

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Diabetes melitus (DM) tipe 2 merupakan salah faktor resiko aterosklerosis. Penderita DM tipe 2 memiliki tingkat kolesterol dan kadar lipid yang tinggi dalam sirkulasi darah. Kolesterol dan lipid yang tinggi memicu disfungsi dari endotel. Hal ini disebabkan kolesterol dan lipid yang tinggi akan disimpan dalam jaringan adiposa. Jaringan adiposa merupakan lokasi dimana terbentuknya sitokin-sitokin proinflamasi. Semakin tinggi kadar kolesterol dan lipid semakin tinggi produksi sitokin-sitokin proinflamasi, sehingga semakin tinggi kerusakan dan disfungsi endotel yang terjadi. Disfungsi endotel memicu terbentuknya plak aterosklerosis (Gustrafson, 2010).

Plak aterosklerosis merupakan karakteristik patologi dari terjadinya proses aterosklerosis. Plak aterosklerosis terdiri atas jaringan fibrosa, lipid, dan marker inflamasi. Pada gambaran histopatologi, tanda awal terbentuknya plak aterosklerosis adalah ditemukannya hipertrofi otot-otot vaskular. Hipertrofi otot-otot vaskular yang terjadi disebabkan oleh disfungsi endotel akibat marker inflamasi. Marker inflamasi yang dihasilkan akibat proses aterosklerosis menyebabkan penumpukan debris dan jaringan nekrotik di lapisan otot pembuluh darah terutama tunika intima media. Akibat proses penumpukan ini menyebabkan ketebalan tunika intima media pembuluh darah mengalami penebalan. Penambahan tebal tunika intima media pembuluh darah ini disebabkan oleh berproliferasinya sel-sel otot vaskular. Apabila sistem homeostasis tubuh masih cukup bagus, penambahan tebal tunika intima media pembuluh darah terjadi ke arah luar dan disertai penambahan diameter dari

pembuluh darah tersebut. Namun apabila sistem homeostasis sudah tidak mampu mempertahankan kondisi ini maka penebalan tunika intima media pembuluh darah akan terus terjadi namun tanpa diiringi penambahan diameter tunika intima media pembuluh darah. Tanpa penambahan diameter tunika intima media pembuluh darah ini menyebabkan terjadinya penyempitan diameter lumen. Semakin lama proses aterosklerosis yang terjadi, semakin tebal penebalan tunika intima media pembuluh darah yang mengalami perubahan struktur jaringan (Mackay *et al*, 2001).

Peningkatan ketebalan tunika intima-media disebabkan oleh proses stres oksidatif. Stres oksidatif mampu mempengaruhi sel-sel otot polos pembuluh darah untuk berproliferasi berlebihan sehingga terjadi peningkatan ketebalan tunika intima-media dinding pembuluh darah (Mackay *et al*, 2001). Selain menyebabkan proliferasi sel-sel otot polos pembuluh darah, stres oksidatif berperan juga mengakibatkan dislipidemia. Dislipidemia dapat menyebabkan resistensi insulin akibat ketidakmampuan pankreas untuk mengkompensasi hiperglikemia yang terjadi dalam jangka waktu yang lama. Resistensi insulin yang terjadi terus menerus menyebabkan terjadinya disfungsi endotel dan inflamasi. Inflamasi menyebabkan sitokin proinflamasi lepas dan beredar di pembuluh darah (Ohira *et al*, 2011). Hal ini menyebabkan akumulasi monosit dan makrofag di tempat terjadinya lesi endotel (Matsumura *et al*, 2013). Apabila hal ini terjadi terus menerus akan menyebabkan debris dan lipid juga akan terakumulasi sehingga akan membentuk plak aterosklerosis (Hellings, *et al* 2010).

Diagnosa penyakit metabolik DM tipe 2 ditandai oleh meningkatnya kadar glukosa darah hingga >200 mg/dL dan resistensi insulin yang terjadi. Dalam penelitian ini hewan coba pada kelompok DM, DM+PSP50, DM+PSP150, dan



DM+PSP300 dapat dipastikan mengalami DM tipe 2. Hal ini tampak pada hasil tes glukosa darah tikus selama 5x berturut-turut  $>200$  mg/dL dan memiliki resistensi insulin dihitung menggunakan formula *Insulin Sensitivity Index* menggunakan kadar glukosa plasma puasa dan kadar insulin plasma tikus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh PSP yang berasal dari *Ganoderma lucidum* terhadap ketebalan tunika intima-media tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang dipapar diet tinggi lemak dan induksi STZ. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni pada hewan coba tikus Wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok DM, kelompok perlakuan DM+PSP50 (50mg/kgbb/hari), kelompok perlakuan DM+PSP150 (150kgbb/hari) dan kelompok perlakuan DM+PSP300 (300kgbb/hari).

Sistematika hasil pembahasan dibagi menjadi pembahasan mengenai pengukuran tebal tunika intima media pembuluh darah pada kelompok normal, kelompok DM, kelompok perlakuan dan perbedaan tiap kelompok.

### **6.1 Pengukuran Tebal Tunika Intima Media Pembuluh Darah Pada Kelompok Normal**

Kelompok tikus normal merupakan kontrol negatif pada penelitian ini dimana perlakuan yang diberikan hanya berupa pakan normal saja. Intake pakan rata-rata pada kelompok normal cenderung meningkat. Terlihat pada rata-rata besaran nilai intake pakan pada bulan pertama sebesar 25.90 mg, pada bulan kedua sebesar 26.22 mg, dan pada bulan ketiga sebesar 26.49 mg. Rata-rata berat badan tikus kelompok normal setiap bulannya cenderung meningkat dengan besaran nilai 108 gram pada bulan pertama, 175.28 gram pada bulan kedua dan 261.11 gram pada bulan ketiga. Hal ini mengindikasikan bahwa pada

kelompok normal memiliki pola makan yang normal dengan peningkatan berat badan seiring dengan peningkatan intake pakan.

Pada kelompok normal memiliki rata-rata tebal tunika intima media pembuluh darah sebesar  $70.4528 \pm 4.67152 \mu\text{m}$ . Analisa statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0.05$ ) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok DM sebagai kontrol positif. Hal ini disebabkan karena tikus pada kelompok kontrol diberikan diet normal, dengan kata lain tidak diberikan diet tinggi lemak, sehingga proses aterosklerosis terjadi minimal.

Pada kelompok normal tetap terbentuk penebalan tunika intima media pembuluh darah dengan luas yang lebih kecil dari kelompok lain. Hal ini disebabkan pada tikus dengan pakan normal tetap didapatkan penebalan tunika intima media pembuluh darah. Pada manusia, lesi aterosklerosis yang memicu terbentuknya *foam cell*, berasal dari derivat *vascular smooth muscle cells* (VSMC) atau biasa disebut sel-sel otot pembuluh darah dan juga makrofag. Sel-sel otot pembuluh darah merupakan sel yang paling poten memicu terbentuknya *fatty streak* di aorta. Studi menggunakan mikroskop elektron menyebutkan bahwa *fatty streak* yang terbentuk disebabkan oleh terpenuhinya sel-sel otot pembuluh darah dengan lipid, walaupun makrofag dan *extracellular space* tidak mengandung lipid sama sekali. Lesi aterosklerosis pada manusia sudah mulai terbentuk secara fisiologis dalam jaringan tubuh. Kondisi lesi aterosklerosis tiap orang berbeda-beda tergantung faktor resiko yang dimiliki seperti obesitas, stres, merokok, dan kurangnya aktivitas. Genotip sendiri memiliki pengaruh yang cukup signifikan dalam peranannya membentuk lesi aterosklerosis seperti tingkat HDL, LDL, tekanan darah dan adipositas (Anderson *et al*, 2012).



Bertambahnya usia atau proses penuaan juga memiliki peran penting dalam peningkatan ketebalan tunika-intima media dinding pembuluh darah. Hal ini dikarenakan oleh seiring bertambahnya usia, radikal bebas semakin mudah terbentuk. Akibatnya frekuensi terjadinya stres oksidatif dalam tubuh semakin tinggi, sehingga proliferasi sel-sel otot polos pembuluh darah semakin mudah terjadi dan mengalami peningkatan ketebalan tunika intima-media (Ohira *et al*, 2011).

## **6.2 Pengukuran Tebal Tunika Intima-Media Pembuluh Darah Pada Kelompok Diabetes Melitus Tipe 2**

Proses pembuatan tikus model Diabetes melitus tipe 2 dilakukan dengan cara pemberian *High Fat Diet* (HFD) dan induksi STZ *low dose*. HFD diberikan pada kelompok tikus kontrol postif (DM). Induksi streptozotcin (STZ) juga berperan dalam pembuatan model DM tipe 2. STZ diinduksi pada kelompok tikus DM dengan cara *single injection* peritoneal dengan dosis 100mg/kgBB. Pemberian dosis STZ disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus. Menurut Prasad *et al* (2009), induksi STZ menimbulkan nekrosis pada sel beta pankreas sehingga menimbulkan resistensi insulin dan hiperglikemia.

Pengaruh pemberian HFD dan induksi STZ *low dose* mampu menghasilkan resistensi insulin pada hewan coba dilihat dari hasil pengukuran glukosa darah 5 kali berturut-turut menghasilkan kadar glukosa darah di >200mg/dL, kadar insulin plasma, dan penghitungan resistensi insulin menggunakan formula *Insulin Sensitivity Index*, sehingga dapat dipastikan tikus pada kelompok DM mengalami DM tipe 2.

Pemberian STZ pada penelitian ini dimaksudkan untuk menginduksi kerusakan sel beta pankreas. Menurut Prasad *et al* (2009), pemberian STZ

bekerja selektif pada sel beta pankreas dan memicu terjadinya nekrosis secara irreversibel. Pemberian STZ ditambahkan dalam penelitian ini untuk memicu terjadinya resistensi insulin dalam waktu singkat. Hal ini disebabkan oleh pakan tinggi lemak mampu menyebabkan resistensi insulin dalam waktu yang lebih lama, sehingga diperlukan STZ untuk memicu kerusakan sel beta pankreas dan dapat dipastikan terjadinya resistensi insulin. Dalam penelitian Srinivasan *et al* (2005) menyebutkan bahwa dengan pemberian high fat diet dapat menimbulkan resistensi insulin dalam hitungan bulan. High fat diet dapat menyebabkan terjadinya resistensi insulin melalui siklus metabolisme glukosa-asam lemak sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama daripada injeksi STZ.

Rata-rata intake pakan pada kelompok DM juga mengalami peningkatan. Rata-rata intake pakan pada kelompok DM dilihat dari rata-rata intake pakan tiap bulan. Pada bulan pertama rata-rata intake pakan tikus kelompok DM sebesar 21.58 mg, pada bulan kedua sebesar 23.03 mg, dan bulan ketiga sebesar 29.03 mg. Intake pakan tikus kelompok DM cenderung meningkat setiap bulannya. Rata-rata berat badan kelompok DM setiap bulan mengalami peningkatan. Pada bulan pertama rata-rata berat badan tikus sebesar 111.43 gram, pada bulan kedua sebesar 188.65 gram, dan pada bulan ketiga sebesar 283.00 gram. Dalam rentang waktu penelitian didapatkan hasil kecenderungan terjadinya peningkatan berat badan tikus. Peningkatan berat badan tikus disebabkan oleh pakan tinggi lemak yang memicu kondisi hiperglikemia. Hal ini sesuai dengan pernyataan Srinivasan, *et al* (2007) bahwa pemberian diet tinggi lemak mampu menyebabkan hiperglikemia pada tikus sehingga menimbulkan resistensi insulin yang ditandai dengan peningkatan berat badan.



Selain peranan pakan tinggi lemak atau HFD, STZ juga memiliki peranan penting dalam menginduksi terjadinya hiperglikemia. STZ merusak sel beta pankreas pada tikus sehingga menimbulkan kondisi resistensi insulin. Berdasarkan hasil penelitian Jia *et al* (2008) STZ mampu memicu terjadinya endogenous stress oksidatif melalui peningkatan lipid peroksidasi dan penurunan level antioksidan enzimatis pada organ tubuh tikus.

Pada kelompok tikus kontrol DM dengan HFD tanpa pemberian peptida polisakarida rata-rata tebal tunika intima media pembuluh darah  $92.5865 \pm 6.82964 \mu\text{m}$ . Rentang tebal tunika intima media pembuluh darah pada kelompok DM berkisar antara  $76.51 \mu\text{m}$  hingga  $108.48 \mu\text{m}$ . Analisa statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ( $P < 0.05$ ) antara kelompok DM dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini terjadi dikarenakan pemberian diet tinggi lemak yang mengandung kolesterol dan minyak babi mampu meningkatkan serum kolesterol dalam darah dan menjaga kestabilan kolesterol dalam darah sehingga menginduksi terjadinya dislipidemia. Dislipidemia mampu memicu penebalan tunika intima media pembuluh darah.

Penebalan tunika intima media pembuluh darah yang terjadi disebabkan oleh adanya proliferasi sel-sel otot pembuluh darah di tunika intima dan media. Adanya proliferasi sel-sel otot pembuluh darah menjadi tanda awal dimulainya pembentukan plak aterosklerosis. Kondisi ini diakibatkan oleh adanya resistensi insulin pada jaringan tubuh tikus. Resistensi insulin mengakibatkan tingginya kadar glukosa dalam darah. Keadaan ini menyebabkan timbulnya kerusakan endotel dan memicu proliferasi dari sel-sel otot pembuluh darah yang dijumpai oleh faktor-faktor proinflamasi. Hal ini berkaitan dengan pendapat Libby *et al*

(2010) dimana menyebutkan bahwa resistensi insulin mampu meningkatkan kadar glukosa dan konsentrasi lipid yang tinggi dalam sirkulasi.

Kadar glukosa yang tinggi dinilai mampu menyebabkan kerusakan jaringan terutama endotel. Hal ini berkaitan dengan tingginya kadar glukosa yang melebihi kapasitas yang diperlukan otot sebagai sumber energi, sehingga glukosa tersebut akan ditemukan lebih banyak di darah. Kompensasi homeostasis dalam tubuh yang timbul, sel B pankreas bekerja keras menurunkan kadar gula darah, dalam jangka panjang kemampuan pankreas menghasilkan insulin akan menurun, sehingga terjadi resistensi insulin. Konsentrasi lipid yang tinggi dapat memicu simpanan lipid di jaringan adiposa yang semakin tinggi, akibat lebih lanjut adalah faktor-faktor proinflamasi mudah diproduksi dan apabila ada kerusakan endotel mudah melekat, sehingga terjadi kloting fibrinogen yang dalam jangka panjang menimbulkan plak aterosklerosis (Libby *et al*, 2010).

Pemberian HFD dan induksi STZ pada tikus kelompok DM menyebabkan timbulnya resistensi insulin. Resistensi insulin akan berkembang menjadi dislipidemia dalam jangka waktu yang lama. Dislipidemia dapat menyebabkan peningkatan ROS dan kerusakan struktur endotel. Disfungsi endotel memudahkan terjadinya infiltrasi LDL ke subendotel. Dislipidemia juga berdampak tingginya konsentrasi LDL dalam plasma darah sehingga reseptor hepatosit dan membran sel yang mampu mengikat LDL jumlahnya tidak mencukupi. LDL yang terinfiltrasi mengalami proses oksidasi menjadi Ox-LDL. Makrofag yang memfagosit Ox-LDL akan menjadi *foam cell*. Akibatnya terjadi proses inflamasi pada lesi tersebut. Terbentuknya lesi di dinding endotel tersebut menyebabkan lepasnya sitokin-sitokin proinflamasi. Proses inflamasi ini



menyebabkan penumpukan monosit, makrofag, lipid, dan debris di dinding pembuluh darah dan rilisnya *growth factor* sel otot polos sehingga menambah ketebalan tunika intima-media (Srinivasan *et al*, 2005). Tanpa adanya PSP yang diberikan pada tikus kelompok perlakuan DM menyebabkan stres oksidatif berlangsung terus-menerus tanpa ada yang menekan pembentukan plak aterosklerosis, sehingga subjek kelompok perlakuan DM memiliki tingkat rata-rata tebal tunika intima-media yang paling tinggi.

### **6.3 Pengukuran Tebal Tunika Intima-Media Pembuluh Darah Pada Kelompok Diabetes Melitus Tipe 2 dan Terapi Peptida Polisakarida**

Proses pembuatan tikus model Diabetes melitus tipe 2 dilakukan dengan cara pemberian *High Fat Diet* (HFD) dan induksi streptozotocin (STZ) *low dose*. HFD diberikan pada kelompok tikus DM+PSP50, DM+PSP150 dan DM+PSP300. Sama halnya dengan pembuatan tikus model DM tipe 2 pada kelompok tikus normal, induksi STZ berperan dalam pembuatan model DM tipe 2. STZ diinduksi pada kelompok tikus DM dengan cara *single injection* peritoneal dengan dosis 100mg/kgBB. Pemberian dosis STZ disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus. Pengaruh pemberian HFD dan induksi STZ *low dose* mampu menghasilkan resistensi insulin pada hewan coba dilihat dari hasil pengukuran glukosa darah 5 kali berturut-turut menghasilkan kadar glukosa darah di >200mg/dL, kadar insulin plasma, dan penghitungan resistensi insulin menggunakan formula *Insulin Sensitivity Index*, sehingga dapat dipastikan tikus pada kelompok DM+PSP50, DM+PSP150 dan DM+PSP300 mengalami DM tipe 2.

PSP diberikan selama 4 minggu pada akhir penelitian yakni pada minggu kesembilan hingga minggu keduabelas. PSP diberikan melalui sonde sesuai

dosis perlakuan yang ditetapkan setiap harinya. DM+PSP50 merupakan kelompok dengan perlakuan pemberian pakan tinggi lemak, induksi STZ dan terapi PSP dengan dosis 50mg/kgBB/hari. DM+PSP150 merupakan kelompok dengan perlakuan pemberian pakan tinggi lemak, induksi STZ dan terapi PSP dengan dosis 150mg/kgBB/hari. Terakhir, DM+PSP300 merupakan kelompok dengan perlakuan pemerian pakan tinggi lemak, induksi STZ dan terapi PSP dengan dosis 300mg/kgBB/hari.

Rata-rata intake pakan pada kelompok DM+PSP50 juga mengalami peningkatan. Rata-rata intake pakan pada kelompok DM+PSP50 dilihat dari rata-rata intake pakan tiap bulan. Pada bulan pertama rata-rata intake pakan tikus kelompok DM+PSP50 sebesar 20.51 mg, pada bulan kedua sebesar 28.00 mg, dan bulan ketiga sebesar 29.59 mg. Intake pakan tikus kelompok DM+PSP50 cenderung meningkat setiap bulannya. Rata-rata berat badan kelompok DM+PSP50 setiap bulan mengalami peningkatan. Pada bulan pertama dengan perlakuan pemberian HFD saja, rata-rata berat badan tikus sebesar 104.29 gram, pada bulan kedua dengan perlakuan masih dengan pemberian HFD saja sebesar 194.37 gram, dan pada bulan ketiga dimana PSP diberikan sesuai dosis yang ditentukan memiliki rata-rata berat badan sebesar 282.00 gram.

Rata-rata intake pakan pada kelompok DM+PSP150 juga mengalami peningkatan. Rata-rata intake pakan pada kelompok DM+PSP150 dilihat dari rata-rata intake pakan tiap bulan. Pada bulan pertama rata-rata intake pakan tikus kelompok DM+PSP150 sebesar 21.75 mg, pada bulan kedua sebesar 24.55 mg, dan bulan ketiga sebesar 29.59 mg. Intake pakan tikus kelompok DM+PSP50 cenderung meningkat setiap bulannya. Rata-rata berat badan kelompok DM+PSP150 setiap bulan mengalami peningkatan. Pada bulan



pertama dengan perlakuan pemberian HFD saja, rata-rata berat badan tikus sebesar 98.57 gram, pada bulan kedua dengan perlakuan masih dengan pemberian HFD saja sebesar 196.83 gram, dan pada bulan ketiga dimana PSP diberikan sesuai dosis yang ditentukan memiliki rata-rata berat badan sebesar 277.17 gram.

Rata-rata intake pakan pada kelompok DM+PSP300 juga mengalami peningkatan. Rata-rata intake pakan pada kelompok DM+PSP300 dilihat dari rata-rata intake pakan tiap bulan. Pada bulan pertama rata-rata intake pakan tikus kelompok DM+PSP300 sebesar 19.57 mg, pada bulan kedua sebesar 22.38 mg, dan bulan ketiga sebesar 28.06 mg. Intake pakan tikus kelompok DM+PSP50 cenderung meningkat setiap bulannya. Rata-rata berat badan kelompok DM+PSP300 setiap bulan juga mengalami peningkatan. Pada bulan pertama dengan perlakuan pemberian HFD saja, rata-rata berat badan tikus sebesar 97.14 gram, pada bulan kedua dengan perlakuan masih dengan pemberian HFD saja sebesar 166.27 gram, dan pada bulan ketiga dimana PSP diberikan sesuai dosis yang ditentukan memiliki rata-rata berat badan sebesar 244.44 gram.

Pemberian PSP *Ganoderma lucidum* terbukti dapat menurunkan ketebalan tunika intima-media pada kelompok DM+PSP50, DM+PSP150 dan DM+PSP300. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 5.1 dimana terdapat kecenderungan penurunan tebal tunika intima media pembuluh darah seiring dengan penambahan dosis PSP. Kelompok DM dengan pemberian PSP dosis 50mg/kgBB memiliki rata-rata  $86.3280 \pm 5.49549 \mu\text{m}$ . Kelompok DM dengan pemberian PSP dosis 150mg/kgBB memiliki rata-rata  $72.5815 \pm 8.04110 \mu\text{m}$ .

Kelompok DM dengan pemberian PSP dosis 300mg/kgBB memiliki rata-rata  $69.0115 \pm 5.0001 \mu\text{m}$ .

Kecenderungan penurunan ketebalan tunika intima-media diakibatkan oleh PSP yang memiliki efek sebagai antihiperглиkemia. PSP sebagai antihiperглиkemia mampu menghambat terjadinya kerusakan reseptor insulin, penurunan transport glukosa ke jaringan, penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin, dan peningkatan kadar lipid dalam serum. Efek antihiperглиkemia pada PSP ini menghambat terjadinya stres oksidatif pada jaringan, kerusakan endotel pembuluh darah dan inflamasi. Terhambatnya kerusakan endotel dan inflamasi menyebabkan pembuluh darah tetap utuh, hal ini akan mencegah migrasi makrofag ke dinding pembuluh darah, dengan demikian mencegah timbulnya plak aterosklerosis. STZ menimbulkan kerusakan langsung pada sel beta pankreas sehingga menyebabkan degranulasi dan tidak tereksekusinya insulin. Kekurangan insulin menyebabkan penurunan aktivitas lipoprotein lipase sehingga *free fatty acid* beredar banyak dalam aliran darah. PSP mampu memperbaiki kerusakan sel beta pankreas akibat induksi STZ pada tikus. Mekanisme yang terjadi adalah PSP mampu meningkatkan perbaikan sel beta pankreas yang memiliki kerusakan parsial sehingga proses menjadi lebih cepat. PSP juga meningkatkan tumbuhnya sel beta pankreas baru dan ekskresi insulin. Mekanisme ini mampu meningkatkan kadar insulin dalam darah untuk menekan hiperlipidemia (Li *et al*, 2011).

Pada penelitian ini PSP telah terbukti secara nyata menurunkan tebal tunika intima media pembuluh darah pada tikus kelompok DM, bahkan hingga mencapai tebal tunika intima media pembuluh darah sebagaimana yang dicapai tikus kelompok normal. Hal ini bisa dijelaskan karena efek pemberian PSP



bersifat mampu menekan proliferasi sel-sel otot polos tunika intima media pembuluh darah.

Stres oksidatif merupakan kunci utama terbentuknya lesi aterosklerosis. Menurut Jia *et al* (2008), PSP dapat menginduksi terbentuknya enzim superoksida dismutase dan catalase yang bersifat antioksidan. Adanya enzim antioksidan dapat menjadi pertahanan terhadap timbulnya stress oksidatif dengan cara mengakatalisa hidrogen peroksida, sebagai penyebab utama stress oksidatif, menjadi air dan molekul oksigen. Stres oksidatif yang terhambat dapat menekan kerusakan pada tunika intima media pembuluh darah dan jaringan sehingga proliferasi sel-sel otot polos sebagai awal terbentuknya lesi aterosklerosis juga dapat dihambat.

PSP dapat mengurangi ketebalan tunika intima-media dengan cara menekan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas dapat menyebabkan stress oksidatif. Stres oksidatif yang terjadi pada dinding pembuluh darah dapat menyebabkan sel-sel otot polos dinding pembuluh darah mengalami proliferasi berlebihan karena mudah terpapar oleh radikal bebas. Proliferasi berlebihan pada sel-sel otot polos dinding pembuluh darah dapat menyebabkan peningkatan ketebalan tunika-intima-media dimana sel-sel otot polos dinding pembuluh darah berada.

PSP mampu mensupresi pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Menurut W. Liu *et al* (2010), PSP *Ganoderma lucidum* memiliki amino polisakarida sehingga mampu menghambat lipid peroksidase dan kerusakan DNA akibat stress oksidatif. Polisakarida *Ganoderma lucidum* dapat meningkatkan kadar antioksidan enzimatik sehingga menekan lipid peroksidase dan mengikat

radikal bebas untuk dikeluarkan. Hal ini berpengaruh dalam menekan terjadinya LDL teroksidasi dan menekan terjadinya proses inflamasi.

#### 6.4 Perbedaan Tebal Tunika Intima-Media Pembuluh Darah Tiap Kelompok

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan oneway ANOVA dan didapatkan hasil terjadi penurunan ketebalan tunika intima media pembuluh darah secara signifikan ( $pV=0.000$ ) dengan pemberian PSP. Penurunan ketebalan tunika intima media pembuluh darah didapatkan pada semua kelompok perlakuan yang diterapi PSP. Li *et al* (2011) menyebutkan bahwa PSP memiliki efek utama sebagai antioksidan dan antihiperqlikemia. Efek PSP sebagai antioksidan mampu menghambat terbentuknya radikal bebas sehingga bisa menekan proliferasi dari-sel-sel otot polos pembuluh darah yang mengalami stres oksidatif akibat terpapar ROS. Efek PSP sebagai antihiperqlikemia menyebabkan peningkatan regenerasi sel beta pankreas, meningkatkan proses recovery sel beta pankreas yang rusak sehingga menstimulasi sekresi insulin. Peptida polisakarida *Ganoderma lucidum* juga dapat menurunkan dan menghambat absorpsi glukosa pada tikus.

Pada uji Post Hoc didapatkan hasil bahwa tebal tunika intima media pembuluh darah pada kelompok tikus DM dan DM+PSP50 berbeda bermakna dengan kelompok DM+PSP150, DM+PSP 300 mg, dan kontrol. Namun tebal tunika intima media pembuluh darah pada kelompok DM+PSP150 dan DM+PSP 300 mg tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan pemberian dosis PSP 150 mg dan 300 mg mampu menghambat penebalan tunika intima media pembuluh darah hingga minimal seperti kelompok normal. Hal ini dapat disebabkan oleh kerja dari PSP sendiri dimana bersifat sebagai antioksidan bahkan menekan stress oksidatif melalui terbentuknya enzim



antioksidan yang mampu merubah hidrogen peroksida menjadi molekul air dan oksigen (Jie *et al*, 2008).

Dari data rata-rata tebal tunika intima-media pembuluh darah didapatkan ketebalan tunika intima-media paling tebal dimiliki oleh kelompok tikus DM, dimana perlakuan yang diberikan adalah pemberian HFD dan induksi STZ tanpa adanya terapi dari PSP.

Pemberian HFD dan induksi STZ pada tikus kelompok DM menyebabkan subjek pada kelompok tersebut mengalami dislipidemia. Menurut Srinivasan *et al* (2005), tikus yang diinduksi dengan HFD mengalami resistensi insulin dan peningkatan kadar glukosa darah. Akibatnya tikus mengalami dislipidemia dalam waktu yang lama apabila terpapar terus-menerus. Induksi STZ dapat menginisiasi kerusakan sel beta pankreas sehingga dapat menyebabkan resistensi insulin dalam waktu singkat. Lenzen *et al* (2007) menyebutkan bahwa STZ bekerja selektif pada sel beta pankreas. Sel beta pankreas yang terpapar oleh STZ akan mengalami nekrosis dalam waktu singkat.

HFD dan STZ mampu menyebabkan perubahan struktur endotel. Hal ini diprakarsai oleh adanya stress oksidatif. Stress oksidatif juga berperan menyebabkan proliferasi sel-sel otot polos dinding pembuluh darah sehingga menambah ketebalan tunika intima-media. Stress oksidatif juga berperan menyebabkan inflamasi. Adanya proses inflamasi berujung pada terbentuknya sitokin-sitokin proinflamasi sehingga menyebabkan akumulasi dari makrofag dan monosit. Akumulasi produk inflamasi ini juga berperan dalam meningkatkan ketebalan tunika intima-media.

Menurut Mackay *et al* (2001), sel-sel otot dinding pembuluh darah merupakan sel yang mudah mengalami stress oksidatif. Apabila stress sel-sel otot

polos dinding pembuluh darah terpapar oleh radikal bebas, maka respon sel-sel otot polos tersebut akan mengalami proliferasi berlebihan. Stres oksidatif yang terjadi juga menginsiasi proses inflamasi, disfungsi endotel, dan dislipidemia. Perubahan akibat stres oksidatif pada dinding pembuluh darah ini berdampak pada bertumpuknya sitokin proinflamasi, debris dan lipid pada tunika intima dan media sehingga menyebabkan bertambahnya ketebalan dinding pembuluh darah.

Data rata-rata kelompok perlakuan DM+PSP 50 mg menempati urutan kedua rata-rata ketebalan tunika intima-media pembuluh darah. Hal ini disebabkan oleh tikus dalam kelompok DM dengan pemberian dosis PSP sebesar 50 mg/kgBB/hari mengalami resistensi insulin akibat induksi STZ dan terpapar HFD sehingga memicu tikus mengalami dislipidemia, inflamasi, dan disfungsi endotel (Liang *et al*, 2007). Dislipidemia, inflamasi dan disfungsi endotel diprakarsai oleh stres oksidatif. PSP yang diberikan sebagai terapi pada kelompok ini memiliki peran untuk mensupresi peningkatan ketebalan tunika intima-media lebih lanjut dengan efek sebagai antihiperlipidemia dan antioksidan. PSP mampu mencegah terbentuknya radikal bebas dalam tubuh dan mampu menghambat lipid peroksidase yang dipicu oleh induksi STZ (W. Liu *et al*, 2010).

Rataan tebal tunika intima-media kelompok normal dan kelompok DM dengan dosis PSP 150 dan 300 mg/kgBB/hari, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut hasil analisa Post Hoc LSD. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 150mg dan 300mg perkgBB yang disondekan setiap hari pada tikus mampu mensupresi stres oksidatif yang terjadi pada tingkat sel-sel otot polos dinding pembuluh darah, sehingga dapat menekan proliferasi sel lebih lanjut dan mengembalikan kondisi ketebalan tunika intima-media hingga sama dengan tikus



kelompok normal. Dari temuan tersebut dapat disimpulkan bahwa dosis PSP 150 mg dan 300 mg merupakan dosis terapi PSP. Memerlukan studi lebih lanjut terkait tingkat toksisitas kedua dosis tersebut.

Rataan tebal tunika intima-media tikus kelompok kontrol menempati posisi urutan keempat dari semua perlakuan. Rataan tebal tunika intima-media paling kecil dimiliki oleh kelompok perlakuan dengan dosis PSP 300 mg. Hal ini disebabkan oleh genetik dan ekspresi gen DNA pada masa perkembangan janin berperan dalam menginisiasi terbentuknya plak aterosklerosis sejak dini (Chen *et al*, 2011). Selain pengaruh genetik, proses penuaan juga berperan dalam meningkatkan ketebalan tunika intima-media dinding pembuluh darah (Matsumura, 2013).

Hasil analisa korelasi Pearson menyebutkan hubungan korelasi antara pemberian dosis PSP dengan ketebalan tunika intima-media menunjukkan hubungan berbanding terbalik secara signifikan. Semakin tinggi dosis PSP semakin rendah tingkat ketebalan tunika intima-media. Hal ini menunjukkan bahwa PSP memiliki kemampuan untuk menekan proliferasi sel-sel otot polos dinding pembuluh darah melalui supresi stres oksidatif. PSP sebagai antihiperqlikemia juga mengalami peran untuk menekan stres oksidatif sehingga meminimalisir terjadinya proses inflamasi, dislipidemia dan disfungsi endotel. Peran PSP sebagai anti oksidan dan antihiperqlikemia menyebabkan semakin menekan peningkatan ketebalan tunika intima-media.

Maka dari penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa PSP yang dalam *Ganoderma lucidum*, berpengaruh dalam mengurangi ketebalan tunika intima media pada tikus yang model Diabetes Melitus Tipe 2.