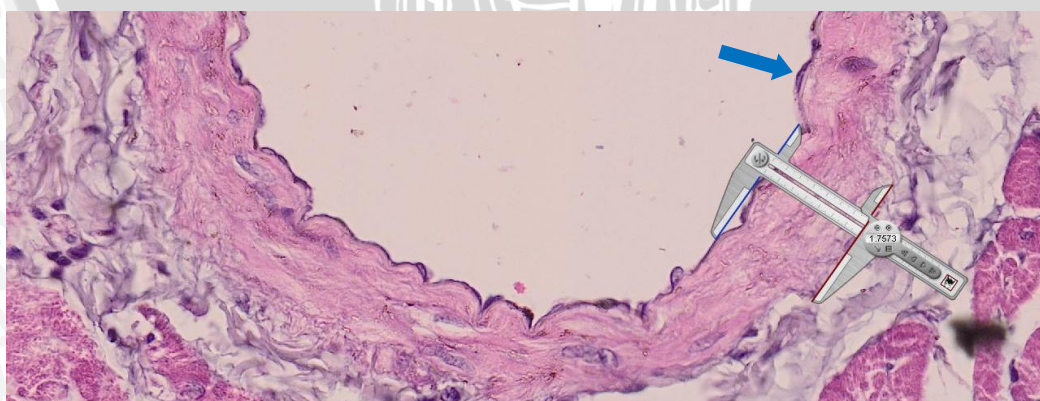
Gambar 5.3 Arteri koroner tikus normal + ekstrak kacang tunggak

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 28.5. Rata-rata ketebalan dinding arteri 30.95 μm



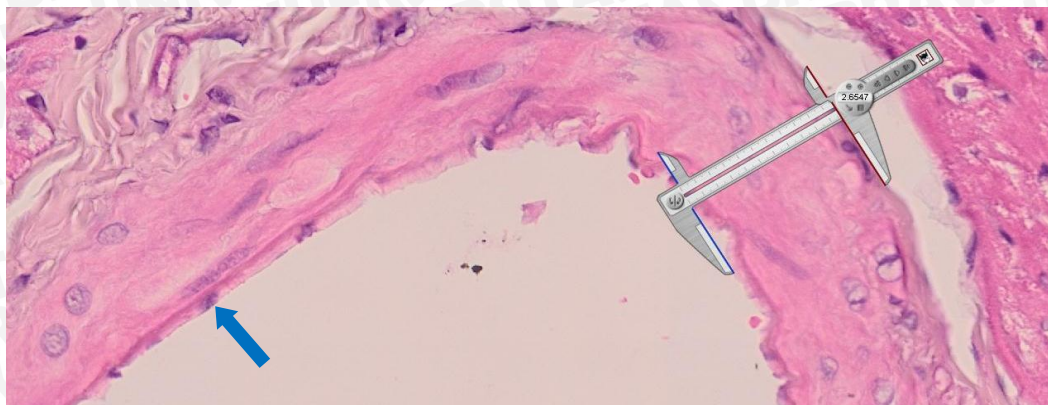
Gambar 5.4 Arteri koroner tikus paparan asap 2 menit + oksigen 4 menit

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 17. Rata-rata ketebalan dinding arteri 61.95 μm



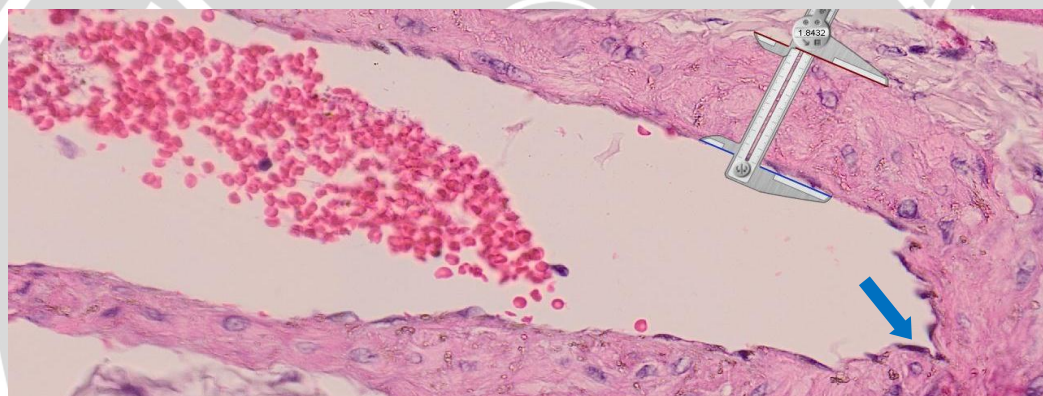
Gambar 5.5 Arteri koroner tikus paparan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 30.25. Rata-rata ketebalan dinding arteri 41.39 μm



Gambar 5.6 Arteri koroner tikus paparan asap 3 menit + oksigen 4 menit

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 16.25. Rata-rata ketebalan dinding arteri 58.12 μ m



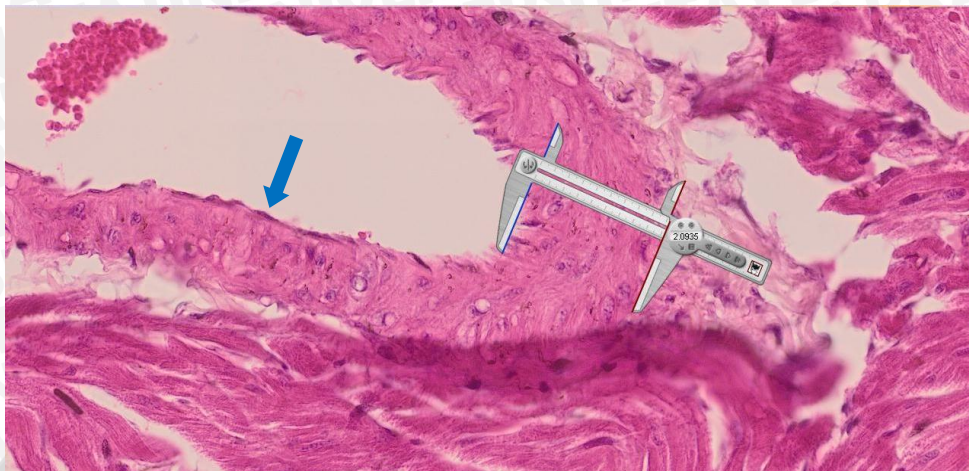
Gambar 5.7 Arteri koroner tikus paparan asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 29.75. Rata-rata ketebalan dinding arteri 41.78 μ m



Gambar 5.8 Arteri koroner tikus paparan asap 4 menit + oksigen 4 menit

Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 12.75. Rata-rata ketebalan dinding arteri 72.04 μ m



Gambar 5.9 Arteri koroner tikus paparan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak

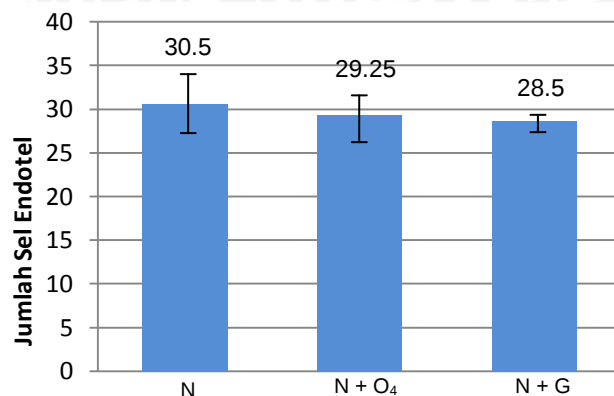
Pewarnaan HE. Perbesaran 200x. Rata-rata jumlah sel endotel 29.55. Rata-rata ketebalan dinding arteri 45.26 μm

5.1.1 Jumlah Sel Endotel

Hasil dari penghitungan jumlah sel endotel semua kelompok baik kontrol maupun perlakuan adalah sebagai berikut:

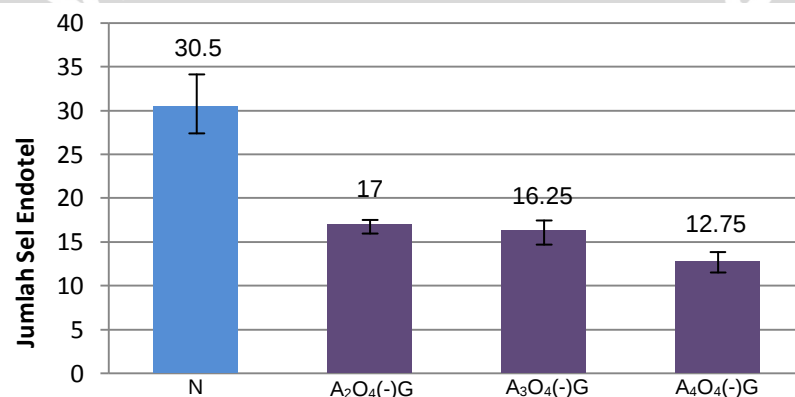
Tabel 5.1 Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Arteri Koroner *Rattus novergicus*

Kelompok Perlakuan	Keterangan	Rerata
N	Kontrol Negatif (Normal)	30.5 $\pm$ 11.21
N + O ₄	Oksigen 4 menit	29.25 $\pm$ 8.81
N + G	Ekstrak kacang tunggak	28.5 $\pm$ 3.42
A ₂ O ₄ (-)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit	17 $\pm$ 2.58
A ₂ O ₄ (+)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	30.25 $\pm$ 13.52
A ₃ O ₄ (-)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit	16.25 $\pm$ 4.50
A ₃ O ₄ (+)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	29.75 $\pm$ 13.48
A ₄ O ₄ (-)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit	12.75 $\pm$ 3.86
A ₄ O ₄ (+)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	29.5 $\pm$ 6.24



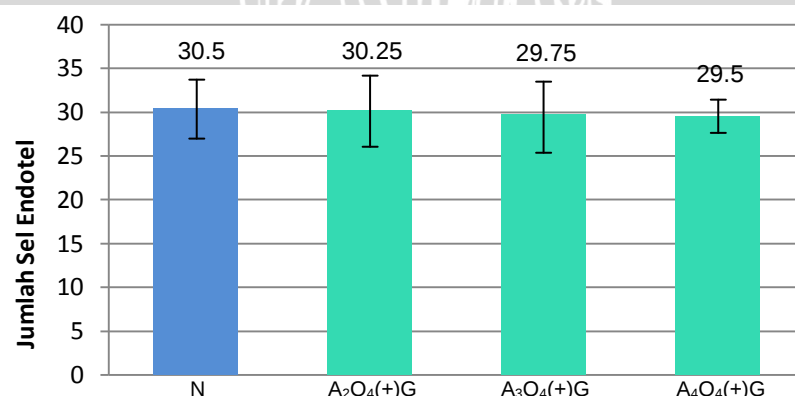
Gambar 5.10 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Tanpa Paparan Asap

Jumlah n = 4. Kelompok N, N + O₄, dan N + G tidak memiliki perbedaan bermakna.



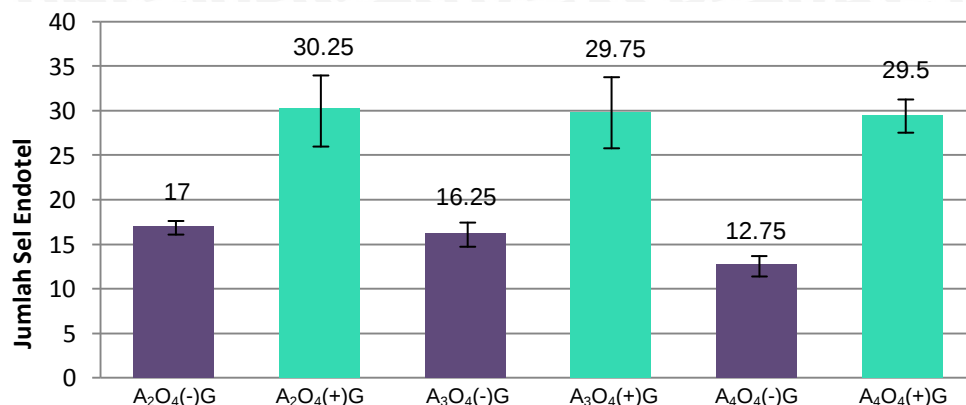
Gambar 5.11 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap

Jumlah n = 4. Kelompok A₂O₄(-)G, A₃O₄(-)G, dan A₄O₄(-)G tidak memiliki perbedaan bermakna.



Gambar 5.12 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan Ekstrak Kacang Tunggak

Jumlah n = 4. Kelompok A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, dan A₄O₄(+)G tidak memiliki perbedaan bermakna.



Gambar 5.13 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Paparan Asap tanpa dan dengan Ekstrak Kacang Tunggak

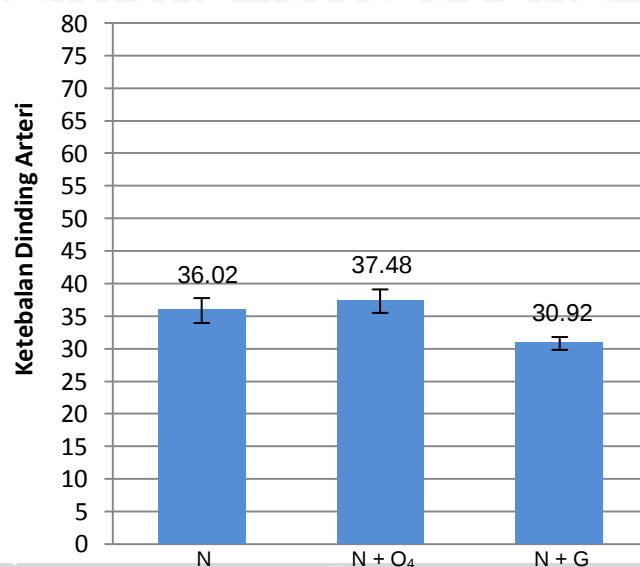
Jumlah n = 4. Kelompok tanpa ekstrak dan kelompok dengan ekstrak memiliki perbedaan bermakna.

5.1.2 Ketebalan Dinding Arteri

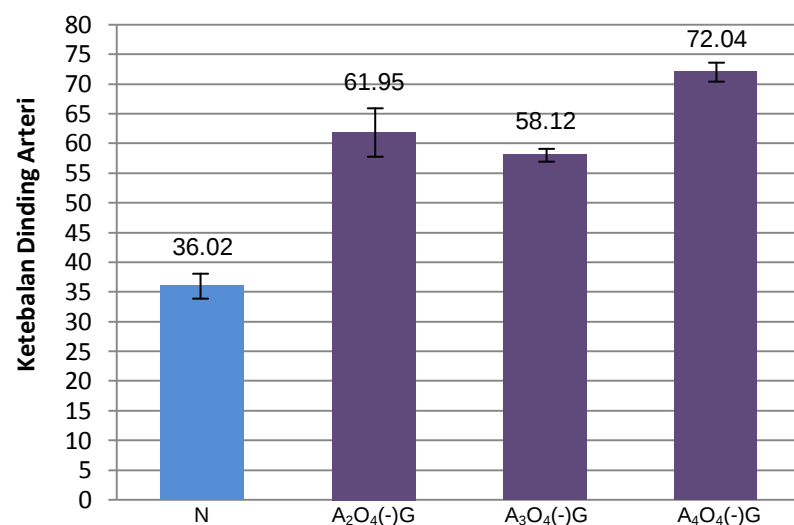
Hasil dari pengukuran ketebalan dinding arteri tunika intima-media semua kelompok baik kontrol maupun perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 5.2 Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner *Rattus norvegicus*

Kelompok Perlakuan	Keterangan	Rerata
N	Kontrol Negatif (Normal)	36.02 ± 4.67 µm
N + O ₄	Oksigen 4 menit	37.48 ± 4.48 µm
N + G	Ekstrak kacang tunggak	30.95 ± 2.42 µm
A ₂ O ₄ (-)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit	61.95 ± 9.14 µm
A ₂ O ₄ (+)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	41.39 ± 5.53 µm
A ₃ O ₄ (-)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit	58.12 ± 2.40 µm
A ₃ O ₄ (+)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	41.78 ± 5.08 µm
A ₄ O ₄ (-)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit	72.04 ± 3.59 µm
A ₄ O ₄ (+)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	45.26 ± 7.19 µm

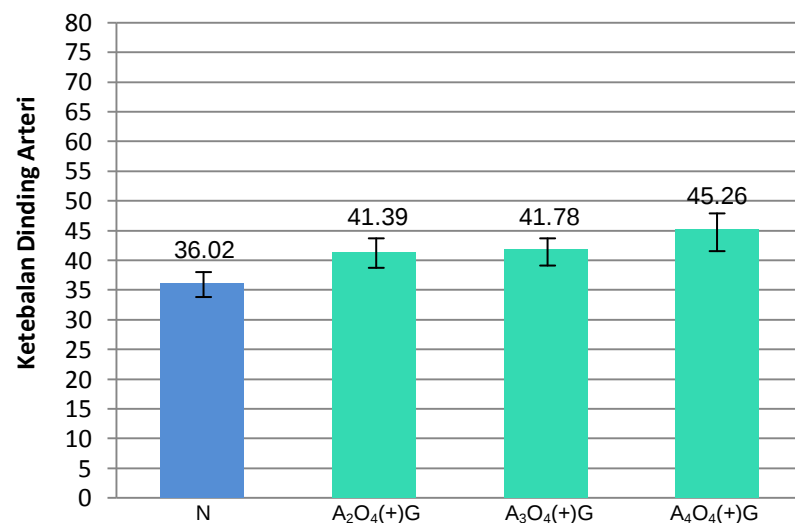


Gambar 5.14 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Tanpa Paparan Asap
Jumlah n = 4. Kelompok N, N + O₄, dan N + G tidak memiliki perbedaan bermakna.

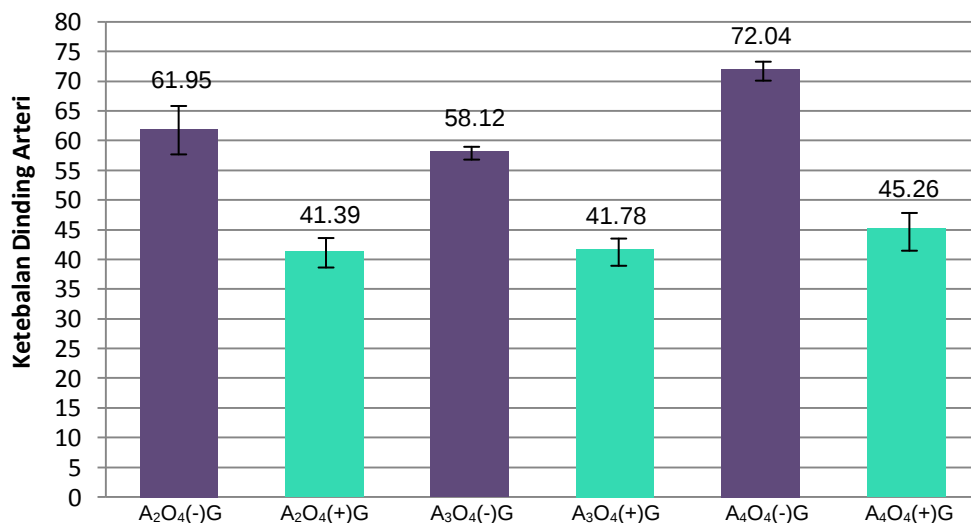


Gambar 5.15 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap

Jumlah n = 4. Kelompok A₂O₄(-)G dan A₃O₄(-)G memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok A₄O₄(-)G.



Gambar 5.16 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan Ekstrak Kacang Tunggak
Jumlah n = 4. Kelompok A₂O₄(+)G, A₃O₄(+)G, dan A₄O₄(+)G tidak memiliki perbedaan bermakna



Gambar 5.17 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri Koroner *Rattus norvegicus* Kelompok Paparan Asap tanpa dan dengan Ekstrak Kacang Tunggak
Jumlah n = 4. Kelompok tanpa ekstrak dan kelompok dengan ekstrak memiliki perbedaan bermakna.

5.2 Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian ini dianalisis dengan menggunakan program analisis statistik SPSS versi 17.0 dengan metode uji statistika *One Way*

ANOVA. Sebelum melakukan analisa data, maka harus dipenuhi dahulu syarat-syarat uji *One Way ANOVA* untuk lebih dari 2 kelompok data yang tidak berpasangan. Syarat uji *One Way ANOVA* adalah distribusi data harus normal dan varians data harus sama. Uji statistik pertama yang dilakukan adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk*. Setelah mengetahui apakah data terdistribusi normal, langkah selanjutnya adalah dengan menentukan apakah data memiliki varian yang berbeda atau tidak dengan menggunakan uji homogenitas. Apabila syarat telah terpenuhi maka dapat dilakukan pengujian *One Way ANOVA*.

Pada uji *One Way ANOVA* apabila paling tidak terdapat dua kelompok data yang mempunyai perbedaan rerata yang bermakna yaitu jika $p < 0.05$ maka selanjutnya analisis yang dilakukan adalah untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan secara bermakna tersebut dengan menggunakan analisis *Post-Hoc*. Pada uji *Post-Hoc* suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ serta interval kepercayaan 95% (IK 95%).

5.2.1 Jumlah Sel Endotel

Uji statistik pertama yang dilakukan adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* (lampiran), didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki sebaran yang normal (uji *Shapiro-Wilk* $p > 0.05$) sehingga p diterima dan dapat diketahui bahwa data variabel tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (lampiran). Pada tabel uji homogenitas didapatkan hasil bahwa data memiliki varian yang sama ($p > 0.05$) dengan nilai $p = 0.96$. Dengan demikian selanjutnya dapat dilakukan pengujian ANOVA karena syarat-syarat telah terpenuhi.

Analisis dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* bertujuan untuk menilai perbedaan antara jumlah sel endotel arteri koroner antar kelompok dengan cara melihat nilai signifikansi (p). Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai $p = 0.019$ (lampiran) dan berdasarkan hasil tersebut maka $p < 0.05$ sehingga diketahui bahwa “paling tidak terdapat perbedaan jumlah sel endotel yang bermakna pada dua kelompok”.

Selanjutnya analisis yang dilakukan adalah untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan secara bermakna dengan menggunakan analisis *Post-Hoc LSD*. Berdasarkan *output* uji didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
P1	-	0.838**	0.755**	0.034*	0.967**	0.026*	0.902**	0.007*	0.870**
P2	0.838**	-	0.914**	0.053**	0.870**	0.041*	0.935**	0.011*	0.967**
P3	0.755**	0.914**	-	0.066**	0.786**	0.052**	0.849**	0.014*	0.881**
P4	0.034*	0.053	0.066**	-	0.038*	0.902**	0.045*	0.489**	0.049*
P5	0.967**	0.870**	0.786**	0.038*	-	0.029*	0.935**	0.008*	0.902**
P6	0.026*	0.041*	0.052**	0.902**	0.029*	-	0.034*	0.568**	0.038*
P7	0.902**	0.935**	0.849**	0.045*	0.935**	0.034*	-	0.009*	0.967**
P8	0.007*	0.011*	0.014*	0.489**	0.008*	0.568**	0.009*	-	0.010*
P9	0.870**	0.967**	0.881**	0.049*	0.902**	0.038*	0.967**	0.010*	-

Keterangan:

* terdapat perbedaan yang bermakna

** tidak terdapat perbedaan yang bermakna

P1 = N; P2 = N + O₄; P3 = N + G; P4 = A₂O₄(-)G; P5 = A₂O₄(+)G; P6 = A₃O₄(-)G;

P7 = A₃O₄(+)G; P8 = A₄O₄(-)G; P9 = A₄O₄(+)G

Dari hasil uji komparasi tersebut diketahui bahwa:

- Terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara jumlah sel endotel kelompok kontrol negatif dengan kelompok oksigen 4 menit ($p = 0.838$), kelompok ekstrak kacang tunggak ($p = 0.755$), kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.967$), asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.902$), dan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.870$).
- Kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.034$), asap 3 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.026$), dan asap 4 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.007$).
- Kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.902$) dan kelompok 4 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.489$). Kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.568$).
- Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit dengan kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.038$), kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit dengan kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.034$), dan kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit dengan kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.010$).
- Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dengan kelompok asap 3

menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.935$) dan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.902$). Kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.967$).

5.2.2 Ketebalan Dinding Arteri

Uji statistik pertama yang dilakukan adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* (lampiran), didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki sebaran yang normal (uji *Shapiro-Wilk* $p > 0.05$) sehingga p diterima dan dapat diketahui bahwa data variabel tersebut terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (lampiran). Pada tabel uji homogenitas didapatkan hasil bahwa data memiliki varian yang sama ($p > 0.05$) dengan nilai $p = 0.259$. Dengan demikian selanjutnya dapat dilakukan pengujian ANOVA karena syarat-syarat telah terpenuhi.

Analisis dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* bertujuan untuk menilai perbedaan antara ketebalan dinding arteri koroner antar kelompok dengan cara melihat nilai signifikansi (p). Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai $p = 0.000$ (lampiran) dan berdasarkan hasil tersebut maka $p < 0.05$ sehingga diketahui bahwa “paling tidak terdapat perbedaan ketebalan dinding arteri koroner yang bermakna pada dua kelompok”.

Selanjutnya analisis yang dilakukan adalah untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan secara bermakna dengan menggunakan analisis *Post-Hoc LSD*. Berdasarkan *output* uji didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.4 Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Arteri

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
P1	-	0.703**	0.193**	0.000*	0.168**	0.000*	0.140**	0.000*	0.021*
P2	0.703**	-	0.096**	0.000*	0.311**	0.000*	0.048*	0.011*	0.049*
P3	0.193**	0.096**	-	0.000*	0.010*	0.000*	0.008**	0.000*	0.001*
P4	0.000*	0.000*	0.000*	-	0.000*	0.321**	0.000*	0.013*	0.000*
P5	0.168**	0.311**	0.010*	0.000*	-	0.000*	0.919**	0.000*	0.315**
P6	0.000*	0.000*	0.000*	0.321**	0.000*	-	0.000*	0.001*	0.002*
P7	0.140**	0.048*	0.008*	0.000*	0.919**	0.000*	-	0.000*	0.365**
P8	0.000*	0.011*	0.000*	0.013*	0.000*	0.001*	0.000*	-	0.000*
P9	0.021*	0.49*	0.0018	0.000*	0.315**	0.002*	0.365**	0.000*	-

Keterangan:

* terdapat perbedaan yang bermakna

** tidak terdapat perbedaan yang bermakna

P1 = N; P2 = N + O₄; P3 = N + G; P4 = A₂O₄(-)G; P5 = A₂O₄(+)G; P6 = A₃O₄(-)G;
P7 = A₃O₄(+)G; P8 = A₄O₄(-)G; P9 = A₄O₄(+)G

Dari hasil uji komparasi tersebut diketahui bahwa:

- Terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara ketebalan dinding arteri kelompok kontrol negatif dengan kelompok oksigen 4 menit ($p = 0.703$), kelompok ekstrak kacang tunggak ($p = 0.193$), kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.168$), asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.140$),
- Kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.000$), asap 3 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.000$), asap 4 menit + oksigen 4 menit ($p =$

0.000) dan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.021$).

- Kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.321$). Kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.013$) dan kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit ($p = 0.001$).
- Terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit dengan kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.000$), kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit dengan kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.000$), dan kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit dengan kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak (0.000).
- Tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dengan kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.919$) dan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.315$). Kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0.365$).

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengetahui efek ekstrak kacang tunggak terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin. Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratorik pada hewan coba tikus wistar sejumlah 36 ekor terbagi menjadi 9 kelompok yaitu, kelompok normal (kontrol negatif), kelompok yang diberi oksigen 4 menit, kelompok yang diberi ekstrak kacang tunggak, kelompok yang diberi perlakuan asap 2, 3 dan 4 menit, masing-masing diberikan oksigen 4 menit dengan dan tanpa ekstrak kacang tunggak. Dosis ekstrak kacang yang digunakan adalah 2 ml ekstrak kacang tunggak encer.

6.1 Pengaruh paparan asap mesin berbahan bakar bensin terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus

Hasil penghitungan rata-rata jumlah sel endotel dan pengukuran rata-rata ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar menunjukkan kelompok kontrol negatif memiliki jumlah sel endotel yang lebih tinggi dan ketebalan dinding arteri yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok paparan asap 2 menit, 3 menit, dan 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak.

Fine PM ($<2,5 \mu\text{m}$) dan *UFP* ($<0,1 \mu\text{m}$) berasal dari pembakaran bahan bakar fosil dan dapat dengan mudah terdeposit dalam unit terkecil saluran napas (alveoli) bahkan dapat masuk ke sirkulasi darah sistemik (Zaini, 2008). Paparan terhadap polusi udara dapat menyebabkan stres oksidatif diketahui memiliki pengaruh pada efek sistemik seperti inflamasi vaskular (Tornqvist *et al.*, 2007).

Stres yang dimediasi oleh PM timbul karena pembentukan langsung ROS dari permukaan partikel, senyawa soluble seperti logam transisi atau senyawa organik yang mengubah fungsi mitokondria atau NADPH oksidase, dan aktivasi sel inflamasi yang mampu menghasilkan ROS dan RNS. Pada penelitian terdahulu didapatkan bahwa pada orang yang terpapar polutan udara kadar SOD, H_2O_2 dan $ONOO^-$ serum lebih tinggi dibandingkan yang tidak terpapar (Brook *et al.*, 2010). Pada keadaan stress oksidatif terjadi ketidakseimbangan antara NO dan ROS (Higashi *et al.*, 2009). NO merupakan antagonis dari sifat vasokonstriktif ROS. NO memiliki sejumlah pengaruh anti-aterogenik lain termasuk penghambatan proliferasi dan migrasi dari sel otot polos vaskuler, agregasi platelet dan respon inflamasi endotel (Miller *et al.*, 1998 dalam Lawrence, 2006).

O_2^- bereaksi sangat cepat dengan NO, menghasilkan $ONOO^-$ dan mengakibatkan NO kehilangan bioaktivitasnya. Selain mengikat NO, ROS juga meningkatkan oksidasi H_4B sebagai kofaktor eNOS, sehingga eNOS mengalami *uncoupling*, *Uncoupling* eNOS tidak melaksanakan fungsi normalnya memproduksi NO tetapi justru menghasilkan produk radikal bebas O_2^- . Pengaruh ROS yang lain yaitu menghambat enzim DDAH menyebabkan peningkatan ADMA yang menurunkan aktivitas dari eNOS (Landmesser *et al.*, 2004). Penurunan bioavailabilitas NO (penurunan produksi NO dan atau peningkatan inaktivasi NO) menginduksi terjadinya disfungsi endotel.

Disfungsi endotel sangat penting pada patogenesis aterosklerosis (Robbin, *et al.*, 2004). Rusaknya endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah (Lampka *et al.*, 2010). Pada perkembangan plak aterosklerotik, terjadi perlekatan monosit ke molekul adhesi pada sel endotel

arteri yang rusak. Monosit kemudian bermigrasi melalui endotel masuk ke dalam lapisan intima dinding arteri dan berubah menjadi makrofag. Makrofag kemudian mencerna dan mengoksidasi molekul lipoprotein, sehingga menjadi sel busa makrofag. Sel busa tersebut melepaskan zat-zat yang menimbulkan inflamasi dan pertumbuhan sel intima (Guyton dan Hall, 2006). Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang mendapatkan bahwa stress oksidatif akibat paparan asap rokok mampu menurunkan jumlah sel endotel dan menyebabkan penebalan dinding arteri koroner tikus (Ali *et al.*, 2012).

6.2 Pengaruh lama paparan terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah sel endotel dan pengukuran ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar diketahui terdapat tren penurunan jumlah sel endotel dimana semakin lama waktu paparan maka semakin sedikit rata-rata jumlah sel endotel. Adapun untuk ketebalan dinding arteri, terdapat peningkatan ketebalan yang signifikan untuk lama paparan 2 menit dan 3 menit dibandingkan dengan 4 menit. Akan tetapi jika dibandingkan lama paparan antara 2 menit dan 3 menit justru terdapat tren penurunan ketebalan dinding arteri. Menurut AHA tingkat mortalitas akibat paparan meningkat sebanding dengan lama paparan (Brook *et al.*, 2010). Pada penelitian ini hal tersebut belum terbukti secara signifikan. Hal ini diduga karena lama paparan tidak terlalu berbeda yaitu hanya berselang satu menit. Selain itu untuk lama paparan 2 menit dibandingkan dengan 3 menit yang justru menunjukkan penurunan ketebalan dinding arteri mungkin disebabkan karena adanya perbedaan kinerja mesin bulan pertama dan kedua sehingga kadar asap berkurang dan konsentrasi PM

menurun. Sebab selain dipengaruhi lama paparan, efek juga dipengaruhi dosis/kadar di udara (Prasetyo, 2013).

6.3 Pengaruh pemberian ekstrak kacang tunggak jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus

Kelompok tikus yang dipapar asap 2 menit, 3 menit, dan 4 menit dengan disertai pemberian ekstrak kacang tunggak memiliki rata-rata jumlah sel endotel yang lebih tinggi dan ketebalan dinding arteri yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok paparan asap 2 menit, 3 menit, dan 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak. Hasil analisa *Post Hoc* LSD memperlihatkan perbedaan masing-masing kelompok signifikan ($p < 0.05$). Antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok paparan asap yang diberi ekstrak kacang tunggak, rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri kedua kelompok tidak memiliki perbedaan secara signifikan ($p > 0.05$) kecuali untuk ketebalan dinding arteri pada paparan asap 4 menit disertai pemberian ekstrak kacang tunggak ($p < 0.05$).

Dengan demikian dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak kacang tunggak yang mengandung genistein pada tikus wistar bersamaan dengan paparan asap mesin berbahan bakar bensin mampu menghambat kerusakan dan pelepasan sel endotel dan mencegah penebalan dinding arteri koroner tikus.

Genistein yang dikandung dalam ekstrak kacang tunggak diduga memberikan peranan sebagai antioksidan terhadap angka rerata menghambat pelepasan sel endotel dan penebalan dinding arteri koroner tikus Wistar yang paparan asap kendaraan. Genistein diketahui dapat berfungsi sebagai protektif vaskular yang potensial (Si dan Liu, 2007 dalam Zhen *et al.*, 2012). ROS terutama O_2^- dapat menurunkan bioavailabilitas NO menyebabkan terjadinya

gangguan pada reaktivitas pembuluh darah. Genistein meningkatkan produksi NO dan menurunkan ROS melalui regulasi eNOS serta menekan ekspresi *ROS-producing enzymes* (Wassmann *et al.*, 2004; Cho *et al.*, 2011; Si *et al* dalam Zhen *et al* 2012).

Inflamasi pada vaskular terjadi karena peningkatan interaksi leukosit dengan endothelium yang diregulasi oleh ICAM-1 dan VCAM-1 serta peningkatan faktor proinflamasi seperti TNF- α dan MCP-1. Genistein mempunyai efek menekan ekspresi mRNA dari TNF- α , MCP-1, dan ICAM-1 tetapi tidak berefek pada ekspresi VCAM-1 (Lu *et.al.*, 2009).. Hasil percobaan ini sejalan dengan penelitian lain yaitu pada tikus yang diovarektomi dan diberi diet metionin, genistein dilaporkan mampu memperbaiki perubahan morfologi berupa degenerasi dan pelepasan sel endotel dari dinding pembuluh darah pada tikus (Zhen *et al.*, 2012). Akan tetapi karena penelitian ini menggunakan ekstrak kacang tunggak, maka tidak menutup kemungkinan bahwa efek tersebut juga peran dari senyawa aktif selain genistein seperti quercetin dan myricetin.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian mengenai efek ekstrak kacang tunggak terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Paparan asap mesin berbahan bakar bensin dapat menyebabkan penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar.
2. Perbedaan lama waktu paparan 2 menit, 3 menit, dan 4 menit tidak berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding arteri koroner tikus wistar.
3. Pemberian ekstrak kacang tunggak mampu menghambat pelepasan sel endotel dan mencegah penebalan dinding arteri koroner tikus yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.

7.2 Saran

Beberapa hal yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan variasi waktu paparan asap yang lebih lama disertai modifikasi alat dengan tekanan stabil dan variasi model pengasapan agar tikus tahan terpapar dalam waktu yang cukup lama.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme molekular kacang tunggak dalam menghambat penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding arteri tikus wistar yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin.



DAFTAR PUSTAKA

- Amin, N. 2009. Reducing Emissions from Private Cars: Incentive measures for behavioural change. *United Nations Environment Programme*.
- Araujo, J.A., Nel, A.E. Particulate Matter and Atherosclerosis : Role of Particle size, Composition and Oxidative Stress. *Particle and Fibre Toxicology*, 2009, 186: 1743-8977-6-24
- Arianto, A. 2011. Kendaraan Bermotor di Indonesia Terbanyak di ASEAN. [www.tempo.co/ read/news/2011/08/19/124352572/null](http://www.tempo.co/read/news/2011/08/19/124352572/null). Diakses tanggal 17 Januari 2012
- Arief, S., 2006. Radikal Bebas. <http://www.old.pediatrik.com/buletin/06224113752-x0zu6l.doc>. Diakses tanggal 17 Januari 2012
- Auchère, F., Blandin, C.C., NADPH as a Co-substrate for Studies of The Chlorinating Activity of Myeloperoxidase. *Biochemical Journal*, 1999, 343:603-613
- Ali, S.S., Ayuob, N.N., Ansary, A.B., Soluman E.R., Antioxidant protect Against Inscreased Risk of Atherosclerosis Induced by Exposure to cigarette Smoke : Histological and Biochemical Study. *Saudi journal of Biological Sciences*, 2012, 19: 291-301
- Brook, R.D., Franklin, B., Cascio, W., Hong, Y., Howard, G., Lipsett, M., et al. Air Pollution and Cardiovascular Disease. (Abstract). *Circulation*, 2004, 109: 2655-2671
- Brook, R.D., Rajagopalan, S., Pope, A., Brook., J.F., Bhatnagar, A., Diez-Roux, A.V., Particulate Matter Air Pollution and Cardiovascular Disease : An Update to the Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*, 2010, 121:2331-2378
- Buddiga, P., Bangalore, A., Gest, T.R., 2012. Cardiovascular System Anatomy. [http:// emedicine.medscape.com/article/1948510-overview#aw2aab6b3](http://emedicine.medscape.com/article/1948510-overview#aw2aab6b3). Diakses tanggal 16 Januari 2012
- Clark, R.A., Activation of the Neutrophil Respiratory Burst Oxidase. *Journal Infection Disease*, 1999, 179: S309-S317
- Cho, H.Y., Park, C.M., Kim, M.J., Chinzorig, R., Cho, C.W., Song, Y.S., Comparative Effect of Genistein and Daidzein on the Expression of MCP-1, eNOS, and Cell Adhesion Molecules in TNF- α -stimulated HUVECs. *Nutrition Research and Practice*, 2011, 5:382-388
- Dahlan, Sopiudin. 2011. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika

Dalimartha, S. dan Soedibyo, M. (1999). *Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Suplemen.*, Trubus Agriwidya, Jakarta. hal. 36-40.

Dlukha, S., Ariana, I.M., Fathallah A.Z.M., 2012. Studi Eksperimental Penggunaan Venturi Scrubber dan Cyclonic Separator Untuk Meningkatkan Kinerja pada Sistem Exhaust Gas Recirculation (EGR) dalam Menurunkan Nox pada Motor Diesel. *Jurnal Teknik ITS Vol 1*. Surabaya.

Ehrlich, S.D. 2010. Atherosclerosis. <http://stlukesvintage.adam.com/content.aspx?productid=107&pid=33&qid=000016>. Diakses tanggal 18 Januari 2012

Fachruddin, Lisdiana. 2007. Budi Daya Kacang-kacangan. Yogyakarta: Kanisius

Fruchart, J.C., Nierman, M.C., Stroes, E.S., Kastelein, J.P., Duriez, P. New Risk Factor for Atherosclerosis and Patient Risk Assessment. *Circulation*, 2004, 109: III-15-III-19

Guyton, A.C., Hall, J.E. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan oleh Irawat et al. 2007. Jakarta: EGC

Halliwell, B., Whiteman, M., Measuring Reactive Species and Oxidative Damage In vivo and In Cell Culture. *British Journal Pharmacology*, 2004, 142(2): 231-255

Hamalainen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., Moilanen, E., Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF- κ B Activation, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF- κ B Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages. *Mediator of Inflammation*, 2007:45673

Hanafiah, K.A., 2005. Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi. Ed. Rev. 10. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

Hariyatmi. 2004. Kemampuan Vitamin E sebagai Antioksidan terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia. *Jurnal MIPA vol 14*. Surakarta.

Haliza, W., Purwani, E.Y., Thahir, R., 2010. Pemanfaatan Kacang-Kacangan Lokal Mendukung Diversifikasi Pangan. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 2010 : 238-245

Hembing W. 2001. *Penyembuhan dengan Bawang Putih dan Bawang Merah*. Jakarta: Penerbit Milenia Popular, pp : 3-19.

Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M., Kihara, Y., Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. *Circulation*, 2009, 73: 411-418

Hooshmand S., Soung Do Y., Lucas E. A., Madhally S. V., Levenson C. W. 2007. Genistein Reduces The Production Of Proinflammatory Molecules In Human Chondrocytes. *J. Nutr. Biochem.*, 2007, 18 : 609-614

Janus, E.D., Postiglione, A., Singh, R.B., Lewis, B. The Modernization of Asia. *Circulation*, 1996, 94: 2671-2673

Julia, A.R., Tanu, I.N., Basit, A. 2011. *Pengaruh Pemberian Teh Hitam (Camellia sinensis O.K Var. Assamica (Mast)) Terhadap Kadar Serum Kolesterol LDL-HDL pada Rattus novergicus strain wistar yang diberi Diet Tinggi Lemak (Aterogenik)* . Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2004. Histologi Dasar Teks dan Atlas. Edisi Kesepuluh. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal 208

Kume, T., Akasaka, T., Kawamoto, T., Watanabe, N., Toyota, E., Neishi, Y., Assesment of Coronary Intima - Media Thickness by optical Coherence Tomography : Comparison with Intravascular Ultrasound. *Circulation J*, 2005; 69: 903-907

Ladich, E.R., Virmani, R., Kolodgie, F., Otsuka, F. 2012. Atherosclerosis Pathology. <http://emedicine.medscape.com/article/1612610-overview#aw2aab6b3>. Diakses tanggal 16 Januari 2012

Lampka, M., Grabczewska, Z., Jendryczka-Mackiewicz, E., Holynska-Iwan, I., Sukiennik, A., Kubica, J., Circulating Endothelial Cells in Coronary Artery Disease. *Kardiologia Polska*, 2010, 68, 10: 1100-11-5

Landmesser, U., Hornig, B., Drexler, H., Endothelial Function : A Critical Determinant in Atherosclerosis. *Circulation*, 2004, 109: II-27-II-33

Lawrence, G.S. 2006. Implikasi Klinis Disfungsi Endotel dan Radikal Bebas

Limaye, V. Vadas, M. 2007. The vascular endothelium: structure and function. In : Fitridge, Robert, Thompson, Matthew, (Eds), Mechanisms of Vascular Disease A Textbook for Vascular Surgeons, Cambridge University Press, New York, pp. 1-10

Lox, E.S., Engler, B.H., Koberstein, E., Catalysis and Automotive Pollution Control II (Ed: A.Crucq). Elsevier, Amsterdam, 1991.

Lu, Hua, Ji-Xin Shi, Dong-Mei Zhang, Hui-Lin Chen, Meng Qi And Hong-Xia Yin. 2009. Genistein, A Soybean Isoflavone, Reduces The Production Of Pro-Inflammatory And Adhesion Molecules Induced By Hemolysate In Brain Microvascular Endothelial Cells. *Acta Neurol. Belg.*, 2009, 109, 32-37

Martohusodo, B.I. 2007. Pencegahan Primer Penyakit Jantung Koroner Guna Menurunkan Angka Kesakitan dan Kematian Akibat Serangan Jantung

Miralles, J.H., Martinez-Aguilar, E., Florez, A., Varela, C., Bleda, S., Acin, F., Nitric Oxide: Link Between Endothelial Dysfunction and Inflammation in Patient with Peripheral Arterial Disease of the Lower Limbs. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 2009, 9:107-112

Muis, M., Murtala, B. 2011. Peranan Ultrasonografi dalam Menilai Kompleks Intima-Media Arteri Karotis untuk Diagnosis Dini Aterosklerosis. *CDK*. Volume 38 No. 3

Nicholls, S.J., Hazen, S.L., Myeloperoxidase, Modified Lipoproteins, and Atherogenesis. *The Journal of Lipid Research*, 2009, 50:S346-S351

Nurkiewicz, T.R., Porter, D.W., Hubbs, A.F., Stone, S., Chen, B.T., Frazer, D.G., Pulmonary Nanoparticle Exposure Disrupts Systemic Microvascular Nitric Oxide Signaling. *Toxicological Sciences*, 2009, 110(1): 191-203

Ostro, B. 2004. Outdoor Air Pollution: Assessing the Environmental Burden of Disease at National and Local Level. *WHO Environmental burden of Disease Series*, No 5

Paget, G.E., Barnes, J.M., 1971, In MN Ghost (Ed), *Fundamentals of Experimental Pharmacology*, Scientific Book Agency, Calcuta

Paravicini, T.M., Touyz, R.M., NADPH Oxidase, Reactive Oxygen Species, and Hypertension Clinical Implications and Therapeutic Possibilities. *Diabetes Care*, 2008, 31: S170-S180

Pasternak, R.C., Criqui, M.H., Benjamin, E.J., Fowkes, G.R., Isselbacher, E.M., McCullough, P.A. Atherosclerotic Vascular Disease Conference, Writing Group I: Epidemiology. *Circulation*, 2004, 109: 2605-2612

Pawiroharsono, Suyanto . 2001. Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan. <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/042001/pus-2.htm>. Diakses tanggal 17 Januari 2012

Podrez, E.A., Schmitt, D., Hoff, H.F., Hazen, S.L., Myeloperoxidase-generated Reactive Nitrogen Species Convert LDL into Atherogenic Form in vitro. *The Journal of Clinical Investigation*, 1999, 103(11):1547-1560

Prasetyo, A.U., 2013. *Pencemaran Polusi Udara*. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia Timur

Ricciardolo, F.L.M., Sterk, P.J., Gaston, B., Folkerts, G., Nitric Oxide in Health and Disease of the Respiratory System. *Physiological Reviews*, 2004, 84:731-765

Robbin, S.L., Kumar, V., Cotran, RS., 2004. Buku Ajar Patologi Volume 1, Edisi Ketujuh, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Robbin, S.L., Kumar, V., Cotran, RS., 2004. Buku Ajar Patologi Volume 2, Edisi Ketujuh, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Rohdiana, D.(2001). Aktivitas Daya Tangkap Radikal Polifenol Dalam Daun Teh, *Majalah Jurnal Indonesia* 12, (1), 53-58.

Routledge HC, Ayres JG. Air pollution and the heart. *Occup Med (Lond)*, 2005, 55(6):439-47.

Rukmana, Rahmat dan Y. Y. Oesman. 2000. *Kacang Tunggak Budi Daya dan Prospek Usaha Tani*. Yogyakarta: Kanisius

Russel, R. Atherosclerosis an Inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999: 115-125

Sierra-Vargas, M.P., Guzman-Grenfell, A.M., Blanco-Jimenez, S., Sepulveda-Sanchez, J.D., Bernabe-Cabanillas, R.M., Cardenas-Gonzalez, B., *et al*. Airborne particulate matter PM_{2.5} from Mexico City affects the generation of reactive oxygen species by blood neutrophils from asthmatics: an in vitro approach. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 2009, 4:17

Simanjuntak, O. 2003. Kaitan dan Hubungan Perubahan Struktur Arteri Koroner Dengan Pertambahan Umur

Sary, H.C., Blankenhorn, D.H., Chandler, A.B., Glagov, S., Insull, J., Rosenfeld, S.A., *et al*. A Definition of the Intima of Human Artery and of its Atherosclerosis-prone Regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis. *Circulation*, 1992, 85:39: 391-405

Stocker, R., Huang, A., Jeranian, E., Hou, J.Y., Wu, T.T., Thomas, S.R., *et al*. Hypochlorous Acid Impairs Endothelium-Derived Nitric Oxide Bioactivity Through a Superoxide-Dependent Mechanism. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology*, 2004, 24: 2028-2033

Sunarni,T., (2005). Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal Bebas Beberapa kecambah Dari Biji Tanaman Familia Papilionaceae, *Jurnal Farmasi Indonesia* 2 (2), 2001, 53-61.

Tornqvist, H., Mills, N.L., Gonzalez, M., Miller, M.R., Robinson, S.D., Megson, M.L., *et al*. Persistent Endothelial Dysfunction in Humans after Diesel Exhaust Inhalation. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176: 395-400

Tousoulis, D., Charakida, M., Stefanadis, C., Endothelial Function and Inflammation in Coronary Artery Disease. *Heart*, 2006, 92: 441-444

Valenzuela, H., Smith, J., Cowpea. *Sustainable Agriculture Green Manure Crops*, 2002, SA-GM-6

Vita, J.A., Brennan, M.L., Gokce, N., Mann, S.A., Goormastic, M., Shishehbor, M.H., Serum Myeloperoxidase Levels Independently Predict Endothelial Dysfunction in Humans. *Circulation*, 2004, 110:1134-1139

Wang, M. L., A. G. Gillaspie, J. B. Morris, R. N. Pittman, J. Davis and G. A. Pederson. 2008. Flavonoid Content In Different Legume Germplasm Seeds Quantified by HPLC. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 6, pp: 62-69

Wargo, J., Wargo, L., Alderman, N. The Harmful Effects of Vehicle Exhaust : A Case for Policy Change. *Environment and Human Health Inc*, 2006.

Wassmann, S., Wassmann, K., Nickenig, G., Modulation of oxidant and Antioxidant Enzymes Expression and Function in Vascular Cells. *Circulation*, 2004, 44: 381-386

Winarsi, H. 2007. Antioksidan alami dan Radikal Bebas : Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta.

Wirdayanti. 2012. Studi Pembuatan Mie Kering dengan Penambahan Pasta Ubi Jalar, Pasta Kacang Tunggak dan Pasta Tempe Kacang Tunggak.

Wiseman, H., Halliwell., B. Damage to DNA by Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Role in Inflammatory Disease and Progression to Cancer. *Biochemical Journal*, 1996, 313: 17-29

Zaini, J. 2008. Dampak Polusi Udara Terhadap Kesehatan. io.ppijepang.org/v2/index.php?option=com_k2&view=item&id=268:dampak-polusi-udara-terhadap-kesehatan. Diakses tanggal 16 Januari 2012

Zhen, P., Zhao, Q., Hou, D., Liu, T., Jiang, D., Duan, J., et al. Genistein Attenuates Vascular Endothelial Impairment in Ovariectomized Hyperhomocysteinemic Rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, 730462

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Sakinah

NIM : 0910710012

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat di buktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Selasa 05 Februari 2013

Yang membuat pernyataan,

(Sakinah)

NIM. 0910710012

LAMPIRAN 1

Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Alat Pemaparan Asap



Gambar 2. Ekstraksi Kacang Tunggak



Gambar 3. Hewan Coba



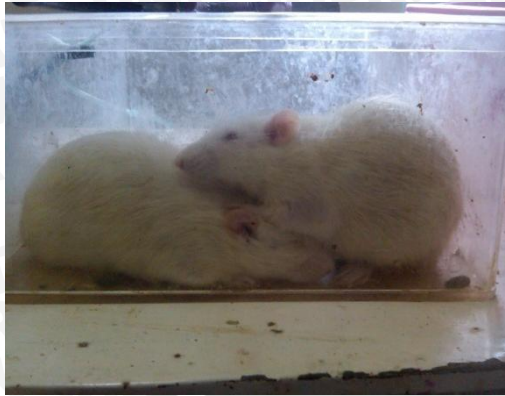
Gambar 4. Ruangan Pemaparan Asap



Gambar 5. Penyondean Ekstrak



Gambar 6. Proses Pemaparan Asap



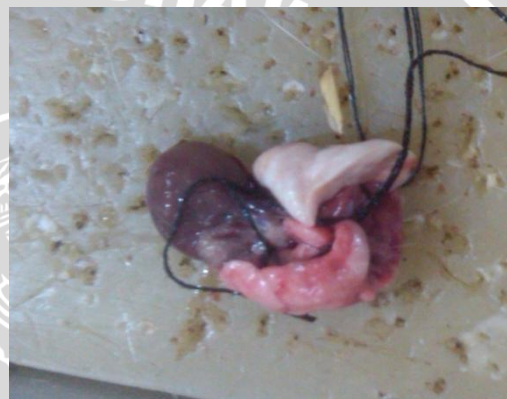
Gambar 7. Tikus Saat Pemaparan



Gambar 9. Proses Anestesi



Gambar 10. Pengambilan Organ Tikus



Gambar 11. Organ Jantung dan Paru Tikus



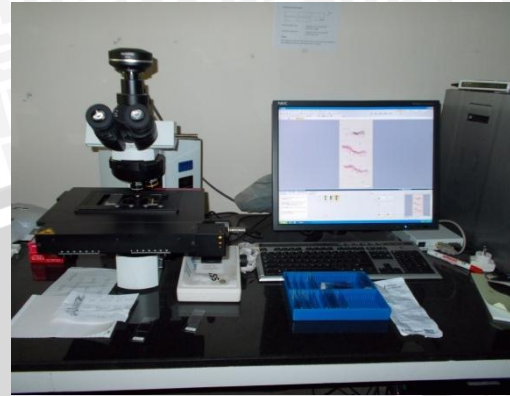
Gambar 12. Tempat Pengawetan Organ



Gambar 13. Pembuatan Preparat Gross



Gambar 14. Microtome



Gambar 15. Scan Dot dan Software Olyvia



LAMPIRAN 2

Data Berat Badan Tikus

Berat rata-rata saat penelitian

Penimbangan ke-	Kelompok								
	A2O4(-)G	A2O4(+)G	A4O4(-)G	A4O4(+)G	N	N + O4	N + G	A3O4(-)G	A3O4(+)G
1	341.2	337	359.6	356.2	400.33	412.75	400.25	399.25	392.25
2	344.6	346.2	363.2	374.8	410.28	422.31	406.75	407.3	403.5
3	356.6	355	380.5	370					

Berat pada hari pembedahan

No Tikus	Kelompok								
	A2O4(-)G	A2O4(+)G	A4O4(-)G	A4O4(+)G	N	N + O4	N + G	A3O4(-)G	A3O4(+)G
1	347	422	348	431		418	437	416	438
2	423	345	313	383	385		412	345	433
3	326	374	391	310	408		379	384	378
4	410	391	349	396	398	435	439	430	385

LAMPIRAN 3**Perhitungan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak**

Perhitungan didasarkan pada kandungan genistein dalam ekstrak kacang tunggak yaitu:

$$= 140.7 \text{ ppm}$$

$$= 140.7 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$= 140.7 \text{ mg/1000 ml}$$

Dosis efektif genistein dalam ekstrak kacang tunggak berdasarkan penelitian tentang efek antioksidan ekstrak kacang tunggak pada tikus yang di ovariectomi adalah 0.5 mg/kgBB.

Rata - rata berat badan tikus kelompok dengan pemberian ekstrak kacang tunggak pada bulan pertama adalah 370 gr.

Untuk 10 tikus perhari

$$\frac{3700}{1000} \text{ kg} \times 0.5 \text{ mg/kgBB} = 1.8 \text{ mg/hari}$$

Untuk 10 tikus per 30 hari

$$1.8 \text{ mg/hari} \times 30 = 55.5 \text{ mg genistein}$$

$$\frac{55.5 \text{ mg}}{140.7 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ml} = 394.4 \text{ ml/hari}$$

Untuk 1 tikus perhari

$$394.4 \text{ ml} : 3 = 131.5 \text{ ml (10 ekor)}$$

$$131.5 \text{ ml} : (10 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}) = 1.3 \text{ ml/ekor/hari}$$

Dijadikan 2 ml → di tambah 0.7 ml air

Untuk 10 ekor per 10 hari

$$131.5 \text{ ml} + 70 \text{ ml air} = 201.5 \text{ ml}$$

Rata - rata berat badan tikus kelompok dengan pemberian ekstrak kacang tunggak pada bulan kedua adalah 396.25 gr.

Untuk 8 tikus perhari

$$\frac{3170}{1000} \text{ kg} \times 0.5 \text{ mg/kgBB} = 1.585 \text{ mg/hari}$$

Untuk 8 tikus per 34 hari

$$1.585 \text{ mg/hari} \times 34 = 53.89 \text{ mg genistein}$$

$$\frac{53.89 \text{ mg}}{140.7 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ml} = 383.01 \text{ ml/hari}$$

Untuk 1 tikus perhari

$$383.01 \text{ ml} : 3.4 = 112.65 \text{ ml (8 ekor)}$$

$$131.5 \text{ ml} : (8 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}) = 1.4 \text{ ml/ekor/hari}$$

Dijadikan 2 ml → di tambah 0.6 ml air

Untuk 10 ekor per 8 hari

$$112.65 \text{ ml} + 60 \text{ ml air} = 160.65 \text{ ml}$$



LAMPIRAN 4

Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel

Kelompok	Jumlah Sel Endotel		Standar Deviasi	
N	24	30,5	11,21011448	11,21
N	23			
N	47			
N	28			
N + O4	22	29,25	8,808140174	8,81
N + O4	23			
N + O4	31			
N + O4	41			
N + G	24	28,5	3,415650255	3,42
N + G	30			
N + G	32			
N + G	28			
A2O4(-)G	20	17	2,581988897	2,58
A2O4(-)G	18			
A2O4(-)G	16			
A2O4(-)G	14			
A2O4(+)G	22	30,25	13,52466882	13,52
A2O4(+)G	21			
A2O4(+)G	28			
A2O4(+)G	50			
A3O4(-)G	20	16,25	4,5	4,50
A3O4(-)G	19			
A3O4(-)G	10			
A3O4(-)G	16			
A3O4(+)G	18	29,75	13,47528602	13,48
A3O4(+)G	49			
A3O4(+)G	28			
A3O4(+)G	24			
A4O4(-)G	11	12,75	3,862210075	3,86
A4O4(-)G	9			
A4O4(-)G	18			
A4O4(-)G	13			
A4O4(+)G	33	29,5	6,244997998	6,24
A4O4(+)G	36			
A4O4(+)G	27			
A4O4(+)G	22			

LAMPIRAN 5

Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Arteri

Kelompok	Ketebalan dinding arteri			Standar Deviasi	
N	31,89	36,0175	36,02	4,665200067	4,67
N	32,29				
N	38,62				
N	41,27				
N + O4	34,27	37,475	37,48	4,481789077	4,48
N + O4	39,42				
N + O4	33,34				
N + O4	42,87				
N + G	34,36	30,95	30,95	2,420344328	2,42
N + G	30,35				
N + G	30,45				
N + G	28,64				
A2O4(-)G	68,38	61,9525	61,95	9,139447011	9,14
A2O4(-)G	64,71				
A2O4(-)G	66,29				
A2O4(-)G	48,43				
A2O4(+)G	47,83	41,385	41,39	5,532006869	5,53
A2O4(+)G	40,5				
A2O4(+)G	34,48				
A2O4(+)G	42,73				
A3O4(-)G	55,96	58,1225	58,12	2,395069588	2,40
A3O4(-)G	61,35				
A3O4(-)G	58,47				
A3O4(-)G	56,71				
A3O4(+)G	41,99	41,775	41,78	5,082797786	5,08
A3O4(+)G	38,68				
A3O4(+)G	48,86				
A3O4(+)G	37,57				
A4O4(-)G	69,57	72,04	72,04	3,589196753	3,59
A4O4(-)G	74,9				
A4O4(-)G	75,33				
A4O4(-)G	68,36				
A4O4(+)G	55,52	45,2625	45,26	7,192933454	7,19
A4O4(+)G	42,36				
A4O4(+)G	44,28				
A4O4(+)G	38,89				

LAMPIRAN 6

Analisis Data Jumlah Sel Endotel

Uji Normalitas

Tests of Normality

Jumlah Sel Endotel

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Jumlah Sel Endotel	N	.781	4	.072
	N + O4	.890	4	.381
	N + G	.960	4	.776
	A2O4(-)G	.993	4	.972
	A2O4(+)G	.798	4	.099
	A3O4(-)G	.895	4	.404
	A3O4(+)G	.886	4	.365
	A4O4(-)G	.949	4	.712
	A4O4(+)G	.964	4	.804

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Sel Endotel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.930	8	27	.096

Uji OneWay ANOVA

ANOVA

Jumlah Sel Endotel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1688.130	8	211.016	2.875	.019
Within Groups	1981.892	27	73.403		
Total	3670.022	35			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Jumlah Sel Endotel

LSD

(I) Kelompok Perlakuan dan Kontrol	(J) Kelompok Perlakuan dan Kontrol	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N	N + O4	1.250	6.058	.838	-11.18	13.68
	N + G	1.913	6.058	.755	-10.52	14.34
	A2O4(-)G	13.500*	6.058	.034	1.07	25.93
	A2O4(+)G	.250	6.058	.967	-12.18	12.68
	A3O4(-)G	14.250*	6.058	.026	1.82	26.68
	A3O4(+)G	.750	6.058	.902	-11.68	13.18
	A4O4(-)G	17.750*	6.058	.007	5.32	30.18
	A4O4(+)G	1.000	6.058	.870	-11.43	13.43
N + O4	N	-1.250	6.058	.838	-13.68	11.18
	N + G	.663	6.058	.914	-11.77	13.09
	A2O4(-)G	12.250	6.058	.053	-.18	24.68
	A2O4(+)G	-1.000	6.058	.870	-13.43	11.43
	A3O4(-)G	13.000*	6.058	.041	.57	25.43
	A3O4(+)G	-.500	6.058	.935	-12.93	11.93
	A4O4(-)G	16.500*	6.058	.011	4.07	28.93
	A4O4(+)G	-.250	6.058	.967	-12.68	12.18
N + G	N	-1.913	6.058	.755	-14.34	10.52
	N + O4	-.663	6.058	.914	-13.09	11.77
	A2O4(-)G	11.587	6.058	.066	-.84	24.02
	A2O4(+)G	-1.663	6.058	.786	-14.09	10.77
	A3O4(-)G	12.337	6.058	.052	-.09	24.77
	A3O4(+)G	-1.163	6.058	.849	-13.59	11.27
	A4O4(-)G	15.837*	6.058	.014	3.41	28.27
	A4O4(+)G	-.913	6.058	.881	-13.34	11.52

A2O4(-)G	N	-13.500*	6.058	.034	-25.93	-1.07
	N + O4	-12.250	6.058	.053	-24.68	.18
	N + G	-11.587	6.058	.066	-24.02	.84
	A2O4(+)G	-13.250*	6.058	.038	-25.68	-.82
	A3O4(-)G	.750	6.058	.902	-11.68	13.18
	A3O4(+)G	-12.750*	6.058	.045	-25.18	-.32
	A4O4(-)G	4.250	6.058	.489	-8.18	16.68
	A4O4(+)G	-12.500*	6.058	.049	-24.93	-.07
A2O4(+)G	N	-.250	6.058	.967	-12.68	12.18
	N + O4	1.000	6.058	.870	-11.43	13.43
	N + G	1.663	6.058	.786	-10.77	14.09
	A2O4(-)G	13.250*	6.058	.038	.82	25.68
	A3O4(-)G	14.000*	6.058	.029	1.57	26.43
	A3O4(+)G	.500	6.058	.935	-11.93	12.93
	A4O4(-)G	17.500*	6.058	.008	5.07	29.93
	A4O4(+)G	.750	6.058	.902	-11.68	13.18
A3O4(-)G	N	-14.250*	6.058	.026	-26.68	-1.82
	N + O4	-13.000*	6.058	.041	-25.43	-.57
	N + G	-12.337	6.058	.052	-24.77	.09
	A2O4(-)G	-.750	6.058	.902	-13.18	11.68
	A2O4(+)G	-14.000*	6.058	.029	-26.43	-1.57
	A3O4(+)G	-13.500*	6.058	.034	-25.93	-1.07
	A4O4(-)G	3.500	6.058	.568	-8.93	15.93
	A4O4(+)G	-13.250*	6.058	.038	-25.68	-.82
A3O4(+)G	N	-.750	6.058	.902	-13.18	11.68
	N + O4	.500	6.058	.935	-11.93	12.93
	N + G	1.163	6.058	.849	-11.27	13.59
	A2O4(-)G	12.750*	6.058	.045	.32	25.18
	A2O4(+)G	-.500	6.058	.935	-12.93	11.93
	A3O4(-)G	13.500*	6.058	.034	1.07	25.93
	A4O4(-)G	17.000*	6.058	.009	4.57	29.43
	A4O4(+)G	.250	6.058	.967	-12.18	12.68

A4O4(-)G	N	-17.750*	6.058	.007	-30.18	-5.32
	N + O4	-16.500*	6.058	.011	-28.93	-4.07
	N + G	-15.837*	6.058	.014	-28.27	-3.41
	A2O4(-)G	-4.250	6.058	.489	-16.68	8.18
	A2O4(+)G	-17.500*	6.058	.008	-29.93	-5.07
	A3O4(-)G	-3.500	6.058	.568	-15.93	8.93
	A3O4(+)G	-17.000*	6.058	.009	-29.43	-4.57
	A4O4(+)G	-16.750*	6.058	.010	-29.18	-4.32
A4O4(+)G	N	-1.000	6.058	.870	-13.43	11.43
	N + O4	.250	6.058	.967	-12.18	12.68
	N + G	.913	6.058	.881	-11.52	13.34
	A2O4(-)G	12.500*	6.058	.049	.07	24.93
	A2O4(+)G	-.750	6.058	.902	-13.18	11.68
	A3O4(-)G	13.250*	6.058	.038	.82	25.68
	A3O4(+)G	-.250	6.058	.967	-12.68	12.18
	A4O4(-)G	16.750*	6.058	.010	4.32	29.18

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



LAMPIRAN 7

Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel

Perbandingan antar kelompok		Nilai p	Arti
N	N + O ₄	0.838	Perbedaan turun tidak bermakna
	N + G	0.755	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.034	Perbedaan turun bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.967	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.026	Perbedaan turun bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.902	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.007	Perbedaan turun bermakna
N + O ₄	A ₄ O ₄ (+)G	0.870	Perbedaan turun tidak bermakna
	N + G	0.914	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.053	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.870	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.041	Perbedaan turun bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.935	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.011	Perbedaan turun bermakna
N + G	A ₄ O ₄ (+)G	0.967	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.066	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.786	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.052	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.849	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.014	Perbedaan turun bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.881	Perbedaan naik tidak bermakna
A ₂ O ₄ (-)G	A ₂ O ₄ (+)G	0.038	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.902	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.045	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.489	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.049	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.029	Perbedaan turun bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.935	Perbedaan turun tidak bermakna
A ₂ O ₄ (+)G	A ₄ O ₄ (-)G	0.008	Perbedaan turun bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.902	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.034	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.568	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.038	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.009	Perbedaan turun bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.967	Perbedaan turun tidak bermakna
A ₄ O ₄ (-)G	A ₄ O ₄ (+)G	0.010	Perbedaan naik bermakna

LAMPIRAN 8

Analisis Data Ketebalan Dinding Arteri

Uji Normalitas

Tests of Normality

Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N	.861	4	.265
	N + O4	.910	4	.484
	N + G	.887	4	.369
	A2O4(-)G	.779	4	.070
	A2O4(+)G	.993	4	.970
	A3O4(-)G	.928	4	.585
	A3O4(+)G	.891	4	.388
	A4O4(-)G	.834	4	.178
	A4O4(+)G	.889	4	.380

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.357	8	27	.259

Uji OneWay ANOVA

ANOVA

Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6018.578	8	752.322	26.240	.000
Within Groups	774.099	27	28.670		
Total	6792.677	35			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)

LSD

(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
N	N + O4	-1.45750	3.78618	.703	-9.2261	6.3111
	N + G	5.06750	3.78618	.192	-2.7011	12.8361
	A2O4(-)G	-25.93500*	3.78618	.000	-33.7036	-18.1664
	A2O4(+)G	-5.36750	3.78618	.168	-13.1361	2.4011
	A3O4(-)G	-22.10500*	3.78618	.000	-29.8736	-14.3364
	A3O4(+)G	-5.75750	3.78618	.140	-13.5261	2.0111
	A4O4(-)G	-36.02250*	3.78618	.000	-43.7911	-28.2539
	A4O4(+)G	-9.24500*	3.78618	.021	-17.0136	-1.4764
N + O4	N	1.45750	3.78618	.703	-6.3111	9.2261
	N + G	6.52500	3.78618	.096	-1.2436	14.2936
	A2O4(-)G	-24.47750*	3.78618	.000	-32.2461	-16.7089
	A2O4(+)G	-3.91000	3.78618	.311	-11.6786	3.8586
	A3O4(-)G	-20.64750*	3.78618	.000	-28.4161	-12.8789
	A3O4(+)G	-4.30000	3.78618	.266	-12.0686	3.4686
	A4O4(-)G	-34.56500*	3.78618	.000	-42.3336	-26.7964
	A4O4(+)G	-7.78750*	3.78618	.049	-15.5561	-.0189
N + G	N	-5.06750	3.78618	.192	-12.8361	2.7011
	N + O4	-6.52500	3.78618	.096	-14.2936	1.2436
	A2O4(-)G	-31.00250*	3.78618	.000	-38.7711	-23.2339
	A2O4(+)G	-10.43500*	3.78618	.010	-18.2036	-2.6664
	A3O4(-)G	-27.17250*	3.78618	.000	-34.9411	-19.4039
	A3O4(+)G	-10.82500*	3.78618	.008	-18.5936	-3.0564
	A4O4(-)G	-41.09000*	3.78618	.000	-48.8586	-33.3214
	A4O4(+)G	-14.31250*	3.78618	.001	-22.0811	-6.5439

A2O4(-)G	N	25.93500*	3.78618	.000	18.1664	33.7036
	N + O4	24.47750*	3.78618	.000	16.7089	32.2461
	N + G	31.00250*	3.78618	.000	23.2339	38.7711
	A2O4(+)G	20.56750*	3.78618	.000	12.7989	28.3361
	A3O4(-)G	3.83000	3.78618	.321	-3.9386	11.5986
	A3O4(+)G	20.17750*	3.78618	.000	12.4089	27.9461
	A4O4(-)G	-10.08750*	3.78618	.013	-17.8561	-2.3189
	A4O4(+)G	16.69000*	3.78618	.000	8.9214	24.4586
A2O4(+)G	N	5.36750	3.78618	.168	-2.4011	13.1361
	N + O4	3.91000	3.78618	.311	-3.8586	11.6786
	N + G	10.43500*	3.78618	.010	2.6664	18.2036
	A2O4(-)G	-20.56750*	3.78618	.000	-28.3361	-12.7989
	A3O4(-)G	-16.73750*	3.78618	.000	-24.5061	-8.9689
	A3O4(+)G	-.39000	3.78618	.919	-8.1586	7.3786
	A4O4(-)G	-30.65500*	3.78618	.000	-38.4236	-22.8864
	A4O4(+)G	-3.87750	3.78618	.315	-11.6461	3.8911
A3O4(-)G	N	22.10500*	3.78618	.000	14.3364	29.8736
	N + O4	20.64750*	3.78618	.000	12.8789	28.4161
	N + G	27.17250*	3.78618	.000	19.4039	34.9411
	A2O4(-)G	-3.83000	3.78618	.321	-11.5986	3.9386
	A2O4(+)G	16.73750*	3.78618	.000	8.9689	24.5061
	A3O4(+)G	16.34750*	3.78618	.000	8.5789	24.1161
	A4O4(-)G	-13.91750*	3.78618	.001	-21.6861	-6.1489
	A4O4(+)G	12.86000*	3.78618	.002	5.0914	20.6286
A3O4(+)G	N	5.75750	3.78618	.140	-2.0111	13.5261
	N + O4	4.30000	3.78618	.266	-3.4686	12.0686
	N + G	10.82500*	3.78618	.008	3.0564	18.5936
	A2O4(-)G	-20.17750*	3.78618	.000	-27.9461	-12.4089
	A2O4(+)G	.39000	3.78618	.919	-7.3786	8.1586
	A3O4(-)G	-16.34750*	3.78618	.000	-24.1161	-8.5789
	A4O4(-)G	-30.26500*	3.78618	.000	-38.0336	-22.4964
	A4O4(+)G	-3.48750	3.78618	.365	-11.2561	4.2811

A4O4(-)G	N	36.02250*	3.78618	.000	28.2539	43.7911
	N + O4	34.56500*	3.78618	.000	26.7964	42.3336
	N + G	41.09000*	3.78618	.000	33.3214	48.8586
	A2O4(-)G	10.08750*	3.78618	.013	2.3189	17.8561
	A2O4(+)G	30.65500*	3.78618	.000	22.8864	38.4236
	A3O4(-)G	13.91750*	3.78618	.001	6.1489	21.6861
	A3O4(+)G	30.26500*	3.78618	.000	22.4964	38.0336
	A4O4(+)G	26.77750*	3.78618	.000	19.0089	34.5461
A4O4(+)G	N	9.24500*	3.78618	.021	1.4764	17.0136
	N + O4	7.78750*	3.78618	.049	.0189	15.5561
	N + G	14.31250*	3.78618	.001	6.5439	22.0811
	A2O4(-)G	-16.69000*	3.78618	.000	-24.4586	-8.9214
	A2O4(+)G	3.87750	3.78618	.315	-3.8911	11.6461
	A3O4(-)G	-12.86000*	3.78618	.002	-20.6286	-5.0914
	A3O4(+)G	3.48750	3.78618	.365	-4.2811	11.2561
	A4O4(-)G	-26.77750*	3.78618	.000	-34.5461	-19.0089

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



LAMPIRAN 9

Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Arteri

Perbandingan antar kelompok		Nilai p	Arti
N	N + O ₄	0.703	Perbedaan naik tidak bermakna
	N + G	0.193	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.168	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.140	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Perbedaan naik bermakna
N + O ₄	N + G	0.096	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.311	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.266	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.049	Perbedaan naik bermakna
N + G	A ₂ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.010	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.008	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.001	Perbedaan naik bermakna
A ₂ O ₄ (-)G	A ₂ O ₄ (+)G	0.000	Perbedaan turun bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.321	Perbedaan turun tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.000	Perbedaan turun bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.013	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.000	Perbedaan turun bermakna
A ₂ O ₄ (+)G	A ₃ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.919	Perbedaan naik tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.315	Perbedaan naik tidak bermakna
A ₃ O ₄ (-)G	A ₃ O ₄ (+)G	0.000	Perbedaan turun bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.001	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.002	Perbedaan turun bermakna
A ₃ O ₄ (+)G	A ₄ O ₄ (-)G	0.000	Perbedaan naik bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.365	Perbedaan naik tidak bermakna
A ₄ O ₄ (-)G	A ₄ O ₄ (+)G	0.000	Perbedaan turun bermakna

