

**Pengaruh Pemberian Peptida Polisakarida (PsP) *Ganoderma lucidum*
terhadap Penurunan Jumlah *Foam Cell* pada Aorta *Rattus norvegicus*
Strain Wistar yang diberi Diet Tinggi Lemak**

TUGAS AKHIR

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



Oleh :

Yasmin Eka Aziza

NIM : 115070100111085

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2014

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN PEPTIDA POLISAKARIDA (PSP)
GANODERMA LUCIDUM TERHADAP PENURUNAN JUMLAH FOAM
CELL PADA AORTA RATTUS NORVEGICUS STRAIN WISTAR YANG
DIBERI DIET TINGGI LEMAK**

Oleh :

Yasmin Eka Aziza
NIM : 115070100111085

Telah diuji pada :
Hari : Selasa
Tanggal : 09 Desember 2014

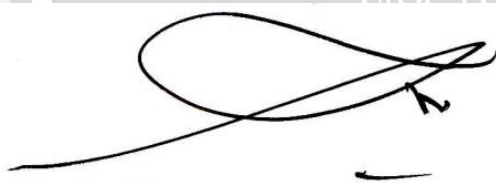
Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I



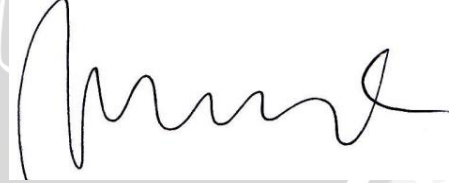
Dr. Hidayat Sujuti, Ph.D, Sp.M
NIP. 19670123 199601 1 001

Penguji II / Pembimbing I



Prof. Dr. dr. Dianggan S, Sp.PD, Sp.JP(K)
NIP. 19470921 197603 1 001

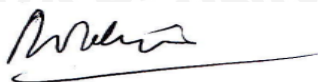
Penguji III / Pembimbing II



Dr. Titin A. Wihastuti, S.Kp, M.Kes
NIP. 19770226 200312 2 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardiono DTM & H, MSc, SpPark
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur dipanjatkan atas kehadiran Allah SWT dan Rasulullah SAW. Berkat kasih sayang, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Peptida Polisakarida *Ganoderma lucidum* terhadap Jumlah *Foam Cell* pada Aorta Tikus (*Rattus norwegicus*) Galur Wistar Jantan yang diberi Diet Tinggi Lemak.”**

Dalam proses penulisan Tugas Akhir ini, tentunya penulis juga didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

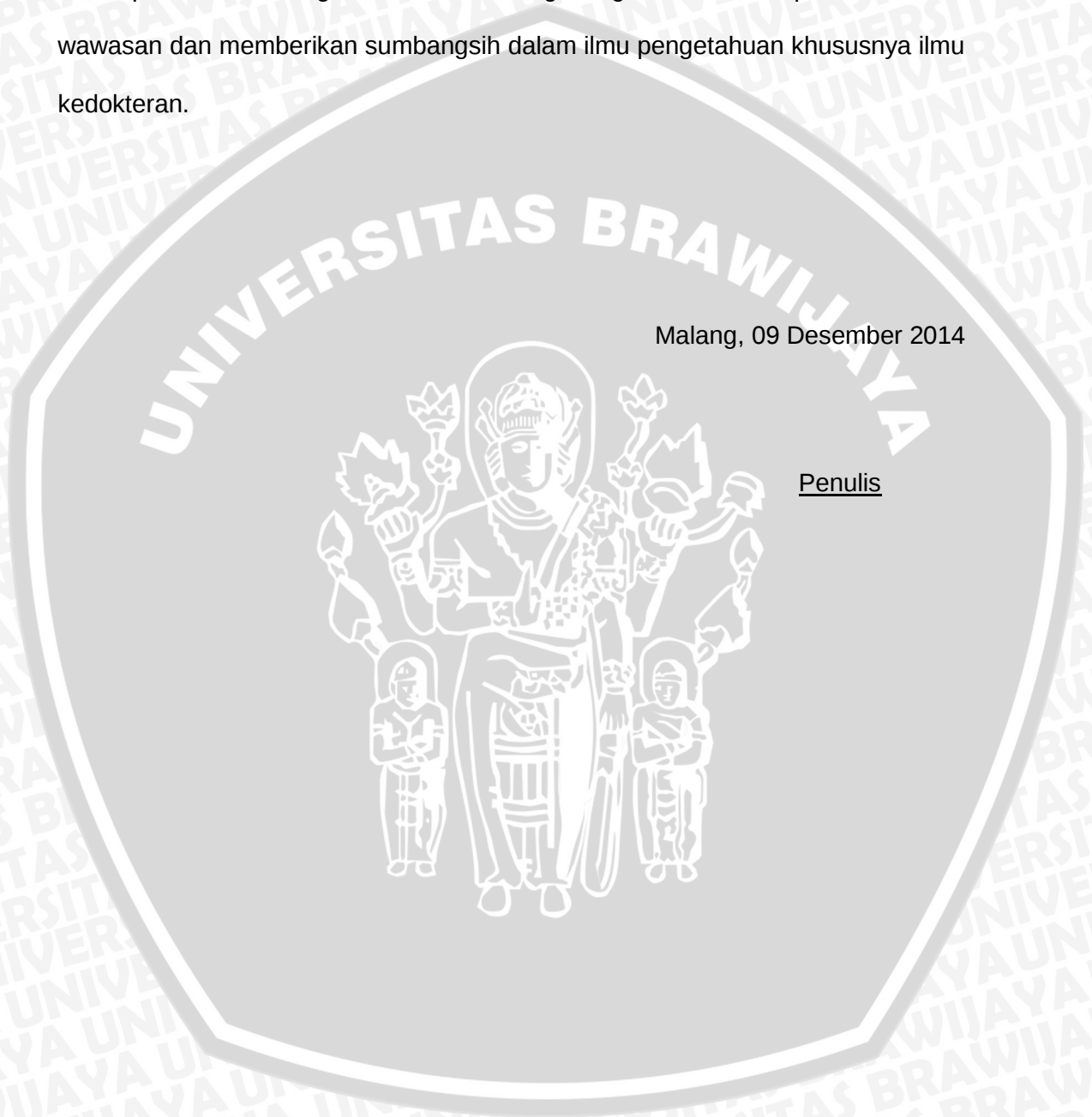
1. Dr. dr Karyono Mintaroem, SpPA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, Sp.PD., Sp.JP (K), selaku dosen pembimbing pertama atas segala bimbingan, masukan, dukungan dan kesabarannya sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Dr. Titin Andri Wihastuti S.Kp., M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua atas segala bimbingan, masukan, dukungan, kebaikan serta kesabarannya sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. dr. Hidayat Sujuti, Ph.D, Sp.M.,, selaku dosen penguji atas kesediaanya memberikan masukan dan penilaiannya untuk menyempurnakan Tugas Akhir ini.

5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Dr. Dra, Sri Winarsih, Apt, M.Si, dr. Soemardini M.Pd dan Mbak Betty atas informasi, bantuan dan dukungannya.
6. Segenap pihak Staf Lab. Sentral Ilmu Hayati FMIPA (Mas Farid, Mas Bayu dan Mbak Firly), Lab. Farmako (Mas Memet), Lab. Patologi Anatomi (Mas Mijan) atas bantuannya dalam proses penelitian Tugas Akhir ini.
7. Yang tercinta Ayahanda Sakdun dan Ibunda Sri Rahayu serta Adik – adikku tersayang Mega Memory R. P., dan Ferizal Negeri S. atas segala doa, pengertian, cinta, kasih sayang, semangat dan dukungan yang tiada henti dalam bentuk moral maupun materi sehingga Tugas Akhir ini berjalan dengan lancar.
8. Sahabat serta rekan seproyek penelitian Dyah Puspitarini, Lucky Astrida E, Fitriani Intan, Nina A, Irna Nur K, Triandra, Chaterine T, dan Prasanti, serta dr. Joko, dr.Indra, dan dr. Ria yang selalu membantu, dan memberikan dukungan positif untuk saling bekerjasama dengan baik dalam proses penyelesaian Tugas Akhir ini.
9. Sahabat tersayang Shabrina Martha B. B., Lucky A. E., Levia M, Aditya A, Yuni Hendrati S, Grace R, Diah Lusi, Novita A, Rizky N, yang selalu ada untuk menghibur, memberikan doa, dukungan positif dan semangat dalam proses penyelesaian Tugas Akhir ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan Tugas Akhir ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima segala saran dan kritik yang membangun guna kesempurnaan dari Tugas Akhir ini. Semoga Tugas Akhir ini dapat menambah wawasan dan memberikan sumbangsih dalam ilmu pengetahuan khususnya ilmu kedokteran.

Malang, 09 Desember 2014

Penulis



ABSTRAK

Aziza, Yasmin Eka. 2014. **Pengaruh Pemberian Peptida Polisakarida (PsP) terhadap Jumlah Foam cell pada Aorta Rattus norvegicus Galur Wistar Jantan yang diberi Diet Tinggi Lemak.** Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, Sp.PD., Sp.JP (K)
(2) Titin Andri Wihastuti SKp., M. Kes

Penyebab kematian terbesar di dunia akibat komplikasi kardiovaskular adalah pembentukan plak atherosklerosis. Pada tahun 2005, penyakit kardiovaskular bertanggungjawab atas 35.3% dari total kematian di seluruh dunia. Bahkan saat ini Indonesia merupakan negara dengan jumlah penderita stroke terbesar di Asia. Pengobatan yang ada selama ini hanyalah terapi komplikasi atherosklerosis tersebut, belum ada terapi untuk pembentukan plak atherosklerosis. Untuk itu, obat yang mampu mencegah terbentuknya atherosklerosis sangat diperlukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan efektivitas pengaruh pemberian peptida polisakarida yang mengandung β -D-Glucan dalam mencegah atherosklerosis, dengan melihat jumlah *foam cell* per lapangan pandang pada endotel. Penelitian ini merupakan penelitian murni dengan metode *Randomized Posttest Only Controlloed Group Design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*). Untuk mengevaluasi efek dari proses pembentukan plak atherosklerosis, model tikus diberikan diet aterogenik selama 95 hari. Peptida polisakarida diberikan secara peroral selama 36 hari. Pada penelitian ini hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok ($n=5$), yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok mendapat terapi peptida polisakarida dengan dosis 50, 150, maupun 300 mg/kgBB. Hasil evaluasi kemudian dianalisis menggunakan uji *One way ANOVA* ($p<0,05$). Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan jumlah bentukan *foam cell* pada pemeriksaan histologi aorta tikus pada dosis awal 150 mg/kgBB dan penurunan ini berbanding lurus pada dosis berikutnya. Disimpulkan bahwa peptida polisakarida berpotensi untuk mencegah aterosklerosis.

Kata Kunci : Peptida polisakarida, atherosklerosis, foam cell, aorta

ABSTRACT

Aziza, Yasmin Eka. 2014. **Effect of Polysaccharide Peptide (PsP) to Total Foam Cells in Aortic of *Rattus norvegicus* Male Wistar strain with High Fat Diet.** Medical Faculty of Brawijaya University.

Supervisor : (1) Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, Sp.PD., Sp.JP (K)
(2) Titin Andri Wihastuti SKp., M. Kes

The cause of death in the world due to cardiovascular complications is the formation of atherosclerotic plaque. In 2005, cardiovascular disease was responsible for 35.3 % of total deaths worldwide. Even today Indonesia has the largest number of stroke patients in Asia. This treatment is only available during the atherosclerotic complications of therapy, no therapy for atherosclerotic plaque formation. Therefore, drugs that can prevent the formation of atherosclerosis is indispensable. The aim of this study was to prove the effectiveness of the effect of polysaccharide peptide containing β -D-Glucan in preventing atherosclerosis, by looking at the number of foam cells by field of view to the endothelium. This study is purely used the method *Controlloed Group Randomized Posttest Only Design*. Experimental animals used were white rats (*Rattus norvegicus*). To evaluate the effect of the process of atherosclerotic plaque formation, the model mice given atherogenic diet for 95 days. Polysaccharide peptide administered orally for 36 days. In this study, experimental animals were divided into 5 groups (n=5), the negative control, positive control, and 3 polysaccharide peptide therapy group received a dose of 50, 150, or 300 for each mg of weight. The evaluation results were analyzed using *One-way ANOVA* test ($p < 0.05$). The results showed a decrease the amount of the foam cell formation in rat aortic histology at an initial dose of 150 for each mg of weight and this reduction is directly proportional to the next dose. It was concluded that the polysaccharide peptide has potential effect used to prevention of atherosclerotic.

Keywords: Polysaccharide Peptide, atherosclerosis, foam cell, aortic.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	vi
<i>Abstract</i>	vii
Daftar isi	viii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Singkatan	xiii
Daftar Lampiran	xvi
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Aterosklerosis	7
2.1.1 Definisi Aterosklerosis	7
2.1.2 Etiologi Aterosklerosis	10
2.1.3 Morfologi dan Tipe Lesi Aterosklerotik	11
2.1.4 Patogenesis Aterosklerosis	14
2.1.4.1 Lipid	16
2.1.4.2 Metabolisme Lipid	17
2.1.4.3 Dislipidemia	19
2.1.5 Faktor Risiko	20
2.2 <i>Foam cell</i>	21
2.2.1 Metode Pengukuran <i>Foam cell</i>	21
2.2.1.1 Pembuatan Sediaan Histopatologi	21
2.2.1.2 Pengamatan Jumlah <i>Foam cell</i> dengan Dot Slide Olivia	23
2.3 Stress Oksidatif	24
2.3.1 Inflamasi dan Stress Oksidatif pada Patofisiologi Aterosklerosis ..	24
2.3.2 Anti Oksidan pada Stress Oksidatif dalam Patofisiologi Aterosklerosis	27
2.4 Jamur Lingzhi (<i>Ganoderma lucidum</i>)	27
2.5 Peptida Polisakarida	29
2.5.1 Definisi Peptida Polisakarida dan β -D Glucan	30
2.5.2 Mekanisme Peptida Polisakarida dan β -D Glucan	31
2.5 Pembuatan Hewan Model Aterosklerosis dengan Diet Tinggi Lemak ..	33
2.5.1 Tikus Putih (<i>Rattus Norvegicus</i>) Strain Wistar	33
2.5.2 Diet Tinggi Lemak	34
 BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	37
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	38
3.3 Hipotesis Penelitian	38

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian.....	39
4.2 Sampel Penelitian.....	39
4.2.1 Pengulangan Sampel.....	39
4.2.2 Kriteria Sampel	40
4.2.3 Kriteria <i>Drop out</i>	40
4.3 Variabel Penelitian.....	41
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	41
4.4.1 Lokasi Penelitian	41
4.4.2 Waktu Penelitian	41
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	41
4.6 Definisi Operasional.....	43
4.7 Prosedur Penelitian.....	44
4.7.1 Pengurusan Ethical Clearance	45
4.7.2 Persiapan Pemeliharaan Hewan Coba.....	45
4.7.3 Pembuatan Diet Normal.....	45
4.7.4 Pembuatan Diet Tinggi Lemak	46
4.7.5 Pembuatan dan Pemberian Psp	46
4.7.6 Pembedahan Tikus	47
4.7.7 Pembuatan Slide Preparat Histopatologi.....	47
4.7.8 Pembacaan dan Penghitungan <i>Foam cell</i>	49
4.8 Pengolahan Data	49

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Intake Pakan dan Berat Badan	52
5.1.1 Intake Pakan Tikus Model Aterosklerosis dengan Diet Tinggi Lemak	52
5.1.2 Berat Badan Tikus Model Aterosklerosis dengan Diet Tinggi Lemak	53
5.1.3 Analisis Deskriptif.....	54
5.2 Analisa Data	56
5.2.1 Uji Normalitas.....	57
5.2.2 Uji Homogenitas Varian.....	57
5.2.3 Uji One way ANOVA	58
5.2.4 Uji Pos Hoc	59
5.2.5 Uji Korelasi Pearson.....	60

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 <i>Foam Cell</i> pada Aorta Tikus (<i>Rattus norwegicus</i>) Strain Wistar Jantan yang diberi Diet Normal.....	62
6.2 <i>Foam Cell</i> pada Aorta Tikus (<i>Rattus norwegicus</i>) Strain Wistar Jantan yang diberi Diet Tinggi Lemak.....	63
6.3 <i>Foam Cell</i> pada Aorta Tikus (<i>Rattus norwegicus</i>) Strain Wistar Jantan yang diberi Peptida Polisakarida dari <i>Myselia Ganoderma lucidum</i>	66
6.4 Perbedaan Jumlah <i>Foam cell</i> pada Masing – Masing Kelompok Perlakuan.....	68

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan.....	72
---------------------	----

7.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	84
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	99

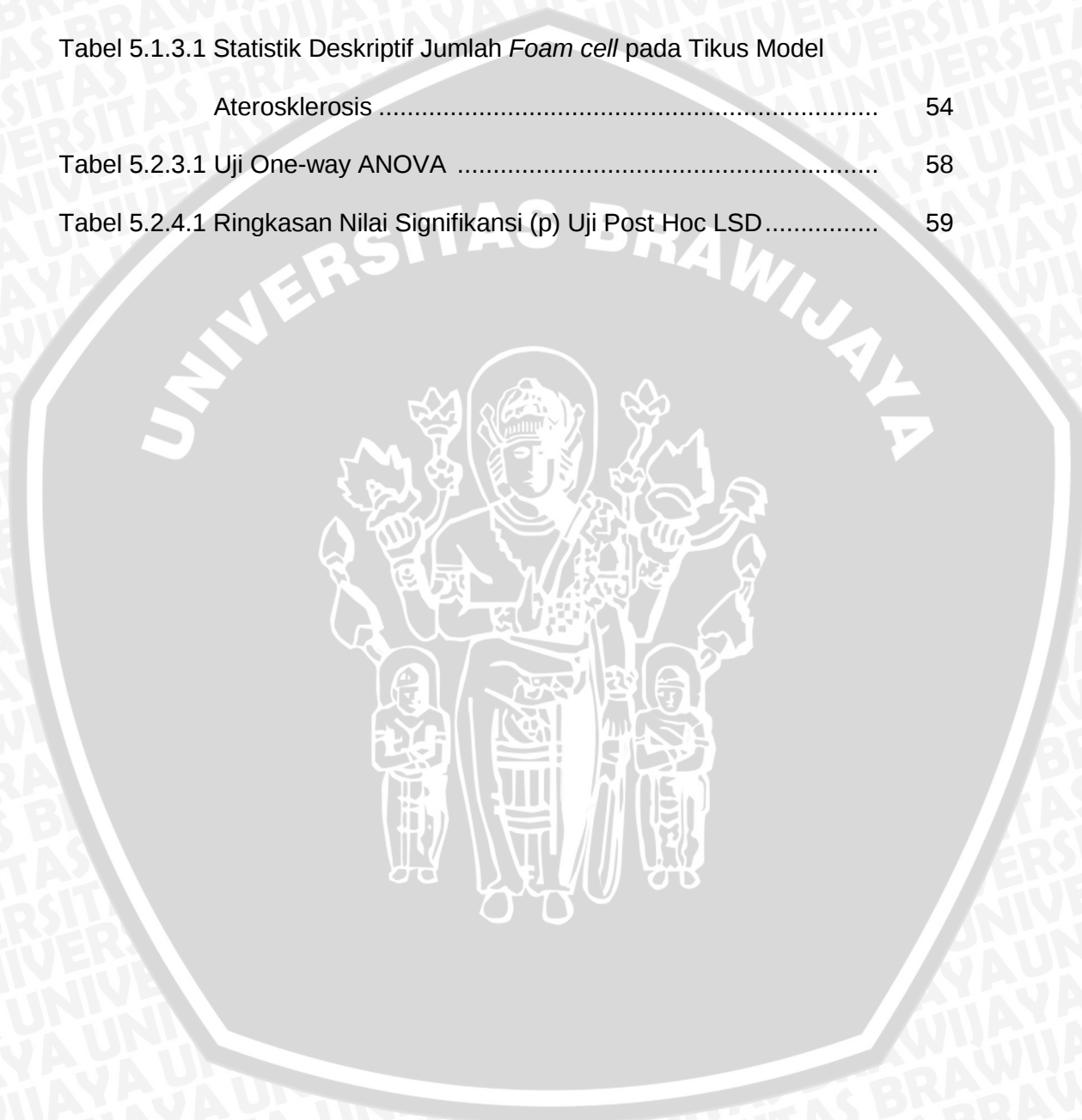


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.3.1 Disfungsi Endotel	11
Gambar 2.1.3.2 Pembentukan Garis Lemak pada Aterosklerosis	12
Gambar 2.1.3.3 Pembentukan Lesi Lanjut pada Aterosklerosis	13
Gambar 2.1.3.4 Pembentukan Plak Fibrous pada Unstable Aterosklerosis	14
Gambar 2.1.4.1 Proses Pembentukan <i>Foam cell</i> pada Aterosklerosis.....	15
Gambar 2.2.1 Hardware Dot Slide OlyVia	23
Gambar 2.4.1 Morfologi Jamur Lingzhi (<i>Ganoderma lucidum</i>)	28
Gambar 2.5.1 Struktur (1,3)- β -D-Glucan	32
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	37
Gambar 5.1.1 Grafik Rerata Intake Pakan Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar Model Aterosklerosis	52
Gambar 5.1.2 Grafik Rerata Berat Badan Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar Model Aterosklerosis	53
Gambar 5.1.3.1 Grafik Rerata Jumlah <i>Foam Cell</i> pada berbagai Kelompok Perlakuan Tikus Model Aterosklerosis.....	55
Gambar 5.1.3.2 Histopatologi <i>Foam cell</i> pada berbagai Kelompok Perlakuan	56

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.5.1 Faktor Risiko Aterosklerosis	20
Tabel 5.1.3.1 Statistik Deskriptif Jumlah <i>Foam cell</i> pada Tikus Model Aterosklerosis	54
Tabel 5.2.3.1 Uji One-way ANOVA	58
Tabel 5.2.4.1 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Post Hoc LSD	59



DAFTAR SINGKATAN

BDM	<i>Biological Defence Modifier</i>
CVD	<i>Cardiovascular Disease</i>
DNA	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
eNOS	<i>Endothelial Nitrous Oxide System</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FGF 2	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FR	<i>Free Radicals</i>
GMCSF	<i>Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
GRAS	<i>Generally Recognized As Safe</i>
H2O2	<i>Hidrogen Peroxyda</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HE	<i>Hematoxilin Eosin</i>
HFD	<i>High Fat Diet</i>
HOCl	<i>Asam Hipoklorit</i>
HUVEC	<i>Human Umbilical Vein Endhotelial Cell</i>
ICAM-1	<i>Intracelular Adhesion Molecule - 1</i>

IKK	<i>IκB Kinase</i>
IL-2	<i>Interleukin – 2</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein - 1</i>
MCSF	<i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
NEMO	<i>NF-κB Essential Modifier</i>
NF-κB	<i>Nuclear Factor kappa-Beta</i>
NO	<i>Nitrit Oxide</i>
O ₂	<i>Oksigen</i>
O ₃	<i>Ozon</i>
OxLDL	<i>Oxidized Low Density Lipoprotein</i>
PDGF	<i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PJK	<i>Penyakit Jantung Koroner</i>
PsP	<i>Peptida Polisakarida</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
TG	<i>Triglyceride</i>
TGF-	<i>Transforming Growth Factor</i>
TNF-	<i>Tumor Necrosis Factor-</i>

VCAM-1

Vascular Cell Adhesion Molecule – 1

VEGF

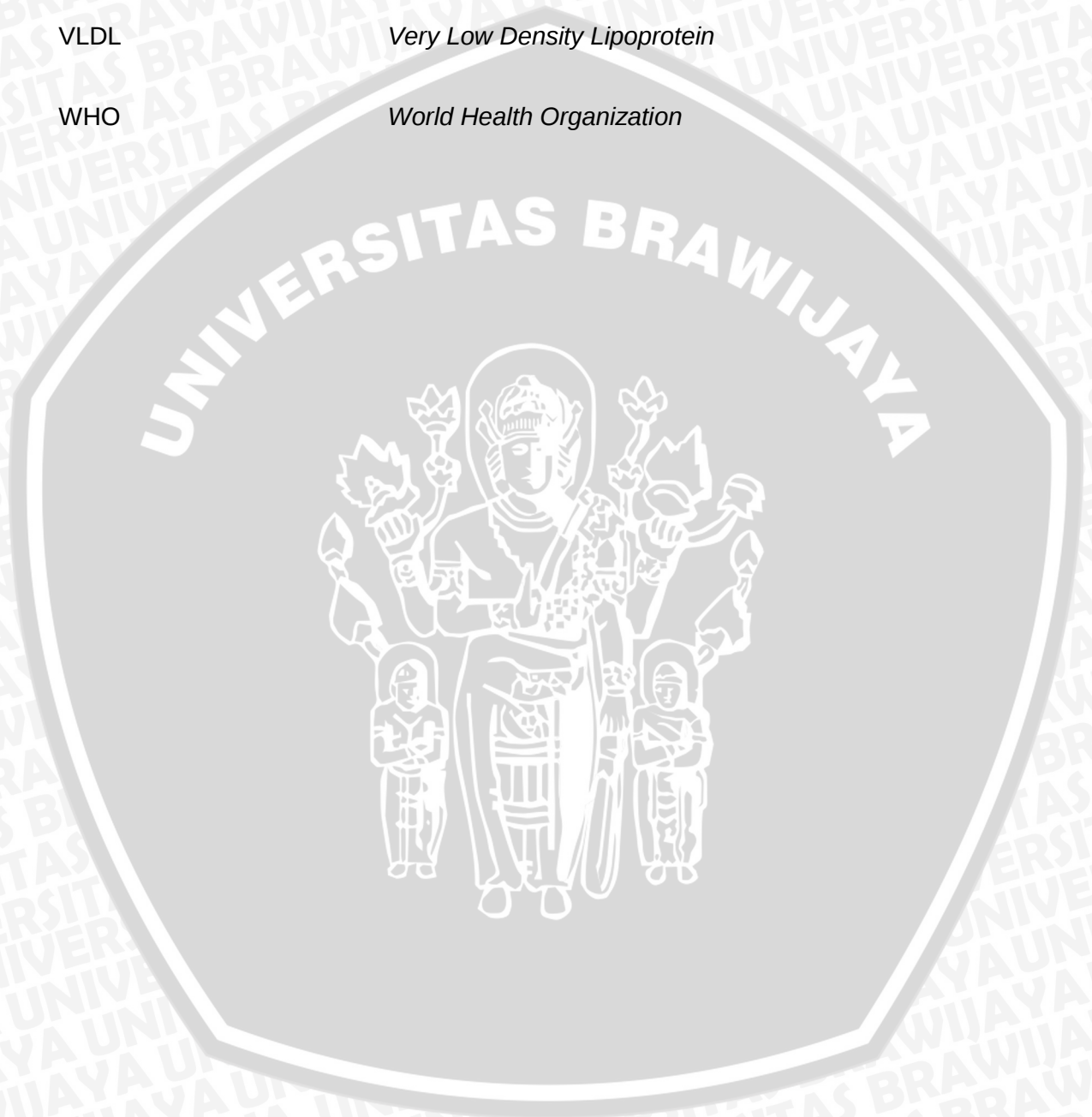
Vascular Endothelial Growth Factor

VLDL

Very Low Density Lipoprotein

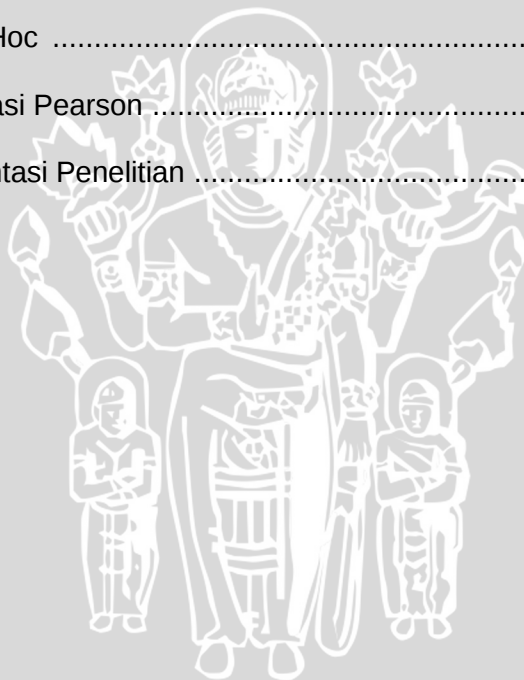
WHO

World Health Organization



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Diagram Alur Pembuatan Pakan Diet Normal	84
Lampiran 2 : Diagram Alur Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak	85
Lampiran 3 : Alur Pembuatan Peptida Polisakarida <i>Ganoderma lucidum</i> .	86
Lampiran 4 : Intake Pakan Tikus	90
Lampiran 5 : Berat Badan Tikus	92
Lampiran 6 : Uji Normalitas, Homogenitas, One way ANOVA.....	93
Lampiran 7 : Uji Post Hoc	94
Lampiran 8 : Uji Korelasi Pearson	96
Lampiran 9 : Dokumentasi Penelitian	98



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cardiovascular Disease (CVD) merupakan penyebab utama kematian di dunia, dilaporkan oleh *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2008 sebanyak 17,3 juta orang meninggal di seluruh dunia disebabkan penyakit kardiovaskuler dan 7,3 juta diantaranya merupakan kematian yang disebabkan oleh penyakit jantung koroner atau PJK. Diperkirakan pada tahun 2030, kematian akibat penyakit kardiovaskuler akan meningkat menjadi 23,6 juta. Penyebab yang utama adalah dari penyakit jantung koroner dan stroke (WHO, 2011).

Atherosklerosis adalah penyakit progresif yang merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri, sehingga arteri mengeras dan tidak elastik (Boudi *et.al*, 2010). Komplikasi dari atherosklerosis yang mengancam jiwa adalah stroke dan penyakit jantung koroner (Falk *et.al*, 2006). Pada tahun 2005, penyakit kardiovaskuler bertanggung jawab atas 864.500 kematian atau 35.3% dari total kematian pada tahun tersebut di seluruh dunia (Jones *et.al*, 2009).

Sampai saat ini penyebab pasti dari atherosklerosis belum diketahui, tetapi penelitian mengindikasikan bahwa atherosklerosis dimulai saat bagian dalam arteri dirusak oleh faktor faktor tertentu. Faktor risiko aterosklerosis dapat dibedakan menjadi faktor risiko mayor atau utama dan faktor risiko minor. Faktor risiko mayor diantaranya adalah umur, jenis kelamin, keturunan (ras), merokok, tinggi kolesterol dalam darah, hipertensi, kurang

aktivitas fisik, diabetes mellitus, obesitas dan berat badan lebih. Sedangkan yang termasuk faktor risiko minor adalah stress, alkohol, diet dan nutrisi (Heart-Health Screenings AHA, 2011).

Diet kolesterol yang tinggi berpengaruh terhadap terjadinya aterosklerosis, baik dengan adanya jejas lain maupun tidak (Kustiyah I, Prasetyo A., 2003; Sampurno, 2003). Hiperkolesterolemia merupakan faktor penting dalam patogenesis aterosklerosis, terutama karena kenaikan kadar LDL (Suryohudoyo P, 2000).

Salah satu faktor resiko utama pada aterosklerosis adalah dislipidemia. Di Indonesia prevalensi dislipidemia semakin meningkat. Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar HDL (Anwar, 2004).

Pada proses aterosklerosis salah satu mekanisme yang dapat terjadi ialah proses stress oksidatif. Melalui mekanisme dari makrofag pada lesi aterosklerotik yang memproduksi ROS berupa O_2 berlebihan, sehingga mampu menginduksi oksidasi LDL serta menurunkan ekspresi eNOS, dan akhirnya mempromosi pembentukan sel busa (Ross R, 1999).

Atherosklerosis merupakan respon inflamasi kronik terhadap deposisi kolesterol pada dinding pembuluh darah arteri (Hansson, 2005). Pada penelitian yang dilakukan Claudia Monaco dan rekannya, menyatakan bahwa inflamasi merupakan proses yang menjadi mekanisme terbesar yang mengakibatkan atherosklerosis melalui aktivasi NF- κ B (Monaco, 2004). Oksidasi LDL berperan penting dalam memicu terjadinya inflamasi dengan

mengaktifkan NF- κ B. Jalur pengaktifan NF-KB ini memicu upregulasi dari beberapa gen yang terlibat dalam permulaan dan perjalanan aterosklerosis termasuk enzim-enzim yang mengubah LDL menjadi inflammatory lipids, chemokin-chemokin (seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1)), serta molekul-molekul adhesi sel (seperti VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin) yang akan membuat monosit mampu menempel pada sel-sel endotel dan masuk ke ruang subendotel (Juan, 2002). Melalui pengaruh NF- κ B, keluarlah satu chemokin, macrophage colony-stimulating factor (MCSF), yang membuat monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian memfagosit oxLDL dan berubah menjadi sel foam. Penimbunan sel busa di ruang subendotel pembuluh darah ini merupakan bukti paling awal adanya pertumbuhan plak aterosklerotik yang dikenal sebagai *fatty streak* (Schworak, 2010).

Sehingga perlu diupayakan penanganan yang memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan untuk meminimalisir dampak dari proses aterosklerosis, yang salah satunya terdapat pada peptida polisakarida pada tanaman jamur *Ganoderma lucidum*. Peptida polisakarida banyak terdapat pada golongan jamur maupun tumbuhan tingkat tinggi, salah satunya bisa didapatkan dari isolasi miselia *Ganoderma lucidum* (juga dikenal sebagai jamur Ling-Zhi) (Wei-Ting Hung.et.al, 2008).

β -Glucan adalah suatu jenis polisakarida dengan monomer berupa D-glukosa, yang diikat melalui ikatan β -(1,3) glukosida dan β -(1,6) glukosida. β -Glucan banyak terdapat pada dinding bakteri, tumbuhan dan khamir. Menurut *Food and Drug Administration* (FDA) tahun 1997 β -Glucan merupakan *Biological Defence Modifier* (BDM) dan Generally Recognized As

Safe (GRAS), tidak menimbulkan toksisitas dan efek samping. β -Glukan memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, antitumor dan lain – lain (Thontowi, 2007). B-glukan memiliki bobot molekul tinggi, tergolong senyawa homopolisakarida, yaitu polisakarida yang tersusun dari satu jenis gula. Monomer β -glukan yakni D-glukosa (Kusmiati, 2007).

Penelitian di Skandinavia menunjukkan manfaat ekstrak dari dinding jamur *Saccharomyces cerevisiae* yang mengandung β -glukan pada pasien yang menjalani CABG (*Coronary Artery Bypass Graft*), dapat menurunkan respon inflamasi dan melindungi jantung dari *reperfusion injury*. Namun tetap belum jelas apakah peptida polisakarida yang juga salah satunya terdapat pada *Ganoderma lucidum* dapat menurunkan inflamasi kronis pada pasien-pasien dengan aterosklerosis dan dapat mencegah progresifitasnya menjadi PJK.

Pada penelitian ini penulis ingin membuktikan pengaruh peptida polisakarida (PsP) yang memiliki kandungan bioaktif β -D-glukan terhadap marker inflamasi kronis dan stres oksidatif pada tikus yang diberikan diet tinggi lemak. Indikator yang digunakan yaitu terjadinya penurunan jumlah foam cell pada dinding aorta tikus putih galur wistar yang diberi diet tinggi lemak setelah diberi Psp.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini diajukan untuk menjawab rumusan masalah sebagai berikut:

Apakah pemberian peptida polisakarida yang diisolasi dari myselia *Ganoderma lucidum* dapat berpengaruh terhadap penurunan jumlah

foam cell per lapang pandang pada aorta tikus (*Rattus norwegicus*) galur wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah :

Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian peptida polisakarida yang diisolasi dari myselia *Ganoderma lucidum* terhadap penurunan jumlah *foam cell* per lapang pandang pada aorta tikus (*Rattus norwegicus*) galur wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak.

Tujuan Khusus

- 1.3.1 Menghitung jumlah *foam cell* per lapang pandang pada aorta tikus (*Rattus norwegicus*) galur wistar jantan yang diberi diet normal.
- 1.3.2 Menghitung jumlah *foam cell* per lapang pandang pada aorta tikus (*Rattus norwegicus*) galur wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak.
- 1.3.3 Menghitung jumlah *foam cell* per lapang pandang pada aorta tikus (*Rattus norwegicus*) galur wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak dan Peptida polisakarida dari myselia *Ganoderma lucidum*.
- 1.3.4 Menganalisis perbedaan jumlah *foam cell* pada masing – masing kelompok perlakuan.

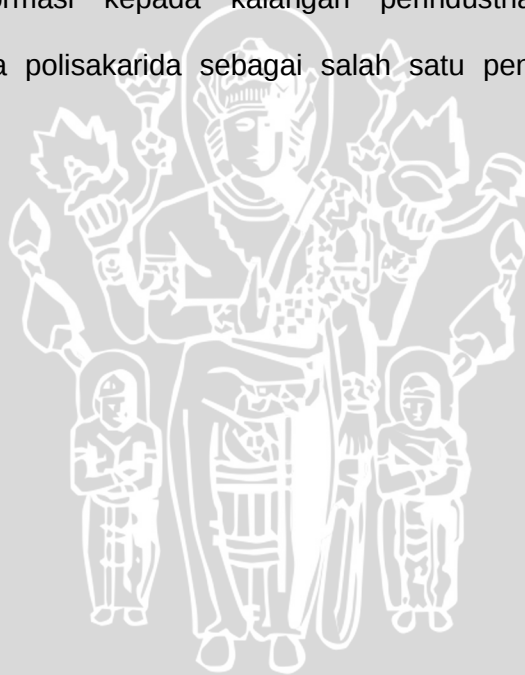
1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat teoritis :

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang kesehatan tentang kegunaan peptida polisakarida.

Manfaat praktis :

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk memberikan informasi kepada kalangan perindustrian obat tentang kegunaan peptida polisakarida sebagai salah satu pengobatan penyakit atheroklerosis.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Untuk memahami lebih lanjut mengenai pengaruh peptida polisakarida myselia *Ganoderma lucidum* terhadap pembentukan jumlah foam cell pada aterosklerosis, berikut ini akan diuraikan mengenai konsep aterosklerosis dan peptida polisakarida.

2.1 Aterosklerosis

2.1.1 Definisi Atherosklerosis

Atherosklerosis berasal dari kata athero yang dalam bahasa Yunani (athera) suatu bentuk gabung yang menunjukkan degenerasi lemak atau hubungan dengan atheroma. Sedangkan sklerosis dalam bahasa Yunani berarti indurasi dan pengerasan, seperti pengerasan sebagian peradangan, pembentukan jaringan ikat meningkat atau penyakit zat intersisial (Dorland WA Newman, 2006).

Aterosklerosis adalah bentuk spesifik dari arteriosklerosis. Meskipun kedua istilah tersebut dalam aplikasinya dapat saling menggantikan. Arteriosklerosis merupakan pengerasan pembuluh darah arteri yang disebabkan karena penumpukkan simpanan lemak (plak) dan substansi lainnya (Mayo Clinic Staff, 2005).

Aterosklerosis adalah proses terbentuknya lesi lemak berukuran besar disebut sebagai plak ateromatosa, yang mengakibatkan penyempitan pada lumen pembuluh darah dan pengerasan dinding arteri. Hal ini banyak terjadi di pembuluh darah besar ataupun sedang seperti aorta, arteri karotis, arteri coroner (Guyton et al, 2008).

Arteri adalah pembuluh darah yang membawa oksigen dan nutrisi dari jantung ke anggota, tubuh yang lain. Ciri-ciri arteri yang sehat yaitu fleksibel, kuat dan elastis. Lapisan permukaan dalamnya licin sehingga darah dapat mengalir tanpa batasan. Tetapi, suatu waktu, terlalu banyak tekanan pada arteri dapat menyebabkan dinding pembuluh darah menjadi tebal dan kaku, akhirnya akan membatasi darah yang mengalir ke organ dan jaringan. Proses ini disebut arteriosklerosis atau pengerasan pembuluh arteri (Mayo Clinic Staff, 2005).

Aterosklerosis dapat mempengaruhi arteri pada tubuh, termasuk arteri di jantung, otak, tangan, kaki, dan panggul. Akibatnya, penyakit yang berbeda dapat berkembang berdasarkan arteri yang terkena (NHLBI, 2006).

Aterosklerosis adalah perubahan dinding arteri yang ditandai akumulasi lipid ekstrasel, recruitment dan akumulasi lekosit, pembentukan sel busa, migrasi dan proliferasi miosit, deposit matriks ekstrasel, akibat pemicuan patomekanisme multifaktor yang bersifat kronik progresif, fokal atau difus, bermanifestasi akut maupun kronis, serta menimbulkan penebalan dan kekakuan arteri. Aterosklerosis disebabkan faktor genetik serta intensitas dan lama paparan faktor lingkungan (hemodinamik, metabolik, kimiawi eksogen, infeksi virus dan bakteri, faktor imunitas dan faktor mekanis), dan atau interaksi berbagai faktor tersebut (Sloop GD, 1999)

Selain mengakibatkan penyempitan pada lumen pembuluh darah, lesi ini juga menyumbat dan membuat pembuluh darah menjadi mengeras dan tidak elastis lagi dikarenakan kolesterol dan lipid yang terdapat pada plak ini biasanya juga disertai dengan kalsium. Sehingga dinding arteri mudah sobek

dan mudah terbentuk thrombus ataupun embolus yang juga dapat menyumbat pembuluh darah dan mengakibatkan kerusakan yang fatal seperti stroke dan penyakit jantung coroner (Hansson, 2005).

Selain pengertian diatas, atherosklerosis juga disebut sebagai penyakit progresif yang merupakan suatu respon inflamasi kronik terhadap deposisi lipoprotein pada dinding arteri yang dibuktikan oleh adanya migrasi dari monosit dan sel T limfosit ke area dinding arteri yang mengalami kerusakan. Hasil akhir dari inflamasi ini adalah terbentuknya plak atherosklerosis dalam tunika intima arteri (Hansson, 2005).

Aterogenesis yang diawali dengan terbentuknya sel busa, berlangsung secara perlahan-lahan selama bertahun-tahun. Hal tersebut mungkin sekali berawal sejak usia remaja, selanjutnya pada usia 10–20 tahun sel busa tersebut berubah menjadi alur lemak (fatty streak) yang nantinya akan membentuk kerak aterosklerosis pada usia tertentu (Moeliandari, 2003 dan Kaniawati M, 2004).

Aterosklerosis adalah penyakit multifaktorial yang merupakan penyebab paling umum penyakit jantung koroner (Cotti Elisabetta, 2010). Aterosklerosis adalah penebalan dan pengerasan dinding arteri sedang dan besar yang disebabkan oleh penumpukan lemak dalam jaringan tubuh. Sehingga terjadilah penyempitan atau penyumbatan pada pembuluh darah tadi. Penyumbatan ini menimbulkan gangguan jantung berupa nyeri dada yang mencekam (angina pectoris) dan kerusakan otot jantung (Ikawati Yuni, 2001).

Selanjutnya manifestasi klinis muncul dalam bentuk penyakit jantung iskemik, jantung coroner, infark miokardium, stroke, dilatasi aneurismal,

gangren, dan penyakit arteri perifer lainnya. Faktor hemodinamika, struktur, dan juga sifat metabolik pembuluh darah berperan penting pada kecenderungan perkembangan lesi (Juan, 2002).

2.1.2 Etiologi Aterosklerosis

Aterosklerosis disebabkan faktor genetik serta intensitas dan lama paparan faktor lingkungan (hemodinamik, metabolik, kimiawi eksogen, infeksi virus dan bakteri, faktor imunitas dan faktor mekanis), dan atau interaksi berbagai faktor (Ross R, 1999).

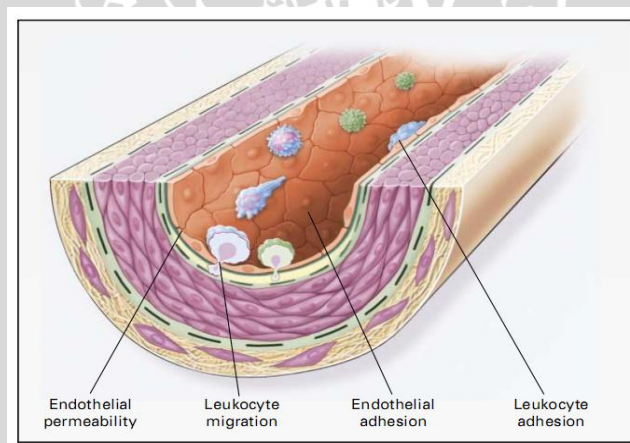
Aterogenesis dimulai ketika terjadi jejas pada endotel arteri, sehingga mengaktivasi atau menimbulkan disfungsi endotel. Paparan jejas pada endotel, memicu berbagai mekanisme molekuler dan seluler yang menginduksi dan mempromosi lesi aterosklerotik. Kadar kolesterol LDL yang tinggi merupakan penjejas utama endotel dan miosit. Kemampuan LDL-oks dalam memulai terjadinya aterosklerosis menunjukkan bahwa LDL-oks sangat mudah menimbulkan terbentuknya sel busa. Kolesterol HDL cenderung membawa kolesterol menjauhi arteri dan kembali ke hati, menyingkirkan kolesterol yang berlebihan di plak ateroma dan menghambat perkembangan plak ateroma. Hipertensi menginisiasi disfungsi endotel dalam proses aterogenesis. Stres oksidatif dapat mempromosi aktivasi atau disfungsi endotel, serta menginduksi ekspresi molekul adhesi, sehingga memacu migrasi monosit. Pola pemahaman ekspresi gen bisa membantu menjelaskan perbedaan kerentanan terhadap agen penyebab aterosklerosis. Aterosklerosis jelas bukan hanya merupakan akibat sederhana dari akumulasi lipid, namun juga akibat respon inflamasi, bila komponen inflamasi

berbahaya bagi arteri secara selektif dapat dimodifikasi dengan mempertahankan keutuhan aspek protektifnya, maka bisa tercipta pandangan baru dalam diagnosis dan manajemen penyakit pada 50 % pasien kardiovaskuler yang tidak mengalami hiperkolesterolemia (Ross R. 1999).

2.1.3 Morfologi dan Tipe Lesi Aterosklerotik

Lesi aterosklerotik tipe I

Lesi aterosklerotik tipe I atau lesi inisial (Gambar 2.1.3.1) memperlihatkan perubahan paling dini yang pertama kali bisa terdeteksi secara mikroskopik dan kimiawi. Secara seluler ditandai dengan penambahan sejumlah sel busa di tunika intima arteri dan penebalan adaptif tunika intima, terutama di regio yang mudah terkena (Ross, 1999).



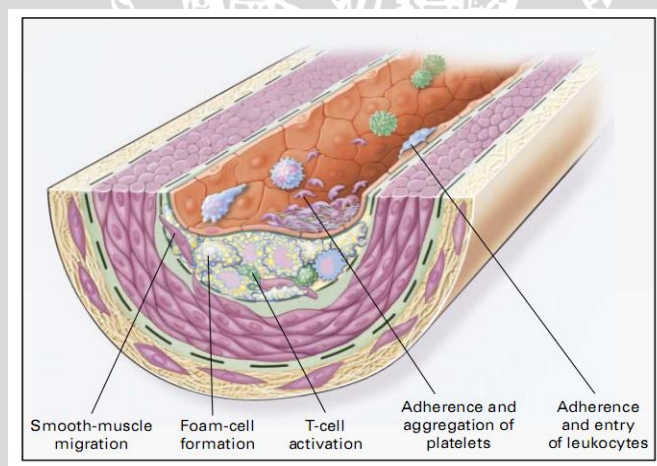
Gambar 2.1.3.1. Disfungsi endotel (lesi inisial) pada aterosklerosis
(Sumber : Atherosclerosis and inflammatory disease. Ross R. New Engl J Med 1999 January 14; Volume 340 Number 2;115-26 Available from : <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199901143400207>)

Lesi aterosklerotik tipe II

Lesi tipe II (garis lemak) berupa garis-garis, bercak atau bintik berwarna kuning di permukaan intima arteri. Gambaran mikroskopis lesi

aterosklerotik tipe II terdiri atas; sel busa berlapis, miosit berisi butiran lemak, sejumlah besar makrofag tanpa butiran lemak, sel limfosit T dan sel mast di tunika intima, disertai butiran heterogen lipid ekstrasel. Garis lemak mulanya terdiri atas makrofag, monosit, dan limfosit T yang mengandung sel busa yang bergabung dengan sejumlah sel miosit.

Tahapan pembentukan garis lemak (Gambar 2.1.3.2.) meliputi; 1) migrasi miosit yang distimulasi oleh PDGF, FGF 2 dan TGF- β ; 2) aktivasi sel T yang diperantarai oleh TNF- α , IL-2 dan GM-CSF; 3) pembentukan sel busa yang diperantarai oleh LDL-oks, MCSF, TNF- α , IL-1; 4) adhesi dan agregasi platelet yang dirangsang oleh integrin, P-selektin, fibrin, tromboksan A₂, faktor jaringan dan faktor lain yang bertanggungjawab terhadap adhesi dan migrasi leukosit (Ross R, 1999).

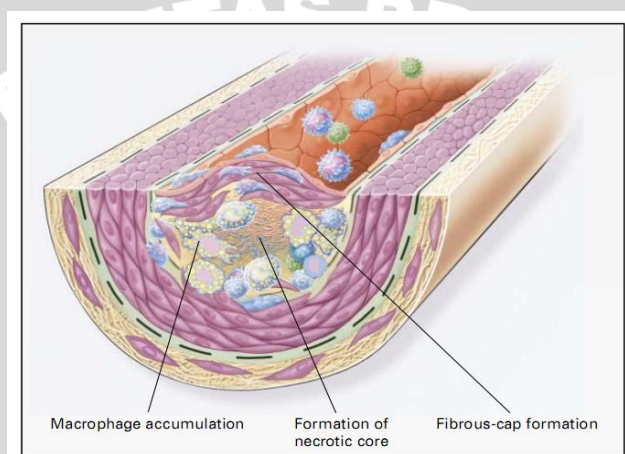


Gambar 2.1.3.2. Pembentukan garis lemak pada aterosklerosis
(Sumber : Atherosclerosis and inflammatory disease. Ross R. New Engl J Med 1999 January 14; Volume 340 Number 2;115-26 Available from : <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199901143400207>)

Lesi aterosklerotik tipe III

Lesi tipe III (intermedia, transisional, preateroma) merupakan jembatan morfologis dan kimiawi antara lesi tipe II dan lesi tipe lanjut (tipe

IV). Gambaran histopatologinya khas, ditandai timbunan butiran dan partikel lipid ekstrasel yang identik dengan lesi tipe II, di sekitar lapisan miosit di era tertentu yang mengalami penebalan adaptif tunika intimanya. Timbunan lipid yang lebih banyak dan tebal terletak tepat di bawah lapisan makrofag dan sel busa, menggantikan matriks dan serabut proteoglikan intersel, serta mendorong dan memisahkan miosit (Ross R, 1999).

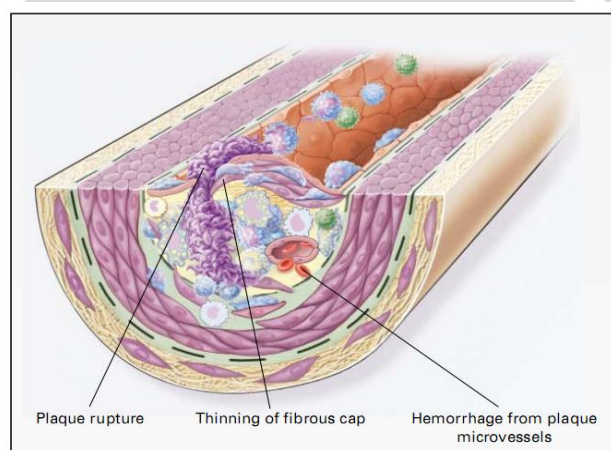


Gambar 2.1.3.3. Pembentukan lesi lanjut pada aterosklerosis
(Sumber : Atherosclerosis and inflammatory disease. Ross R. New Engl J Med 1999 January 14; Volume 340 Number 2;115-26 Available from : <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199901143400207>)

Lesi aterosklerotik tipe lanjut (IV, V dan VI)

Pada lesi lanjut yang terbagi menjadi tipe IV, V dan VI, terdapat deposit lipid ekstrasel yang cukup besar untuk merusak intima, juga terjadi mekanisme trombotik yang lebih menonjol dalam mempercepat terjadinya aterosklerosis. Sedangkan pada stadium yang amat lanjut, deposit lipid memodifikasi tunika media dan adventitia di bawahnya. Lesi fase ini (Gambar 2.15) cenderung membentuk sumbat fibrosa yang memisahkan lesi dengan lumen arteri. Sumbat fibrosa menutupi campuran lekosit, lipid dan debris yang membentuk inti nekrotik. Pinggiran lesi meluas akibat adesi dan masuknya lekosit yang terus berlangsung.

Faktor utama yang berhubungan dengan akumulasi makrofag meliputi; MCSF, MCP-1 dan LDL-oks. Inti nekrotik merupakan akibat terjadinya apoptosis dan nekrosis, peningkatan aktivitas proteolitik dan akumulasi lipid. Sumbat fibrosa terbentuk akibat meningkatnya aktivitas PDGF, TGF-, IL-1, TNF- dan osteopontin, serta berkurangnya degradasi jaringan ikat (Ross R, 1999).

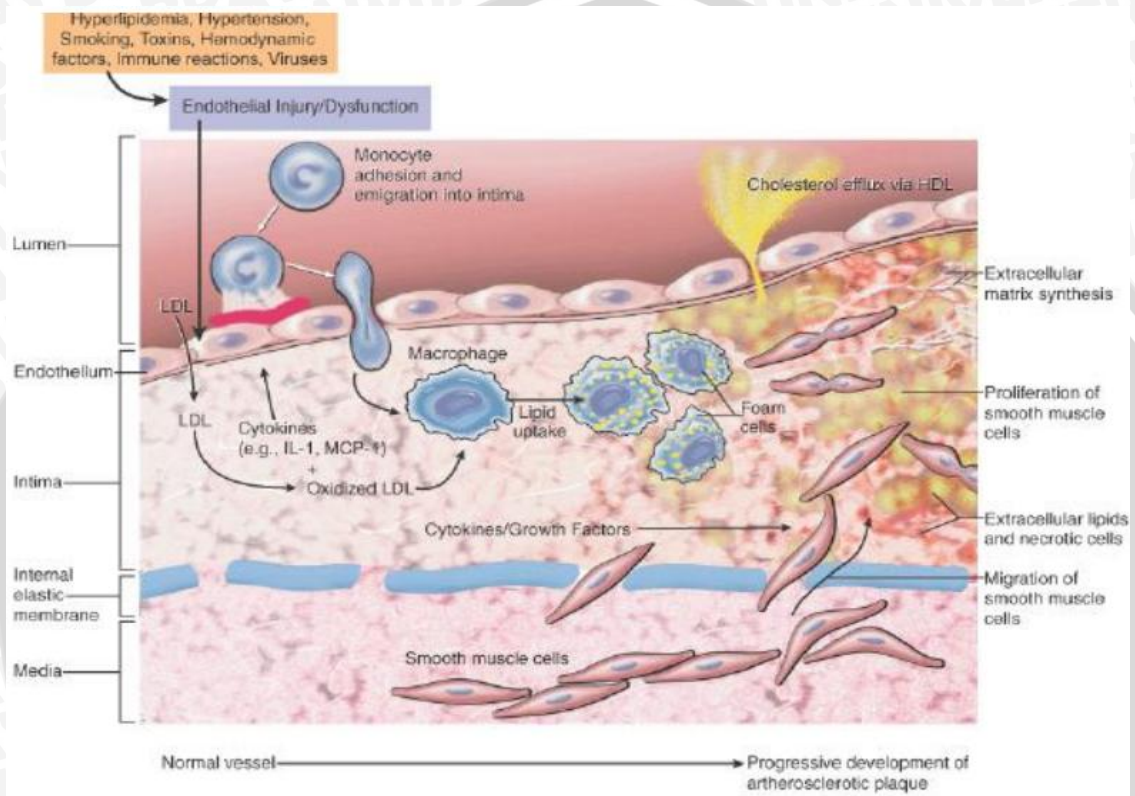


Gambar 2.1.3.4. Pembentukan plak fibrous unstable pada aterosklerosis (Sumber : Atherosclerosis and inflammatory disease. Ross R. New Engl J Med 1999 January 14; Volume 340 Number 2;115-26 Available from : <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199901143400207>)

2.1.4 Patogenesis Aterosklerosis

Patogenesis aterosklerosis meliputi disfungsi endotel, oksidasi LDL (OxLDL), respon imun, dan proliferasi sel otot polos. Disfungsi endotel merupakan perubahan reversibel dari fungsi endotel yang terjadi akibat respon terhadap stimulus lingkungan. Disfungsi endotel berperan penting dalam pathogenesis penyakit vaskular. Penyebab disfungsi endotel antara lain, sitokin, produk bakteri, hemodinamik stress, produk lipid, dan injuri lainnya (Robbins, 2003). Salah satu penyebab yang terlibat dalam patogenesis disfungsi endotel, inisiasi, dan progresifitas atherosclerosis adalah stress oksidatif. Suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan

antara produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan kemampuan biologis tubuh untuk mendetoksifikasi molekul reaktif tersebut maupun memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh banyaknya jumlah ROS (Göran, 2009).



Gambar 2.1.4.1. Proses terbentuknya foam cell pada aterosklerosis (Sumber: Libby, 2004).

Proses lain yang terlibat dalam pathogenesis atherosklerosis adalah oksidasi LDL. Proses oksidasi LDL terjadi di dalam subendotelial arteri, dimana terdapat proteoglikan dan matriks ekstraselular lain yang berfungsi meretensi LDL dan melindungi LDL dari plasma antioksidan. Mekanisme oksidasi LDL diperantarai oleh enzim-enzim *NADPH oxidase*, *myeloperoxidase*, *cytochrome P450*, *mitochondrial electron transport chain*, *peroxynitrite*, *xanthine oxidase*, *caeruleoplasmin*, *lipoxxygenase*, ROS yang dihasilkan oleh makrofag, sel otot polos, dan sel endotel di dalam lesi atherosclerosis (Curtiss, 2009).

LDL yang teroksidasi secara potensial akan mengaktifkan NF- κ B, yaitu suatu protein kompleks yang berperan dalam pengendalian transkripsi DNA, yang pada ujungnya akan memicu terjadinya inflamasi dan berakhir pada pembentukan plak. Pengaktifan NF- κ B melibatkan kompleks I κ B kinase (IKK). Kompleks ini terdiri dari sebuah subunit regulator (IKK γ), juga dikenal sebagai NF- κ B essential modifier (NEMO) dan dua subunit-subunit yang sama (IKK α dan IKK β) (Garapati, 2008).

Jalur pengaktifan NF- κ B ini memicu upregulasi dari beberapa gen yang terlibat dalam permulaan dan perjalanan atherosclerosis termasuk enzim-enzim yang mengubah LDL menjadi *inflammatory lipids*, chemokin-chemokin (seperti *monocyte chemoattractant protein* (MCP-1)), serta molekul-molekul adhesi sel (seperti VCAM-1, ICAM-1, E-selectin, P-selectin) yang akan membuat monosit mampu menempel pada sel-sel endotel dan masuk ke ruang subendotel (Juan, 2002). Melalui pengaruh NF- κ B, keluarlah satu chemokin, *macrophage colony-stimulating factor* (MCSF), yang membuat monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian memfagosit oxLDL dan berubah menjadi sel foam (Shworak, 2010).

2.1.4.1 Lipid

Lipid atau lemak memiliki sifat yang umum berupa relative tidak larut dalam air dan larut dalam pelarut non polar. misalnya eter, dan kloroform (Murray et al, 2009). Karena lipid tidak larut di dalam air, cara pengangkutan lipid dalam plasma darah yang berbahan dasar air, dipecahkan dengan cara menggabungkan lipid nonpolar (triasilgliserol dan ester kolesteril) dengan lipid amfipatik (fosfolipid dan kolesterol) serta protein

untuk menghasilkan lipoprotein yang dapat bercampur dengan air. Lipoprotein menghasilkan empat kelas utama, yaitu : (1) kilomikron yang berasal dari penyerapan triasilgliserol dan lipid lain di usus; (2) VLDL yang berasal dari hati untuk mengangkut triasilgliserol; (3) LDL merupakan suatu tahap akhir metabolisme VLDL; (4) HDL yang berperan sebagai transport kolesterol dan pada metabolisme VLDL dan kilomikron. Lipid plasma terdiri dari triasilgliserol (16%), fosfolipid (30%), kolesterol (14%) dan ester kolesterol (36%) serta sedikit asam lemak rantai panjang – tak teresterifikasi (asam lemak bebas). Triasilgliserol adalah lipid utama pada kilomikron dan VLDL, sedangkan kolesterol dan fosfolipid masing – masing adalah lipid utama pada LDL dan HDL (Murray *et al*, 2009).

2.1.4.2 Metabolisme Lipid

Sekitar separuh kolesterol tubuh berasal dari proses sintesis (sekitar 700mg/hari) dan sisanya diperoleh dari makanan. Hampir semua jaringan mengandung sel berinti mampu membentuk kolesterol, yang berlangsung di retikulum endoplasma dan sitisol (Murray *et al*, 2009).

Berdasarkan definisi, kilomikron ditemukan dalam kilus yang hanya dibentuk oleh sistem sistem limfe yang mengalir usus. Sejumlah kecil VLDL juga ditemukan dalam kilus. Namun sebagian besar VLDL plasma berasal dari hati. VLDL diserap hati dan dimetabolisme menjadi IDL atau dapat diubah menjadi LDL. Oleh karena itu, setiap partikel LDL berasal dari satu partikel VLDL prekursor. Sebagian besar kolesterol yang disekresikan oleh hati dalam bentuk VLDL dipertahankan selama pembentukan IDL dan akhirnya menjadi LDL. Kemudian LDL berikatan dengan kolesterol dan

menyalurkan kolesterol ke jaringan sedangkan HDL membawa kolesterol dari jaringan dan mengembalikannya ke hati untuk disekresikan dalam proses yang dikenal sebagai transpor kolesterol terbalik (reverse cholesterol transport) (Murray *et al*, 2009). Lemak dan kolesterol dalam darah ditransportasikan melalui dua jalur yaitu jalur eksogen dan endogen (Rosyid F, 2009).

1. Jalur Eksogen

Trigliserida dan kolesterol yang berasal dari makanan dalam usus dikemas dalam bentuk kilomikron dan akan dibawa kedalam aliran darah. Kemudian trigliserida dalam bentuk kilomikron akan mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase, sehingga terbentuk asam lemak bebas dan kilomikron remnant. Asam lemak bebas akan menembus jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida kembali sebagai cadangan energi. Sedangkan kilomikron remnant akan dimetabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Sebagian kolesterol yang mencapai organ hati diubah menjadi asam empedu dan dikeluarkan kedalam usus untuk membantu proses penyerapan lemak dari makanan. Sebagian lagi dari kolesterol yang dikeluarkan melalui saluran empedu (tidak mengalami proses metabolisme lanjutan) akan menjadi asam empedu, kemudian organ hati akan mendistribusi kolesterol ke jaringan tubuh lainnya melalui jalur endogen (Rosyid F, 2009).

2. Jalur Endogen

Pembentukan trigliserida dalam hati akan meningkat apabila makanan sehari – hari mengandung karbohidrat yang berlebihan. Hati mengubah karbohidrat menjadi asam lemak (bentuk trigliserida), yang akan dibawa

melalui aliran darah dalam bentuk VLDL. VLDL akan dimetabolisme oleh enzim lipoprotein lipase menjadi IDL. Kemudian IDL melalui serangkaian proses akan berubah menjadi LDL yang kaya akan kolesterol dan kolesterol ditransportasikan melalui aliran darah. Kolesterol yang tidak diperlukan oleh tubuh dilepaskan ke dalam darah dan berikatan dengan HDL, lalu akan dibawa lagi menuju hati untuk diproses kembali (Rosyid, 2009).

Peningkatan kadar kolesterol plasma diyakini merupakan faktor utama yang mendorong aterosklerosis. Aterosklerosis ditandai dengan penimbunan kolesterol dan ester kolesterol dari lipoprotein plasma ke dinding arteri. Adanya beberapa penyakit yang menyertai juga dapat turut menyebabkan peningkatan berkepanjangan pada kadar VLDL, IDL, sisa kilomikron dan LDL dalam darah (misalnya diabetes melitus, nefrosis lipid, hipertiroidisme, dan penyakit hiperlipidemia lainnya). Sedangkan HDL dalam kadar tinggi memberikan efek protektif, sehingga rasio kolesterol LDL dan HDL merupakan parameter prediktif yang sangat penting terhadap aterosklerosis (Murray *et al*, 2009).

2.1.4.3 Dislipidemia

Salah satu faktor risiko utama yang menjadikan seseorang mengalami penyakit aterosklerosis adalah dislipidemia. Di Indonesia prevalensi dislipidemia semakin meningkat. Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar HDL. Dalam proses terjadinya aterosklerosis semuanya mempunyai peran yang penting dan sangat erat kaitannya satu dengan yang lain,

sehingga tidak mungkin dibicarakan sendiri-sendiri. Ketiga-tiganya sekaligus dikenal sebagai Triad Lipid (Anwar, 2004).

2.1.5. Faktor Risiko

Definisi faktor risiko aterosklerosis adalah adanya keadaan, kebiasaan atau abnormalitas yang dihubungkan dengan aterosklerosis. Faktor-faktor risiko dapat juga dihubungkan dengan penyakit-penyakit penyebabnya (Dzau VJ, 2001).

Faktor risiko aterosklerosis dapat dibedakan menjadi faktor risiko mayor atau utama dan faktor risiko minor. Pada (Tabel 2.1.5.1) menunjukkan mengenai faktor – faktor risiko aterosklerosis.

Tabel 2.1.5.1 Faktor Risiko Aterosklerosis (Heart-Health Screenings, 2011).

Faktor Risiko Mayor	Faktor risiko Minor, Tidak Pasti, atau Non-Kuantitatif
1) Tidak Dapat Dimodifikasi a. Umur b. Jenis Kelamin c. Keturunan (ras) 2) Dapat Dimodifikasi a. Merokok b. Tinggi kolesterol dalam darah c. Hipertensi d. Kurang aktivitas fisik e. Diabetes mellitus	a. Sress b. Diet dan Nutrisi c. Alkohol

Manifestai penyakit aterosklerosis bergantung pada pembuluh darah yang terkena. Aterosklerosis dapat menyebabkan iskemia dan infark jantung , stroke, hipertensi renovaskular dan penyakit oklusi tungkai bawah (Tanuwijaya S, 2003).

2.2 Foam cell

Foam cell adalah vakuola yang berisi kompleks lipid dan terbentuk akibat terjadinya oksidasi LDL kolesterol. Foam cell merupakan predictor terjadinya aterosklerosis. Foam cell yang terbentuk akan beragregasi dalam lapisan intima yang terlihat secara makroskopis sebagai bercak lemak. Pada akhirnya deposisi lipid dan jaringan ikat mengubah bercak lemak ini menjadi ateroma lemak fibrosa (Supardan, 2001).

Foam cell adalah suatu sel yang terjadi akibat adanya proses fagositosis OxLDL oleh makrofag setelah terjadinya diferensiasi dari monosit melalui pengaktifan NF- κ B pada endotel yang terinflamasi. Penimbunan sel busa di ruang subendotel pembuluh darah ini merupakan bukti paling awal adanya pertumbuhan plak aterosklerotik yang dikenal sebagai fatty streak.

Foam cell dengan pewarnaan HE akan nampak sebagai sel yang besar dengan inti berwarna biru dan tepi yang kosong karena lemak akan luntur/lepas dengan pewarnaan HE sehingga nampak sebagai ruangan yang kosong diantara inti dengan membran sel (Julia, Arliek Rio, Kanthi Permaningtyas T dan Valettina Dwi Putri. 2012).

2.2.1 Metode Pengukuran Foam Cell

2.2.1.1 Pembuatan Sediaan Histopatologi

Pengamatan jumlah foam cell dimulai dengan pembuatan preparat terlebih dahulu, yaitu dengan cara jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan diteliti (untuk melihat foam cell kita pilih organ pembuluh darah aorta), lalu jaringan dipotong kurang lebih dengan ketebalan 2-3 mm, selanjutnya dimasukkan ke kaset sesuai dengan kode dan dimasukkan ke

dalam formalin 10 % sebagai fiksasi, setelah itu di proses menggunakan alat/mesin tissue tex prosesor.

Selanjutnya proses yang kedua yaitu dilakukan pengeblokan dan pemotongan jaringan dengan prosedur, jaringan diangkat dari mesin tissue tex prosesor lalu jaringan di blok dengan parafin sesuai kode jaringan kemudian jaringan dipotong dengan mesin microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.

Kemudian untuk proses ketiga dilakukan deparafinisasi dengan langkah – langkah sebagai berikut, pertama setelah disayat atau dipotong sesuai dengan ketebalan, kemudian ditaruh dalam oven selama 1-2 jam dengan suhu 60° C, kemudian dimasukkan ke dalam larutan xylol, masing-masing 15 menit lalu dicelupkan pada masing-masing tabung alkohol 96 % selama 3 menit kemudian masukkan / cuci ke dalam air mengalir selama 10 menit.

Dan kemudian dilakukan proses yang keempat yaitu pewarnaan HE melalui prosedur, beri jaringan cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit, kemudian cuci dengan air mengalir selama 15 menit, selanjutnya masukkan ke dalam alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup, lalu ke dalam amoniak air 3-5 celup, setelah itu masukkan ke dalam cat pembeding yaitu eosin 1% selama 15 menit, selanjutnya melakukan proses dehidrasi dengan memasukkan ke dalam alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, dan alkohol 96% selama 3 menit, kemudian dilakukan penjernihan dengan larutan xylaol selama 15 menit sebanyak 2 kali serta dilanjutkan dengan mounting menggunakan entelan dan deck glass. Selanjutnya sediaan histopatologi siap untuk diamati.

2.2.1.2 Pengamatan Jumlah Foam Cell dengan Dot Slide OlyVia

Perkembangan teknologi menghasilkan kemudahan bagi peneliti untuk mendapatkan gambaran preparat dengan pembesaran yang tinggi dan dapat didiskusikan bersama kolega. Kemudahan ini berupa virtual slide microscopy. Virtual slide microscopy tidak membatasi pengguna seperti mikroskop konvensional biasa.



Gambar 2.2.1. Hardware Dot Slide OlyVia (Chen. et.al, 2008).

Hardware yang digunakan dalam sistem ini adalah ditunjukkan pada Gambar. 1 dan terutama mencakup berikut 5 komponen: (1) mikroskop cahaya (BX51, Olympus) dilengkapi dengan nosepiece bermotor (BX-REMCB, Olympus). (2) kamera digital warna resolusi tinggi (1376 x 1032 pixel), ukuran pixel 6,45 μm (3) penampang dan dapat dipindah dengan menggunakan kedua joystick dan software; (4) PC, diinstal dengan software image acquisition software dan (5) komputer server (Chen.et.al, 2008).

Sediaan hispatologi diamati menggunakan *dot slide OlyVia* dengan pembesaran objektif 40x dan perbesaran okular sebesar 10x. Kemudian dapat dihitung jumlah *foam cell* aorta tikus dengan pengulangan sebanyak 10 lapang pandang pada tiap-tiap kelompok perlakuan yang mana jumlah *foam cell* untuk setiap sediaan merupakan rata-rata dari pengulangan setiap

lapang pandang (Julia, Arliek Rio, Kanthi Permaningtyas T dan Valettina Dwi Putri. 2012).

Foam cell dengan pewarnaan HE akan nampak sebagai sel yang besar dengan inti berwarna biru dan tepi yang kosong karena lemak akan luntur/lepas dengan pewarnaan HE sehingga nampak sebagai ruangan yang kosong diantara inti dengan membran sel (Julia, Arliek Rio, Kanthi Permaningtyas T dan Valettina Dwi Putri. 2012).

2.3 Stress Oksidatif

2.3.1 Inflamasi dan Stress Oksidatif pada Patofisiologi Aterosklerosis

Pada mekanisme stress oksidatif makrofag pada lesi aterosklerotik memproduksi ROS berupa O_2 berlebihan, yang mampu menginduksi oksidasi LDL. Stres oksidatif tersebut dapat mempromosi aktivasi atau disfungsi endotel, serta menginduksi ekspresi molekul adhesi (misalnya, VCAM 1) dan kemokin (misalnya, MCP 1), sehingga memacu migrasi monosit. Secara *In vitro*, LDL-oks menginduksi ekspresi VCAM 1, lalu berakumulasi ke dalam intima, sedangkan MCP 1 (kemotaktan monosit yang poten) menginduksi migrasi monosit masuk ke dalam intima. Stres oksidatif juga menurunkan ekspresi eNOS, sehingga mempromosi pembentukan sel busa (Ross R, 1999).

FR (*free radicals*) adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam strukturnya. Sebaliknya, kebanyakan biomolekul memiliki elektron yang berpasangan. Oleh karena itu FR adalah sangat reaktif, karena pada dasarnya elektron yang tidak berpasangan akan berupaya keras untuk dapat menemukan

elektron lain untuk dapat berpasangan, baik dengan menghibahkan elektron yang tak berpasangan tersebut (proses oksidasi), maupun menerima elektron dari sumber lain (proses reduksi).

Pada hakikatnya oksidasi ialah proses kehilangan elektron, maka oksidan ialah zat yang dapat menerima elektron dan menyebabkan zat lain teroksidasi (kehilangan elektron). Oksidan melalui reaksi kimia berantai (reaksi redoks atau reduksi - oksidasi) dapat menimbulkan kerusakan oksidatif pada organ-organ tubuh yang rentan. Efek negatif ini dikenal pula sebagai stres oksidatif.

FR dapat bermuatan listrik negatif, positif ataupun netral. FR tidak selalu harus mengandung atom O, tetapi FR utama dalam sistem biologis merupakan derivat radikal dari atom oksigen, seperti misalnya anion superoksid atau O_2^- , hidroksil atau OH^- dan nitrogenoksida-sintase atau NO^- sintase (Donno MD, 2000). Oleh karena itu kelompok FR atas dasar atom O ini disebut pula ROS. Dengan demikian pada hakekatnya FR dapat juga dikelompokkan kedalam ROS. Sehingga, dapat dikatakan bahwa oksidan utama dalam tubuh manusia adalah ROS (Donno MD, 2006).

Secara ringkas, aterosklerosis diawali dengan adanya kerusakan lapisan endotel dinding arteri yang diikuti dengan perubahan permeabilitas sel endotel, peningkatan ekspresi molekul adhesi pada permukaannya dan produksi sitokin. Monosit dan Sel-T akan bermigrasi ke dalam lapisan intima dinding pembuluh darah. Di dalam intima, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian akan memakan oxLDL dan membentuk foam cell. Penumpukan foam cell, Sel-T dan beberapa sel otot polos ini membentuk fatty streak. Proses pembentukan fatty streak ini telah terjadi sejak usia

dini. Foam cell mensekresikan cytokines attracting monocytes dan terperangkapnya makrofag menyebabkan terjadinya proses rekrutmen monosit yang terus menerus, yang berakibat pada perluasan volume lesi. Pada perkembangan selanjutnya, fatty streak ini akan bertambah luas seiring dengan bertambah banyaknya migrasi sel mononuklear dari aliran darah ke dalam sub endotel pembuluh darah yang diikuti dengan migrasi sel otot polos dari tunika media ke tunika intima, proliferasi sel dan pembentukan matriks ekstraseluler untuk membentuk sumbat fibrous (Harvey and Ramji, 2005).

Sumbat fibrous berfungsi menutupi inti nekrotik dari aterosklerotik. Inti yang nekrotik berasal dari sisa-sisa foam cell yang telah mati akibat apoptosis ataupun nekrosis (Harvey and Ramji, 2005). Akumulasi makrofag dan peningkatan jumlah kolesterol menyebabkan ketidakseimbangan komponen seluler pada pembuluh darah dan memperbesar inflamasi yang telah terjadi. Bila makrofag terpapar oleh lipoprotein dalam jumlah banyak, maka banyaknya kolesterol yang masuk ke dalam sel tidak bisa dikompensasi dengan penurunan uptake lipoprotein maupun penurunan sintesis kolesterol, sehingga kolesterol intrasel akan terus meningkat. Pada akhirnya foam cell tidak mampu lagi mengkompensasi peningkatan jumlah kolesterol intraseluler, diikuti peningkatan konsentrasi unesterified cholesterol yang melebihi ambang batasnya sehingga memicu terjadinya apoptosis dan nekrosis sel. Sel makrofag yang mati mengeluarkan protease yang menyebabkan degradasi matriks ekstraseluler dan nekrosis sel-sel di sekitarnya termasuk sel endotel yang menutupi plak serta membiarkan

kolesterol dalam jumlah besar yang nantinya akan ditangkap oleh makrofag lainnya (Crowe et al., 2010).

2.3.2 Anti-oksidan pada Stress Oksidatif dalam Patofisiologi Aterosklerosis

Secara sederhana dapat dikatakan bahwa pada hakikatnya Antioksidan ialah senyawa yang dengan mudah akan memberi elektron. Dengan demikian maka suatu oksidan (antara lain ROS) akan lebih dahulu bereaksi dengan Antioksidan dibandingkan dengan sel jaringan tubuh, sehingga dengan demikian sel tubuh tersebut tetap selamat dan utuh. Dengan lain perkataan, Antioksidan ialah suatu zat yang dapat meredam efek destruktif ROS (Danasantoso, 2003).

Oleh karena patogenesis aterosklerosis yang melibatkan mekanisme stress oksidatif, melalui ketidakseimbangan antara oksidan dan anti oksidan serta pula melalui proses inflamasi pada endotel, maka diperlukan adanya suatu upaya yang dapat meminimalisir terjadinya aterosklerosis melalui efek antioksidan dan antiinflamasi yang salah satunya terdapat pada peptida polisakarida myselia *Ganoderma lucidum*.

2.4 Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*)

Ganoderma.sp termasuk salah satu jamur kayu yang keberadaannya di Indonesia telah lama diketahui. Di Indonesia jamur ini dapat dijumpai di Jawa (kebun Raya Bogor, Gunung Gede, Kabupaten Garut), Riau, Pegunungan kerinci, Bali, Lombok, dan Sumbawa. *Ganoderma.sp* dapat ditemukan mulai dari ketinggian 300m dari permukaan laut hingga dataran tinggi. Habitat *Ganoderma lucidum* memerlukan lingkungan yang panas dan lembab, suhu antara 26 -27 derajat celcius untuk tumbuh. Oleh karena itu

banyak *Ganoderma* yang tumbuh liar di hutan. *Ganoderma* biasa ditemui tumbuh pada pohon yang masih hidup ataupun yang sudah mati (Jaelani, 2008).

Badan buah bertangkai panjang yang tumbuh lurus ke atas, berbentuk setengah lingkaran, diameter 10 – 35 cm. Pada bagian buah terdapat garis-garis melingkar yang merupakan batas periode pertumbuhan, tepi berombak atau berlekuk, pada sisi atas terdapat lipatan-lipatan radier, warna coklat merah keunguan, mengkilap seperti lak, konsistensinya keras dan alot. Umurnya beberapa tahun dengan setiap tahun membentuk lapisan-lapisan himefora baru. Jamur ini tumbuh liar di hutan pada batang kayu mati maupun hidup, sekarang telah dibudidayakan (Jaelani, 2008).



Gambar 2.4.1. Morfologi Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) (Hikmatun, 2007)

Klasifikasi jamur *Ganoderma lucidum* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Fungi
Phylum	: Basidiomycota

Class : Agaricomycetes
Order : Polyporales
Family : Ganodermataceae
Genus : Ganoderma
Species : Ganoderma lucidum

(Parjimo dan Soenanto, 2008)

Zat utama yang terkandung dalam Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) adalah ganodermin, ganoderan, asam ganodermin, triterpenoid, adenosin, peptidaglukan, germanium dan polisakarida (betaglukan). Kandungan lainnya yaitu thiamin, riboflavin, niasin, biotin dan vitamin C. Juga beberapa mineral antara lain seperti kalium, fosfor, kalsium, natrium, tembaga dan magnesium (Jaelani, 2008).

Jamur *Ganoderma lucidum* memiliki kandungan kimia seperti polisakarida, terpenoid, protein, dan nitrogen (Soloman P. Wasser, 2005). Kandungan kimia jamur lingzhi yang paling banyak memiliki aktivitas farmakologis adalah polisakarida dan triterpenoid (Boh B, Berovic M, Zhang J, Zhi-Bin L, 2007).

2.5 Peptida Polisakarida

Peptida polisakarida (PsP) pada myselia *Ganoderma lucidum* adalah salah satu upaya yang dapat meminimalisir terjadinya aterosklerosis melalui efek antioksidan dan antiinflamasinya. Untuk memahami lebih lanjut mengenai peptida polisakarida myselia *Ganoderma lucidum*, berikut akan diulas lebih dalam mengenai hal tersebut.

2.5.1 Definisi Peptida Polisakarida dan β -D-Glucan

Pada mayoritas fungi, struktur pokok yang terdapat pada polisakarida terdiri dari glukan, chitin dan mannan (Bowman SM, 2006). Glukan adalah salah satu struktur yang sangat penting dan banyak terdapat pada komponen polisakarida yang terdapat pada dinding sel fungi tersebut (Latgé JP, 2007).

Peptida polisakarida banyak terdapat pada golongan jamur maupun tumbuhan tingkat tinggi, salah satunya bisa didapatkan dari isolasi miselia *Ganoderma lucidum* (juga dikenal sebagai Ling-Zhi) (Wei-Ting Hung.et.al, 2008). Peptida polisakarida yang diekstraksi dari *G. lucidum* telah banyak digunakan dan dipelajari untuk imunomodulasi dan anti-kanker potensial (Lin, K. I, 2006; Ji, Z, 2007; Zhu, X. L, 2007). Komponen utama peptida polisakarida yang terdapat pada *G.lucidum* adalah $(1 \rightarrow 3)$ dan $(1 \rightarrow 6)$ - β -D-glukan. β -D-Glukan merupakan polimer karbohidrat dengan rantai molekul glukosa yang dihubungkan bersama dengan β -glikosidik (Wang, Y. Y, 2002).

$(1-3)$ - β -glukan tersebar luas di alam, terutama di ganggang, jamur dan ragi, serta pada tanaman tingkat tinggi yang menyajikan beragam fungsi biologis. Mereka membentuk komponen struktural utama dinding sel, dan bertindak sebagai penyimpanan karbohidrat yang juga memainkan peran protektif dengan membentuk di daerah spesifik dalam menanggapi rangsangan tertentu seperti perlukaan (Megazyme, 2011).

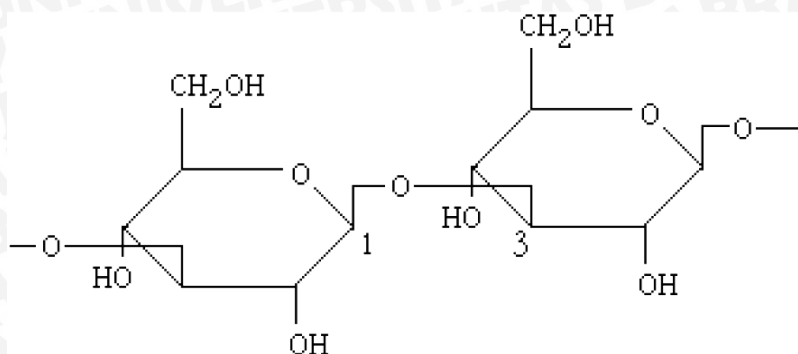
Glukan adalah polisakarida yang terbuat dari rantai molekul glukosa. Sedangkan beta (β) adalah sebutan dari posisi sterik dari grup hidroksi glukosa yang termasuk dalam formasi rantai tersebut. Beta – 1,3 D-Glukan dan beta - 1,6 D-Glukan adalah struktur yang biasa terbentuk. Sedangkan penomoran 1,3 dan 1,6 adalah berdasarkan posisi molekul glukosa yang

terangkai bersama rantai. β -Glukan merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β -(1,3) dan β -(1,6) glukosida (Thontowi, 2007).

Betaglukan merupakan suatu polisakarida, yang berperan dalam mengontrol penyerapan dan produksi kolesterol dalam darah. Selain itu, konsumsi secara oral dari usus betaglukan masuk ke sel-T dan merangsang makrofag, salah satu pembangun sistem kekebalan tubuh (Duryatmo, 2008).

2.5.2 Mekanisme Peptida Polisakarida dan β -D-Glukan

Immunomodulation oleh β -glukan, baik in vitro dan in vivo, dapat menghambat pertumbuhan dan metastasis sel kanker serta dapat juga mencegah atau mengurangi infeksi bakteri. Pada manusia, diet β -glukan dapat menurunkan kolesterol darah, meningkatkan penggunaan glukosa oleh sel-sel tubuh dan juga membantu penyembuhan luka. Kerja β -glukan sebagian, dengan merangsang kekebalan bawaan (imunitas innate) sebagai mekanisme untuk melawan berbagai benda asing sehingga dapat digunakan sebagai adjuvant dalam kombinasi dengan anti-infeksi atau agen antineoplastik, radioterapi, dan berbagai agen topikal dan nutrisi. Struktur β -glukan tergantung pada sumber darimana mereka diisolasi. Sifat biologis dari molekul β -glukan yang berbeda tergantung pada struktur molekul mereka. Beberapa penulis mengklaim bahwa β -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-glukan yang berasal dari ragi *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan efek biologis tertinggi. Beta-D-glukan berperan sebagai pengubah respon biologis. Studi pada hewan menunjukkan bahwa bahkan dosis kecil (1, 3), (1, 6)- β -D-glukan mungkin memiliki efek menguntungkan pada aktivitas kekebalan tubuh, yaitu dengan mengurangi sekresi faktor inflamasi (Weickert, 2013).



Gambar 2.5.1. Struktur (1,3)-β-D-glukan

(Toai T., Ban V., Tu L., Hanh N., et al Study on polysaccharide (1,3)-β-D-glucan from *Ganoderma Lucidum*. *Journal of Chemistry*, 2005; 43:258-262.)

β (1-3)-D-glukan juga mengaktifkan makrofag yang dapat menghilangkan debris selular yang dihasilkan dari kerusakan oksidatif, sehingga mempercepat pemulihan jaringan yang rusak (Di Renzo et al, 1991). Sebagai imunomodulator yang juga dikenal untuk mengurangi peradangan yang sudah ada (Ramprasath et al, 2006).

Peptida polisakarida pada *Ganoderma lucidum* juga telah terbukti memiliki properti anti-angiogenik dan anti-angiogenesis mungkin baru diketahui mekanisme untuk efek anti-tumor dari Peptida polisakarida pada *Ganoderma lucidum* (Cao dan Lin, 2004).

Beta D-glukan telah mendapat rekomendasi aman dari *Food and Drug Administration (FDA)* untuk dikonsumsi manusia. Berbagai penelitian mengungkapkan bahwa β-D-Glucan yang dikonsumsi dapat memberikan efek pengobatan antara lain sebagai antioksidan, antikolesterol, perlindungan terhadap radiasi, antipenuaan dan juga sebagai antitumor (Spicer, 2005).

2.6 Pembuatan Hewan Model Aterosklerosis dengan Diet Tinggi Lemak

2.6.1 Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) strain Wistar

Tikus adalah model yang berguna digunakan untuk mempelajari fisiologi kardiovaskular dan untuk memahami keadaan patologi yang kompleks seperti hipertensi dan disbetes mellitus. *Rattus norvegicus* adalah spesies hewan pengerat yang memiliki kualitas yang baik untuk digunakan sebagai penelitian di laboratorium saat ini (Hilsdoft dan Krieger, 1999).

Tikus galur wistar merupaka tikus albino spesies *Rattus norvegicus* yang dikembangkan di Institut Wistar pada tahun 1906 untuk digunakan dalam biologi dan penelitian medis. Karakteristik tikus ini adalah kepala lebar, telinga panjang dan memiliki ekor panjang yang selalu kurang dari panjang tubuhnya. Tikus wistar ini banyak digukan sebagai model hewan coba untuk penelitian teratology, nutrisi, penuaan, dan studi umum. Selain itu tikus wistar merupakan model hewan coba yang digunakan untuk studi aterosklerosis dan penyakit kardiovaskular (IAR, 2010; Johnson, 2012).

Pada penelitian ini digunakan tikus wistar sebagai sampel populasi karena berbagai alasan yaitu (David, et.al., 2001) :

- a. Ukuran tubuhnya yang kecil sehingga dibutuhkan dosis obat yang relatif sedikit.
- b. Tikus mudah dikembangkan
- c. Lebih tahan terhadap lingkungan laboratorium, berbagai perlakuan dan tahan terhadap anestesi.

Tikus putih merupakan salah satu hewan yang sering dipergunakan untuk penelitian di laboratorium karena beberapa hal yaitu homogen, bisa diusahakan dalam jumlah banyak, mudah ditangani, mudah perawatannya dan murah. Tikus

putih juga memiliki beberapa keuntungan yaitu cepat berkembang biak, masa kebuntingan pendek, mudah dikelola, tahan terhadap penyakit, lebih besar dibanding mencit, siklus reproduksi mudah diikuti, fertilitas maksimum bisa diketahui, hormone reproduksi mirip manusia, beberapa titik tangkap obat diketahui mirip manusia, bersifat poliestrus dan sebagainya.

Beberapa sebab para peneliti memilih tikus sebagai hewan percobaan karena tikus mempunya banyak keunggulan, diantaranya : Banyak gennya yang mirip dengan manusia, termasuk dalam binatang yang menyusui (mamalia), memiliki kemampuan berkembang biak yang sangat tinggi, relatif cocok untuk digunakan dalam eksperimental massal, dan juga tipe bentuk badan tikus kecil, mudah dipelihara dan obat yang digunakan dibadannya dapat relatif cepat termanifestasi. Dan disini tikus yang sering digunakan dalam percobaan ialah tikus putih (*Rattus norvegicus*).

2.6.2 Diet Tinggi Lemak

Diet kolesterol yang tinggi berpengaruh terhadap terjadinya aterosklerosis, baik dengan adanya jejas lain maupun tidak (Kustiyah I, Prasetyo A., 2003; Sampurno, 2003). Hiperkolesterolemia merupakan faktor penting dalam patogenesis aterosklerosis, terutama karena kenaikan kadar LDL (Suryohudoyo P, 2000).

Diet tinggi lemak dapat menimbulkan stress oksidatif terhadap endothel melalui mekanisme pembentukan kondisi dislipidemia, dengan kandungan profil lipid (Kolesterol total, LDL, VLDL, TG) yang tinggi dan kandungan HDL yang rendah.

Komposisi diet tinggi lemak terdiri dari diet normal (PARS dan tepung terigu) ditambahkan dengan kolesterol, minyak babi, dan asam kolat yang

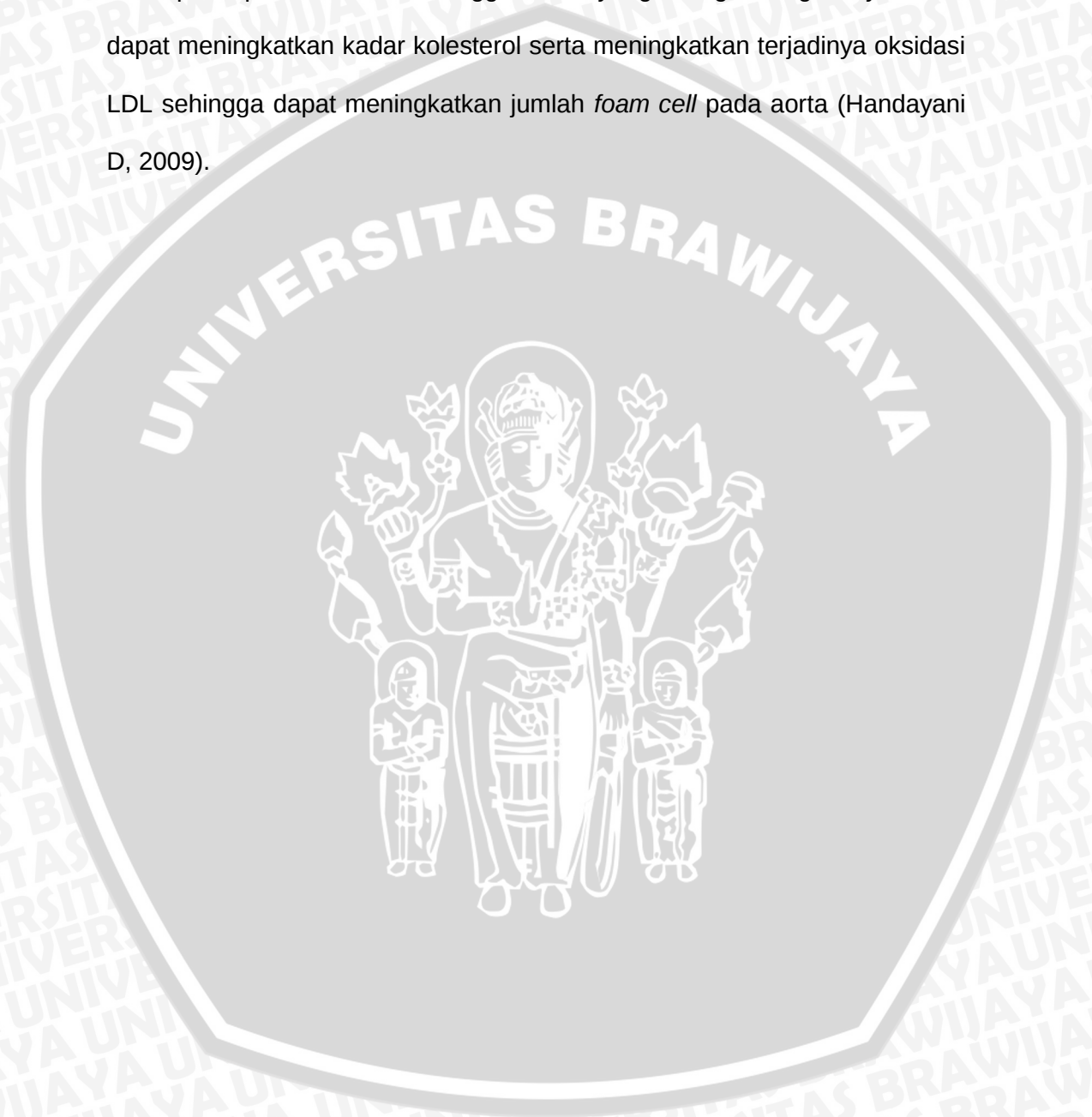
bertujuan untuk menginduksi peningkatan LDL dalam darah pada tikus wistar, yang mana peningkatan LDL ini merupakan awal dari terbentuknya *foam cell*.

Diet tinggi lemak mengandung lemak tinggi (47.8% dari total energi) dengan kandungan asam lemak jenuh dan kolesterol tinggi yang berasal dari asam kolat, minyak babi, kuning telur bebek, minyak kelapa sawit, dan minyak kambing. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Murwani (2005) bahwa pemberian pakan ternak selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menginduksi terbentuknya *foam cell* (Murwani, 2005). Asam kolat juga dapat merubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik yaitu menurunkan kadar HDL dan meningkatkan kadar LDL plasma. Pada kadar yang tinggi, asam kolat dapat mengiritasi membran mukosa, jika diberikan secara parenteral akan bersifat lebih toksik dan menyebabkan hemolisis, mempercepat kerja jantung, dan mempengaruhi system saraf pusat. Pemberian kolesterol bersama asam kolat memberikan efek sinergis terhadap kadar lipid dalam plasma hepar (Murwani, 2005).

Asam kolat juga dapat mempengaruhi faktor transkripsi pengendali gen dengan regulasi metabolisme lipoprotein dan inflamasi, yang mana keduanya penting dalam perkembangan aterosklerosis (Ando,H, 2005).

Bahan makanan yang kaya akan sumber lemak jenuh merupakan pencetus timbulnya penyakit pembuluh darah. Salah satunya dengan konsumsi bahan makanan yang mengandung kolesterol tinggi. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Handayani (2007) yang mengemukakan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol dalam darah secara signifikan, dengan mengkonsumsi sumber lemak jenuh yang tinggi kandungan

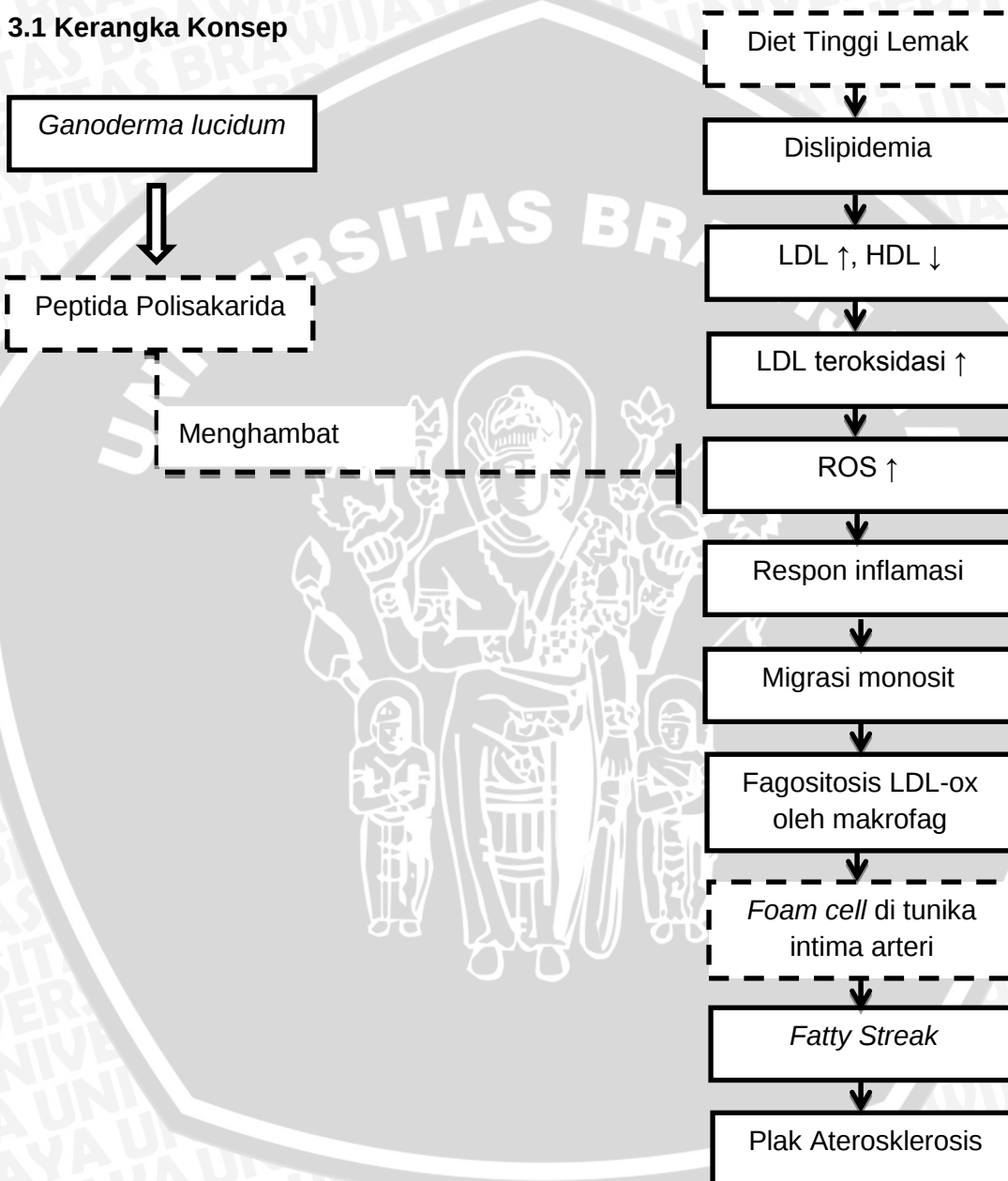
kolesterolnya (Handayani K 2009). Minyak babi mengandung kolesterol lebih tinggi dibandingkan minyak nabati dan minyak hewani lainnya, sehingga diharapkan pemberian diet tinggi lemak yang mengandung minyak babi dapat meningkatkan kadar kolesterol serta meningkatkan terjadinya oksidasi LDL sehingga dapat meningkatkan jumlah *foam cell* pada aorta (Handayani D, 2009).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 : Kerangka Konsep

Keterangan :

 = Variabel yang diteliti

 = Variabel yang tidak diteliti

-----|

= Efek menghambat

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Diet tinggi lemak merupakan ³⁷ diet tinggi kolesterol yang diformulasi khusus untuk menimbulkan keadaan aterosklerosis pada hewan coba. Diet ini terdiri dari comfeed PARS, tepung terigu, kolesterol, asam kolat, minyak babi, dan air. Pada penelitian lain disebutkan bahwa dengan menggunakan diet tinggi lemak dapat menginduksi terbentuknya foam cell secara bermakna.

Jika dikonsumsi secara berlebihan dan dalam jangka panjang, diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar LDL (*low density lipoprotein*) dalam plasma. Seiring dengan hal itu, radikal bebas juga akan meningkat akibat pemberian diet tinggi lemak dan menyebabkan peningkatan oksidasi LDL. Makrofag yang muncul sebagai respons terjadinya luka pada endotel, selain menfagosit materi di daerah luka juga memfagosit LDL teroksidasi. Hal tersebut menyebabkan makrofag bertransformasi menjadi *foam cell*, yaitu ketika makrofag terisi oleh vakuola lipid. Foam cell yang bertumpuk lantas memicu timbulnya fatty streaks yang apabila dibiarkan akan menimbulkan plak dan menyebabkan terjadinya sclerosis serta penebalan dinding arteri akibat penimbunan lemak atau yang dikenal sebagai aterosklerosis.

Pada penelitian ini digunakan PsP yang diharapkan akan mampu menurunkan jumlah foam sel sehingga proses atherosklerosis tidak berlanjut.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan dari tinjauan pustaka dari bab sebelumnya, maka hipotesis yang bisa disimpulkan adalah

Peptida polisakarida (Psp) yang diisolasi dari myselia *Ganoderma lucidum* dapat menurunkan jumlah foam sel pada tikus dengan diet tinggi lemak.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan desain eksperimen murni (true experimental) yang dikerjakan di laboratorium secara *in vivo* dengan menggunakan rancangan percobaan *Post Test Only Control Group Design*, untuk mengetahui pengaruh pemberian PsP pada jumlah *foam cell*. Penelitian ini dilakukan dengan cara menguji pengaruh pemberian PsP pada jumlah *foam cell* per lapang pandang pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberikan diet tinggi lemak selama 8 minggu.

4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Pengulangan sampel

Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok perlakuan. Banyak pengulangan ditentukan oleh rumus Federrer (Wardhani, 2006) yaitu :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

t : jumlah perlakuan, pada penelitian ini t=5

r : jumlah sampel penelitian

Sehingga jumlah pengulangan yang dilakukan adalah:

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$r \geq 5$$

Jadi banyaknya pengulangan minimal 5 kali untuk setiap perlakuan dengan jumlah tikus yang digunakan pada penelitian ini sejumlah 5x5 kelompok = 25 ekor hewan model.

KELOMPOK	MACAM DIET DAN PERLAKUAN	JUMLAH TIKUS
Kontrol Negatif (K-)	Diet normal	5
Kontrol Positif (K+)	Diet tinggi lemak	5
Aterogenik + PsP (A50)	Diet tinggi lemak + PsP 50 mg/kgBB	5
Aterogenik + PsP (A150)	Diet tinggi lemak + PsP 150 mg/kgBB	5
Aterogenik + PsP (A300)	Diet tinggi lemak + PsP 300 mg/kgBB	5

4.2.2 Kriteria Sampel

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Tikus berjenis kelamin jantan
- Umur 2-3 bulan
- Berat badan sekitar 150 – 200
- Kondisi sehat dan tidak ada kelainan anatomic
- Tikus tidak mengalami diare selama masa penelitian yang ditandai dengan feses tidak terbentuk dan atau mengalami penurunan berat badan
- Tikus tidak mati dan sakit selama masa perlakuan
- Tikus mau makan diet yang diberikan selama masa perlakuan

4.2.3 Kriteria Drop Out

Tikus dinyatakan *drop out* apabila tidak sesuai dengan kriteria, sehingga didapat jumlah tikus sesuai ketentuan sampel.

4.3 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah PsP
- b. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah Foam cell

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Pemeliharaan hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, pembuatan slide, pewarnaan HE dan penghitungan jumlah foam cell dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB Malang.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli sampai September 2013.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Pemeliharaan Hewan Coba

Alat dan Bahan yang digunakan adalah kandang, sekam, botol air, dan timbangan berat badan untuk tikus.

- b. Pembuatan Diet Normal

Alat dan bahan yang digunakan adalah timbangan analitik, baskom, Air, PARS 57,3 % dan tepung terigu 33, 4 %.

- c. Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Alat dan bahan yang digunakan adalah timbangan analitik, baskom, PARS 57 % dan tepung terigu 31,8 % ditambah kolesterol 1,9 %, asam kolat 0,1 % dan minyak babi 8,9 %.

d. Pembedahan Tikus

Alat dan bahan yang digunakan adalah gunting bedah, pinset, jarum pentul, stereofoam, kapas, eter, formalin 10 %, alkohol dan botol organ.

e. Pengukuran *Foam Cell*

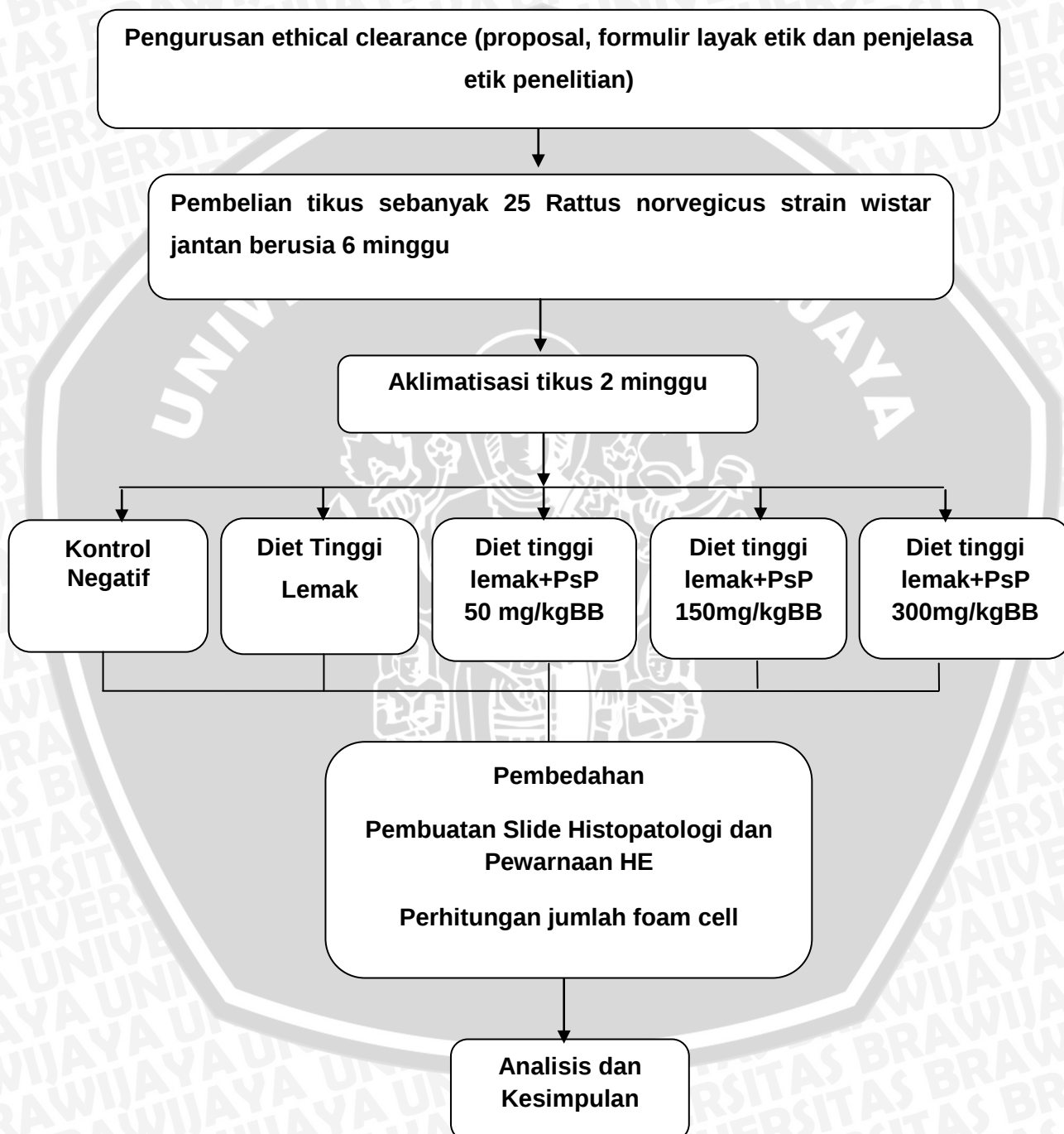
Alat :

- Mikroskop scan dot slide yang memproduksi digital mikroskopik dengan system sot slide yang dikembangkan oleh *Soft Imaging System GmbH (Olumpus Deutschland GmbH, Hamburg Germany)*. Dengan menggunakan mikroskop ini maka preparat akan terhubung dengan komputer sehingga hasil pemotretan dapat langsung tampak pada layar monitor dan dapat disimpan.
- Software khusus analisa hasil foto histo yakni *OlyVia*, software ini dipilih karena merupakan software khusus hasil pemotretan scan dot slide. Software ini dapat dikatakan sebagai produksi dari slide mikroskopik virtual dimana dapat menganalisa hasil foto slide dimanapun tanpa mikroskop, karena hasil scan slide preparat organ telah diambil sebelumnya serta disimpan dalam bentuk softcopy. Perbesaran yang digunakan adalah perbesaran objektif sebesar 40x dan perbesaran okular sebesar 10x.

4.6 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur	Skala Ukur
Peptida polisakarida (Psp) pada myselia <i>Ganodрма lucidum</i>	Pemberian kapsul yang mengandung kadar β - D-Glukan 57,78 %, yang di produksi oleh mitra SLH-Labs, Surabaya	Dosis 50 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, Dan 300 mg/kgBB yang diberikan selama 4 minggu	Mg/kgBB	Nominal / (-)
Foam cell	Foam cell dengan pewarnaan HE akan nampak sebagai sel yang besar dengan inti berwarna biru dan tepi yang kosong karena lemak akan luntur/lepas dengan pewarnaan HE sehingga nampak sebagai ruangan yang kosong diantara inti dengan membran sel.	Teridentifikasi pada pengecatan HE dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x dengan software <i>dot slide OlyVIA</i>	Sel	Rasio

4.7 Prosedur Penelitian



4.7.1 Pengurusan Ethical Clearance

Ethical Clearance atau pengurusan etik penelitian dilaksanakan dengan menyusun proposal terlebih dahulu kemudian akan dievaluasi oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.7.2 Persiapan Pemeliharaan Hewan Coba

Melakukan persiapan pemeliharaan hewan coba. Dimulai dengan persiapan alat dan bahan penelitian dan dilakukan seleksi tikus berdasarkan usia, berat badan, jenis kelamin, kesehatan. Tikus sebelumnya diaklimasi selama 2 minggu dengan diberi pakan normal yang terdiri dari comfeed PARS, tepung terigu, dan air. Diet diberikan sebanyak 40 g/ ekor tikus/ hari dari campuran bahan tersebut dan diberikan setiap hari. Diet diberikan pada siang hari pukul 12.00-14.00. Sisa pakan kemudian diambil dan ditimbang setelah 24 jam. Hasilnya kemudian dihitung sebagai rata-rata asupan pakan harian tikus/ kelompok/ hari.

Setelah aklimatisasi, tikus dibagi menjadi 5 kelompok kontrol negatif yang diberi diet normal, kelompok kontrol positif yang diberi diet tinggi lemak, kelompok perlakuan yang diberi diet tinggi lemak dan diberi PsP 50 mg, 150 mg dan 300 mg.

4.7.3 Pembuatan Diet Normal.

Diet normal merupakan diet yang diberikan untuk kelompok kontrol negatif. Diet normal merupakan asupan normal tikus dan tidak menimbulkan efek aterogenik. Diet normal dibuat dengan mencampur bahan-bahan

dengan komposisi PAR-S 25,6 gram, tepung terigu 14 gram, dan air 0,4 gram (Mutiyani, 2005). Semua bahan dicampur di dalam baskom. Setelah itu, ditimbang dan dibulatkan dengan berat 40 gram untuk satu tikus. Makanan diberikan 40 gram/tikus tiap harinya.

4.7.4 Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Pemakaian kolesterol, minyak babi dan asam kolat bertujuan untuk menginduksi peningkatan LDL darah. Minyak babi mempunyai kandungan kolestrol yang lebih tinggi dibandingkan dengan minyak hewani lainnya dan minyak nabati. Komposisi pakan aterogenik untuk tikus putih (*Rattus novergicus* strain Wistar) adalah pakan yang ditambah kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%. Asam kolat diberikan, karena tanpa penambahan asam kolat pemberian diet tinggi lemak selama 8 minggu tidak dapat meningkatkan kadar kolesterol dan terbentuknya sel busa yang bermakna. Pemberian komposisi pakan aterogenik ini diberikan selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menginduksi terbentuknya sel busa secara bermakna (Muwarni *et al.*, 2006).

4.7.5 Pembuatan dan Pemberian Psp

Proses Pembuatan Peptida polisakarida dibagi dalam 2 tahapan yaitu :

Proses up stream dan Proses down stream.

- Proses up stream : Pertama dilakukan pemilihan badan buah jamur *Ganoderma lucidum* lalu diinokulasi pada media Potato Dextrose Agar (PDA) hingga di dapatkan pertumbuhan miselia pada media PDA tersebut, kemudian miselia diinokulasi pada media cair dengan suhu inkubasi antara 24-26 °C, selama 40-50 hari di tempat gelap.

- Proses down stream : Pada proses down stream dimulai dengan pemanenan miselia *Ganoderma lucidum* serta homogenisasi kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi dan sentrifugasi yang selanjutnya dilakukan presipitasi (pengendapan) dan evaporasi serta liofilisasi sehingga didapatkan ekstrak padat kering dan kemudian diukur kadar β -1,3/1,6-D-Glukannya.

Cara melarutkan ekstrak polisakarida :

- Ekstrak dalam tiap vial dilarutkan dalam 100 ml aquadest panas $\pm 70 - 80^{\circ}\text{C}$.
- Diaduk dalam *beaker glass* menggunakan *magnetic stirrer* selama ± 1 jam dengan suhu $\pm 70 - 80^{\circ}\text{C}$.
- Larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring.
- Larutan dapat disimpan dalam *chiller* bersuhu $2-4^{\circ}\text{C}$ selama ± 1 minggu.

Pemberian Psp dilakukan secara per oral dengan metode sonde. Pemberian Psp dilakukan sekali setiap hari selama 4 minggu setelah 8 minggu pemberian diet tinggi lemak. Ketiga kelompok perlakuan Psp dengan dosis 50, 150 dan 300 mg/kgBB/hari.

4.7.6 Pembedahan Tikus

Pembedahan dilakukan pada hari ke-93. Hal itu dilakukan dengan pemberian anestesi terlebih dahulu. Anestesi diberikan per inhalasi dengan kloroform dalam suatu wadah tertutup. Kemudian menaruh tikus yang sudah diberi anestesi di atas steroform, fiksasi, lalu bedah mulai dari perut. Ambil aortanya lalu dimasukkan pada formalin 10 % untuk diawetkan sementara sebelum dibuat slide.

4.7.7 Pembuatan Slide Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

1. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan diteliti
2. Jaringan dipotong kurang lebih dengan ketebalan 2-3 mm.
3. Dimasukkan ke kaset sesuai dengan kode.
4. Dimasukkan ke dalam formalin 10% (fiksasi).
5. Di proses menggunakan alat/mesin tissue tex prosesor

Kemudian dilakukan pengeblokan dan pemotongan jaringan dengan prosedur sebagai berikut :

1. Jaringan diangkat dari mesin tissue tex prosesor.
2. Kemudian jaringan di blok dengan paraffin sesuai kode jaringan.
3. Jaringan dipotong dengan mesin microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.

Lalu dilakukan Deparafinisasi dengan prosedur sebagai berikut :

1. Setelah disayat atau dipotong sesuai dengan ketebalan, kemudian ditaruh dalam oven selama 1-2 jam dengan suhu 60° C, kemudian dimasukkan ke dalam larutan xylol, masing-masing 15 menit
2. Dicelupkan ke masing-masing tabung alkohol 96 % selama 3 menit.
3. Masukkan / cuci ke dalam air mengalir selama 10 menit.

Dan kemudian dilakukan pewarnaan HE, dengan metode sebagai berikut:

1. Beri jaringan cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit.
2. Cuci dengan air mengalir selama 15 menit.
3. Masukkan ke dalam alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup, lalu ke dalam amoniak air 3-5 celup.

4. Lalu masukkan ke dalam cat pembeding yaitu eosin 1% selama 15 menit.
5. Melakukan proses dehidrasi dengan memasukkan ke dalam alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, dan alkohol 96% selama 3 menit.
6. Dilakukan penjernihan dengan larutan xylol selama 15 menit sebanyak 2 kali.
7. Mounting dengan entelan dan deck glass.

4.7.8 Pembacaan dan Penghitungan *Foam cell*

- a. Pengamatan slide histopatologi menggunakan mikroskop *dot slide OlyViA* dengan perbesaran objektif 40x dan pebesaran ocular 10x pada area lapisan subendotel aorta tikus dengan pengulangan sebanyak 10 kali lapang pandang.
- b. Perhitungan secara kuantitatif jumlah *foam cell* di lapisan subendotel aorta dilakukan oleh peneliti di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan supervise dari dokter spesialis patologi anatomi sebagai konsultan ahli sebelumnya.

4.8 Pengolahan Data

Hasil perhitungan jumlah *foam cell* ada tikus kontrol dan perlakuan dianalisa secara statistik menggunakan program *Software Statistical Product and Service Solution (SPSS) for Windows* versi 16.0 dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p = 0,05$) dan taraf kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$). Langkah – langkah uji hipotesis komparatif dan korelatif adalah sebagai berikut :

- a. Uji Normalitas Data Shapiro-wilk : bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran normal atau tidak. Karena pemilihan penyajian data dan uji hipotesis tergantung dari normal tidaknya distribusi data. Untuk penyajian data yang terdistribusi normal maka digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Sedangkan untuk penyajian data yang tidak terdistribusi normal digunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametrik. Sedangkan jika sebaran data tidak normal digunakan uji non parametrik. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah Uji normalitas Shapiro wilk karena jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini kurang dari 50 ($n \leq 50$), dimana suatu data dikatakan memiliki sebaran normal jika $p > 0,05$.
- b. Uji Homogenitas Levene : bertujuan untuk menguji berlaku atau tidaknya asumsi ANOVA, yaitu apakah data yang diperoleh dari setiap perlakuan memiliki varian yang homogen. Jika didapatkan varian yang homogen, maka analisa dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA. Pada uji homogenitas levene suatu data dikatakan memiliki varian yang homogen bila nilai signifikansi $p > 0,05$.
- c. Uji *One-way ANOVA* : bertujuan untuk membandingkan nilai rata – rata dari masing – masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan. Perbedaan pada dua kelompok dianggap bermakna bila $p < 0,05$.

- d. Uji *Post hoc* (Uji *Least Significant Difference*) : bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji *Post Hoc* yang digunakan adalah Uji LSD dengan tingkat signifikansi 95 % ($p < 0,05$).
- e. Uji Korelasi *Pearson* : bertujuan untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih yang berskala interval (parametrik). Juga untuk mengetahui besarnya perbedaan secara kualitatif kelompok yang berbeda signifikan, yang telah ditentukan sebelumnya dari hasil uji *Post Hoc* (LSD)



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

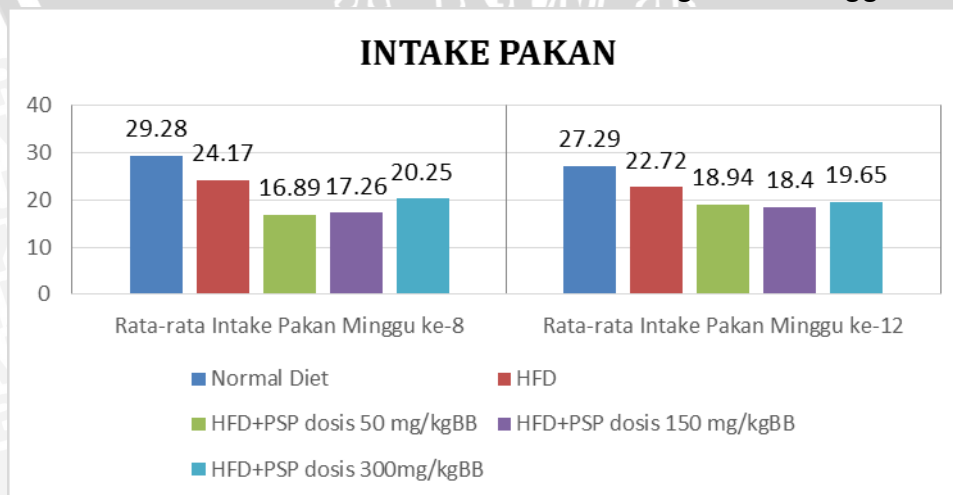
Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian Peptida Polisakarida (PSP) dalam menghambat pembentukan aterosklerosis pada tikus model aterosklerosis yang diinduksi diet tinggi lemak. Mekanisme penghambatan pembentukan aterosklerosis dengan mengidentifikasi parameter *Foam cell* Aterosklerosis. Penelitian ini menggunakan analisis Oneway ANOVA untuk menganalisis perbedaan kadar masing-masing indikator di tiap-tiap kelompok perlakuan guna menjelaskan pengaruh PSP dalam menurunkan jumlah foam cell.

Berikut ini akan disajikan grafik tentang intake pakan dan berat badan dari tikus model aterosklerosis pada tiap kelompok perlakuan.

5.1 Intake Pakan dan Berat Badan

Untuk mengetahui perkembangan dari tikus model aterosklerosis, maka digunakan analisis hubungan antara berat badan dan intake pakan.

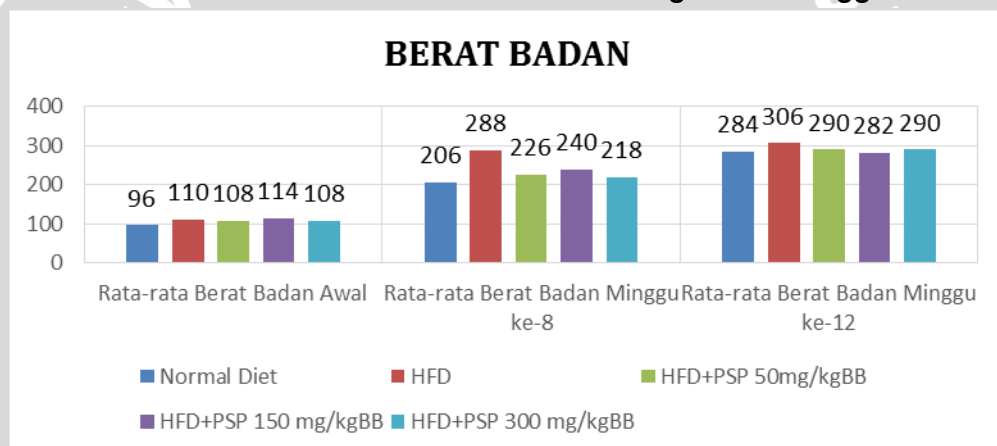
5.1.1 Intake Pakan Tikus Model Aterosklerosis dengan Diet Tinggi Lemak



Gambar 5.1.1. Grafik Rerata Intake Makan Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Model Aterosklerosis

Berdasarkan perhitungan rata-rata intake pakan tikus model aterosklerosis setelah pember 52 iet tinggi lemak (High Fat Diet), menunjukkan gambaran perubahan yang tidak terlalu menonjol dari minggu ke-8 hingga minggu ke-12. Hal ini menunjukkan bahwa intake pakan tikus model aterosklerosis stabil.

5.1.2 Berat Badan Tikus Model Aterosklerosis dengan Diet Tinggi Lemak



Gambar 5.1.2. Grafik Rerata Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Model Aterosklerosis

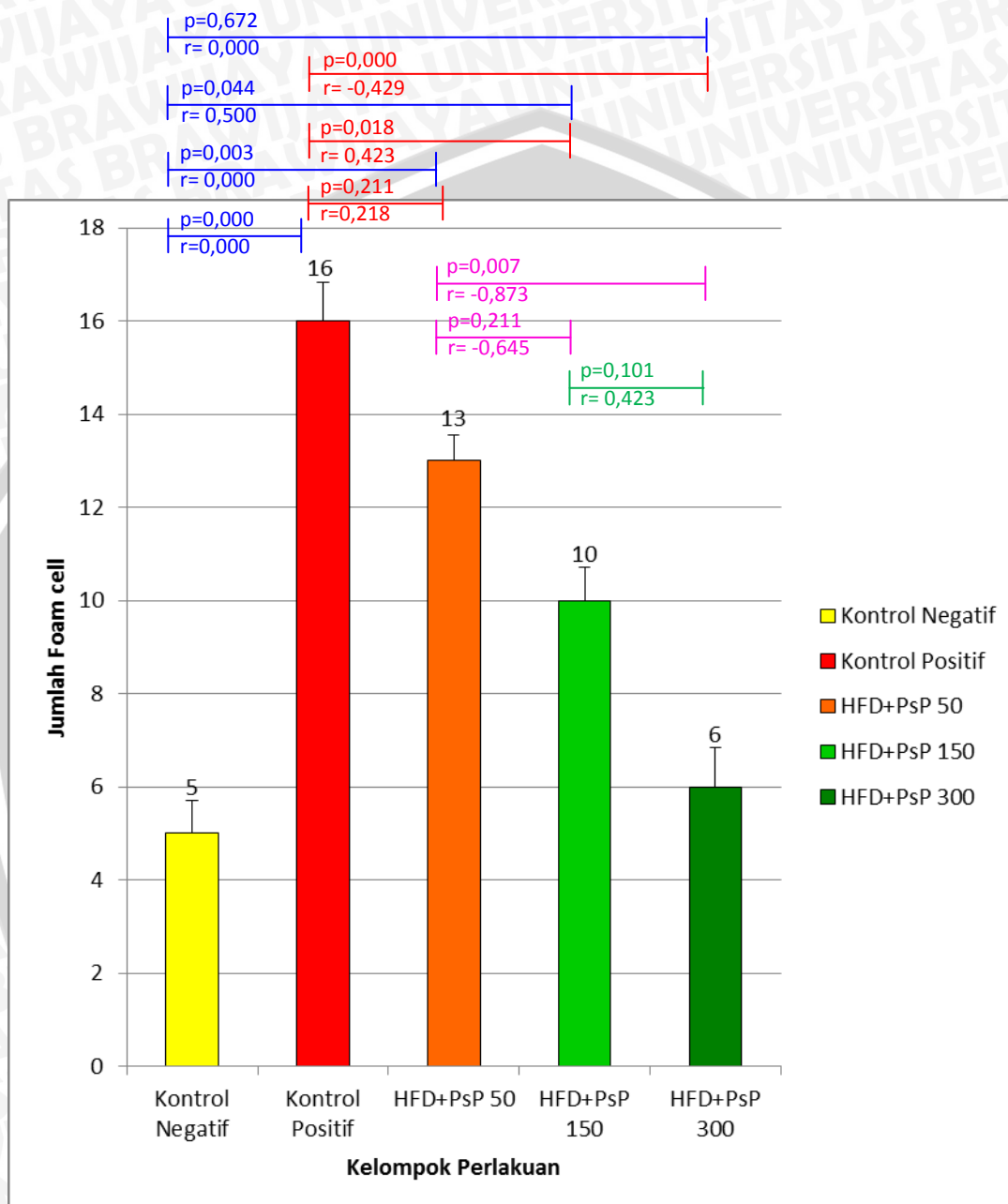
Berdasarkan perhitungan rata-rata berat badan setiap kelompok tikus model aterosklerosis didapatkan grafik diatas yang menunjukkan suatu perubahan signifikan, yaitu dengan meningkatnya berat badan masing - masing kelompok dalam jangka waktu 8 minggu dan 12 minggu perlakuan.

5.1.3 Analisis Deskriptif

Tabel 5.1.3.1. Statistik Deskriptif Jumlah *Foam Cell* pada Tikus Model Aterosklerosis

Kelompok Perlakuan	N	Mean ± Std. Deviation
Kontrol Negatif	5	1.0000 ± 0.707107
Kontrol Positif	5	3.2000 ± 0.83666
HFD + PSP 50	5	2.6000 ± 0.547723
HFD + PSP 150	5	2.0000 ± 0.707107
HFD + PSP 300	5	1.2000 ± 0.83666
Total	25	2.0000 ± 1.080123

Berdasarkan table 5.1.3.1, nilai tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol positif (K+) yang mempunyai nilai rata – rata *foam cell* sejumlah 3.2000 ± 0.83666 , sedangkan nilai tertendah terdapat pada kelompok (K-) dengan jumlah rata – rata *foam cell* 1.0000 ± 0.707107 yang hampir tidak berbeda signifikan dengan kelompok HFD + PsP dosis 300 mg/kgBB yang menunjukkan rata – rata *foam cell* sejumlah 1.2000 ± 0.83666 . Rata-rata jumlah *foam cell* ditampilkan pada Gambar 5.1.3.1 berikut ini.

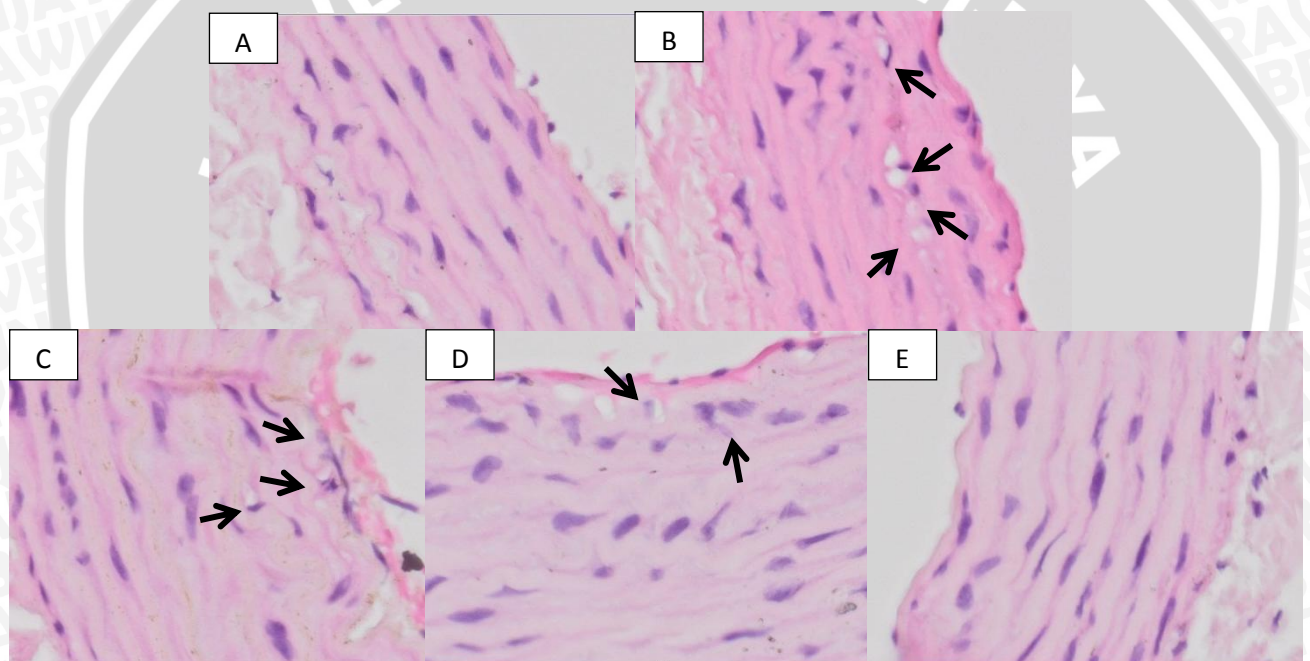


Gambar 5.1.3.1. Grafik Rerata Jumlah *Foam Cell* pada berbagai kelompok perlakuan Tikus Model Aterosklerosis (*p value* menunjukkan nilai beda signifikansi dari uji post hoc, *r* menunjukkan nilai uji korelasi pearson, dan error bars menunjukkan rata-rata dari standart deviasi)

Gambar 5.1.3.1. Menjelaskan secara deskriptif, bahwa kelompok HFD + PSP memiliki rerata jumlah *Foam Cell* yang lebih rendah dibanding

kelompok control positif. Pemberian PSP dengan peningkatan dosis terlihat cenderung diikuti dengan penurunan rata-rata jumlah *Foam cell*.

Adapun pada pengecatan HE yang diamati dengan menggunakan mikroskop *dot slide OlyVia* dengan pembesaran 40 kali, didapatkan gambaran histopatologi jumlah *foam cell* aorta tikus model aterosklerosis dengan diet tinggi lemak yang telah diberikan peptida polisakarida pada masing - masing kelompok dosis perlakuan, seperti berikut :



Gambar 5.1.3.2 A. Histopatologi foam cell pada kelompok kontrol (-), **B.** Histopatologi foam cell pada kelompok kontrol (+), **C.** Histopatologi foam cell pada kelompok hewan coba dengan perlakuan diet tinggi lemak + PsP 50 mg /kgBB, **D.** Histopatologi foam cell pada kelompok perlakuan diet tinggi lemak + PsP 150 mg /kgBB, **E.** Histopatologi foam cell pada kelompok perlakuan diet tinggi lemak + PsP 300 mg /kgBB.

5.2 Analisa Data

Data yang didapatkan dari penelitian ini dianalisis menggunakan program analisis statistik SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi

16.0 dengan menggunakan metode uji statistika *Analysis of Variance* (ANOVA) One – way. Sebelum melakukan analisis data dengan uji ANOVA, maka harus dipenuhi syarat – syarat dalam uji one-way ANOVA untuk data lebih dari dua kelompok data tidak berpasangan. Syarat uji one-way ANOVA adalah populasi yang diuji berdistribusi normal dan varian dari populasi – populasi tersebut adalah sama atau homogen.

5.2.1 Uji Normalitas Shapiro-wilk

Untuk mengetahui normalitas data dapat ditentukan dengan menggunakan uji Shapiro wilk (lihat lampiran) karena sampel yang digunakan pada penelitian ini ada 25 ekor ($n \leq 50$), dimana suatu data dikatakan memiliki sebaran normal jika nilai $p > 0,05$ Adapun hasil dari uji normalitas data pada penelitian ini didapatkan nilai $p = 0,067$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data pada penelitian ini memiliki persebaran yang normal, dengan demikian dapat dilakukan uji selanjutnya.

5.2.2 Uji Homogenitas Levene

Setelah mengetahui bahwa data terdistribusi normal, selanjutnya menentukan apakah data jumlah *foam cell* memiliki varian yang berbeda atau tidak dengan menggunakan uji homogenitas *Levene* (lihat lampiran). Pada uji homogenitas *Levene* suatu data dikatakan memiliki varian yang homogen bila nilai signifikasi $p > 0,05$ (Dahlan, 2008). Pada table uji homogenitas didapatkan bahwa data mempunyai varian yang sama ($p > 0,05$) dengan nilai $p = 0,825$. Dengan demikian maka analisa data dapat dilakukan dengan menggunakan uji *One – way ANOVA*.

5.2.3 Uji One-way ANOVA

Tabel 5.2.3.1 Uji One-way ANOVA

jumlah foam cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.200	4	4.300	7.963	.001
Within Groups	10.800	20	.540		
Total	28.000	24			

$p < 0,05$ menunjukkan nilai signifikansi dari uji ANOVA

Pada uji statistic ini, yang dievaluasi adalah perbedaan jumlah *foam cell* antar kelompok. Berdasarkan uji statistik ini dapat diketahui apakah terdapat perbedaan jumlah *foam cell* yang signifikan antar kelompok. Perbedaan rata – rata jumlah foam cell dianggap bermakna apabila nilai $p < 0,05$ atau dengan kata lain H_0 ditolak. Pada uji ANOVA ini H_0 yang diajukan adalah “tidak terdapat perbedaan bermakna mengenai jumlah foam cell antar kelompok.” Dari hasil pengujian didapatkan nilai $p = 0,001$ (lihat lampiran) dan berdasarkan hasil tersebut maka H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan bahwa “terdapat perbedaan jumlah foam cell yang bermakna antar dua kelompok yang berbeda.”

5.2.4 Uji Post Hoc LSD

Berdasarkan uji *Oneway ANOVA* diketahui setidaknya ada dua kelompok yang berbeda. Maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan dapat menggunakan Uji *Post Hoc LSD* dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 5.2.4.1. Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Post Hoc LSD

Nilai p	Kontrol (-)	Kontrol (+)	PsP 50mg/kgBB	PsP 150mg/kgBB	PsP 300mg/kgBB
Kontrol (-)	-	0.000	0.003	0.044	0.672
Kontrol (+)	0.000	-	0.211	0.018	0.000
PsP 50mg/kgBB	0.003	0.211	-	0.211	0.007
PsP 150mg/kgBB	0.044	0.018	0.211	-	0.101
PsP 300mg/kgBB	0.672	0.000	0.007	0.101	-

P<0,05 menunjukkan adanya beda signifikan pada uji post hoc LSD

Pada uji *Post Hoc LSD*, suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$. Berdasarkan output uji tersebut didapatkan hasil bahwa :

- Terdapat perbedaaan yang bermakna antara K(-) dengan K(+) ($p=0.000$) serta dengan kelompok perlakuan HFD + PsP dosis 50 mg/kgBB ($p=0,003$) dan HFD + PsP dosis 150 mg/kgBB ($p=0,044$), namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok perlakuan HFD + PsP dosis 300 mg/kgBB ($p=0,672$)

- Sedangkan pada K(+) terdapat perbedaan bermakna dengan K(-) ($p = 0.000$) juga dengan kelompok HFD + PsP dosis 150 mg/kgBB ($p=0,018$), dan kelompok HFD + PsP dosis 300 mg/kgBB ($p=0,000$), namun tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok HFD + PsP dosis 50 mg/kgBB ($p=0.211$).
- Dan bila dibandingkan kelompok perlakuan HFD + PsP dosis 150 mg/kgBB dengan kelompok perlakuan HFD + PsP dosis 300 mg/kgBB tidak memiliki perbedaan yang cukup signifikan ($p=0.101$).
- Sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok PsP dosis 150 mg/kgBB cukup efektif dalam menurunkan jumlah *foam cell* dan penurunan ini berbanding lurus pada dosis berikutnya.

5.2.5 Uji Korelasi Pearson

Korelasi Pearson digunakan untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih yang berskala interval (parametrik). Dalam hal ini, uji korelasi pearson digunakan untuk membuktikan korelasi antara peningkatan dosis PsP dari *Ganoderma lucidum* terhadap jumlah *foam cell* di subendotel aorta tikus Wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak. Agar penafsiran dapat dilakukan sesuai dengan ketentuan, perlu diketahui kriteria yang menunjukkan kuat atau lemahnya korelasi, yaitu sebagai berikut (Sarwono, 2009) :

Nilai korelasi 0	= tidak ada korelasi antara dua variabel
Nilai korelasi $>0-0,25$	= sangat lemah
Nilai korelasi $>0,25-0,5$	= lemah
Nilai korelasi $>0,5-0,75$	= kuat
Nilai korelasi $>0,75-0,99$	= sangat kuat

Nilai korelasi 1 = sempurna

Korelasi dapat positif dan negatif. Korelasi positif menunjukkan arah yang sama hubungan antar variabel, artinya jika variabel 1 besar, maka variabel 2 semakin besar pula. Sebaliknya korelasi negatif menunjukkan arah yang berlawanan, artinya jika variabel 1 besar, maka variabel 2 menjadi kecil. Dalam hal ini adalah korelasi antara jumlah *foam cell* dengan dosis PsP.

Signifikansi hubungan dua variabel dapat dianalisis dengan ketentuan, jika probabilitas atau signifikansi $< 0,05$, maka hubungan kedua variabel signifikan. Hasil perhitungan korelasi pearson terhadap data penelitian (lampiran) adalah sebagai berikut :

1. Kekuatan korelasi (r) = - 0,743 dengan demikian terdapat korelasi yang sangat kuat antara dosis PsP dari *Ganoderma lucidum* dengan jumlah *foam cell* pada subendotel aorta tikus wistar.
2. Arah korelasi adalah negative, sehingga semakin besar dosis PsP dari *Ganoderma lucidum*, maka semakin kecil jumlah *foam cell* pada subendotel aorta tikus wistar.
3. Nilai $p = 0,000$ dengan demikian terdapat korelasi yang bermakna antara dosis PsP dari *Ganoderma lucidum* dengan jumlah *foam cell* pada subendotel aorta tikus wistar ($p < 0,05$).

Sedangkan uji korelasi pearson antar kelompok ditunjukkan pada (gambar 5.1.3.1).

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan selama 12 minggu atau 3 bulan terhadap 25 ekor hewan coba tikus wistar jantan untuk mengetahui efek dari peptida polisakarida pada myselia *Ganoderma lucidum* terhadap jumlah *foam cell* pada tikus wistar jantan yang diberi diet tinggi lemak. Perlakuan pada tikus wistar pada penelitian ini terdiri dari 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K-) dengan pemberian diet normal saja, kelompok kontrol positif (K+) dengan pemberian diet tinggi lemak saja, kelompok perlakuan pertama dengan pemberian diet tinggi lemak dan peptida polisakarida myselia *Ganoderma lucidum* dengan dosis 50 mg/kgBB, perlakuan kedua dengan pemberian diet tinggi lemak dan pemberian peptide polisakarida myselia *Ganoderma lucidum* dengan dosis 150 mg/kgBB, perlakuan ketiga dengan pemberian diet tinggi lemak dan peptida polisakarida myselia *Ganoderma lucidum* dengan dosis 300 mg/kgBB.

6.1 *Foam Cell* pada Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan yang diberi Diet Normal.

Hasil perhitungan rata - rata jumlah *foam cell* di subendotel tikus wistar pada kelompok kontrol negatif atau kelompok tikus yang hanya diberikan diet normal saja adalah $1,0000 \pm 0,707107$ *foam cell*. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa diet normal pada kelompok tikus ini dapat dijadikan sebagai kontrol (-), bila kita merujuk pada teori proses terjadinya hiperkolesterolemia, pada kelompok kontrol (-) seharusnya angka kejadian

hiperkolesterolemia sangat minimal, dikarenakan tidak terdapat kandungan kolesterol tambahan (seperti asam kolat, minyak babi, minyak kambing, minyak kelapa, kuning telur bebek) didalam diet yang memicu terjadinya dislipidemia pada kelompok tikus kontrol (-). Hal ini dapat dilihat dari jumlah bentukan foam cellnya, sehingga dengan kata lain kemungkinan untuk terjadinya hiperkolesterolemia dan dislipidemia yang memicu adanya stress oksidatif serta aterosklerosis juga minimal, selain itu juga dapat dilihat dari hasil penimbangan berat badan tikus pada kelompok kontrol (-) yang menunjukkan posisi paling rendah diantara kelompok perlakuan yang lain.

Sejalan dengan penelitian lain yang mengatakan bahwa analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan karena tikus pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan diet normal, atau tidak diberikan diet atherogenik yang tinggi lemak, sehingga proses atherosklerosis tidak terjadi (Krisna, Pratista A., 2012).

6.2 Foam Cell pada Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan yang diberi Diet Tinggi Lemak.

Menurut hasil perhitungan rata – rata jumlah *foam cell* di subendotel tikus wistar pada kelompok kontrol positif didapatkan rerata $3,2000 \pm 0,83666$ foam cell. Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif ($p < 0.05$) dengan kelompok kontrol negatif dan dengan kelompok perlakuan. Hal ini terjadi dikarenakan pemberian diet tinggi lemak. Diet tinggi lemak terdiri atas penambahan kolesterol dan minyak babi yang bertujuan untuk meningkatkan serum

kolesterol dalam darah dan asam kolat yang berfungsi untuk menjaga kestabilan kolesterol dalam darah pada asupan makanan sehingga diet atherogenik ini menginduksi terjadinya hiperlipidemia (Mutiyani, M. 2005).

Hiperlipidemia menyebabkan peningkatan ROS dan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel. Disfungsi endotel akan menyebabkan infiltrasi LDL ke dalam subendotel aorta. Hiperlipidemia juga berhubungan dengan LDL yang tinggi. Jika LDL terlalu tinggi maka reseptor LDL pada hepatosit dan membrane sel jaringan lainnya tidak cukup untuk berikatan dengan jumlah kolesterol LDL yang ada. Sehingga LDL tetap bebas beredar dalam darah (Wibowo, Joko Wahyu. 2003). LDL yang menembus endotel dan mengalami proses oksidasi berubah menjadi LDL teroksidasi (Ox-LDL). Melalui scavenger reseptor makrofag memfagosit Ox-LDL dan berubah menjadi sel busa (sel foam) (Su, Jun. 2009).

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Gani (2013) bahwa diet hiperkolesterolemia dapat meningkatkan kadar kolesterol total dan kadar LDL dalam darah.

Dan jika dikaitkan dengan penelitian lain bahwa dengan pemberian diet tinggi lemak dapat menimbulkan stress oksidatif terhadap endothel melalui mekanisme dislipidemia, dengan kandungan profil lipid (Kolesterol total, LDL, VLDL, TG) yang tinggi dan kandungan HDL yang rendah. Stress oksidatif akan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel dan produksi *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* yang berlebihan sehingga akan mengoksidasi LDL ekstraseluler. Oksidasi LDL akan menghasilkan partikel proinflamasi proaterosklerosis yang merupakan perkembangan dari terjadinya aterosklerosis. Yang kemudian akan ditangkap oleh *Macrophage-*

derived monocyte melalui *scavenger receptor*. Selanjutnya oksidasi LDL yang mengalami kematian akibat fagositosis oleh makrofag terakumulasi membentuk *foam cell*. *Foam cell* ini yang akan membentuk agregat dan lama-kelamaan akan membentuk *fatty streak* sehingga meningkatkan resiko terjadinya aterosklerosis (Moffat J.R dan Stamford B. 2006).

Pada diet tinggi lemak mengandung komposisi kolesterol, minyak babi, dan juga asam kolat yang menginduksi peningkatan LDL pada tikus wistar, yang mana peningkatan LDL ini merupakan awal terbentuknya *foam cell*. Penelitian ini sesuai dengan penelitian dari Nugroho (2005) yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan jumlah *foam cell* pada aorta tikus wistar yang diberikan pakan diet tinggi lemak (Nugroho, 2005).

Diet tinggi lemak mengandung lemak tinggi (47.8% dari total energi) dengan kandungan asam lemak jenuh dan kolesterol tinggi yang berasal dari asam kolat, minyak babi, kuning telur bebek, minyak kelapa sawit, dan minyak kambing. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Murwani (2005) bahwa pemberian pakan ternak selama 8 minggu dapat meningkatkan kadar kolesterol darah dan menginduksi terbentuknya *foam cell* (Murwani,2005). Asam kolat juga dapat merubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik yaitu menurunkan kadar HDL dan meningkatkan kadar LDL plasma. Pada kadar yang tinggi, asam kolat dapat mengiritasi membrane mukosa, jika diberikan secara parenteral akan bersifat lebih toksik dan menyebabkan hemolisis, mempercepat kerja jantung, dan mempengaruhi system saraf pusat. Pemberian kolesterol bersama asam kolat memberikan efek sinergis terhadap kadar lipid dalam plasma hepar (Murwani, 2005).

Asupan tinggi asam lemak jenuh dan kolesterol menyebabkan konsentrasi kolesterol yang ada dalam tubuh meningkat dan menurunkan sintesis dan aktivitas reseptor LDL. Setiap asupan lemak jenuh 1% dari total energi sehari dapat meningkatkan 2,7 mg/dl kadar kolesterol (Murray et al., 2006).

Bahan makanan yang kaya akan sumber lemak jenuh merupakan pencetus timbulnya penyakit pembuluh darah. Salah satunya dengan konsumsi bahan makanan yang mengandung kolesterol tinggi. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Handayani (2007) yang mengemukakan bahwa terjadi peningkatan kadar kolesterol dalam darah secara signifikan, dengan mengkonsumsi sumber lemak jenuh yang tinggi kandungan kolesterolnya (Handayani K 2009). Minyak babi mengandung kolesterol lebih tinggi dibandingkan minyak nabati dan minyak hewani lainnya, sehingga diharapkan pemberian diet tinggi lemak yang mengandung minyak babi dapat meningkatkan kadar kolesterol serta meningkatkan terjadinya oksidasi LDL sehingga dapat meningkatkan jumlah *foam cell* pada aorta (Handayani D, 2009).

6.3 *Foam Cell* pada Aorta Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan yang diberi Peptida Polisakarida dari *Myselia Ganoderma lucidum*.

Dari hasil pengukuran didapatkan bahwa kelompok perlakuan pertama (dosis 50mg/kgBB) memiliki nilai rata – rata jumlah *foam cell* sebesar $2,6000 \pm 0,547723$, kelompok perlakuan kedua (dosis 150mg/kgBB) sebesar $2,0000 \pm 0,707107$, dan untuk kelompok perlakuan ketiga (dosis

300mg/kgBB) memiliki rata – rata jumlah foam cell sebesar $1,2000 \pm 0,83666$. Pada uji *One – Way ANOVA* diperoleh nilai $p = 0,001$ ($p < 0.05$) sementara hasil uji *Post – Hoc* didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara jumlah foam cell di subendotel aorta tikus wistar pada kelompok kontrol positif K (+) dengan kelompok perlakuan kedua (A-150) dan ketiga (A-300). Dimana untuk kelompok tikus kontrol negatif K(-) dan A-300 memiliki rata-rata jumlah foam cell yang tidak terdapat perbedaan secara bermakna. Jumlah foam cell kelompok – kelompok tersebut berbeda signifikan dengan kelompok positif (K+), A-50 dan A-150. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian peptida polisakarida dari myselia *Ganoderma lucidum* pada tikus wistar jantan bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak selama 4 minggu, setelah 8 minggu hanya diberikan diet tinggi lemak saja, didapatkan hasil bahwa peptida polisakarida dari myselia *Ganoderma lucidum* mampu menghambat pembentukan foam cell di subendotel aorta tikus secara bermakna ($p < 0.05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang hanya diberi diet tinggi lemak saja.

Penelitian ini menunjukkan bahwa peptida polisakarida (PsP) dapat menurunkan jumlah foam cell secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini didukung penelitian lain yang menyebutkan bahwa peptida polisakarida memiliki efek anti oksidan (Lu et al., 2001).

Peptida polisakarida juga dapat meningkatkan respon kekebalan host dengan menstimulasi produksi makrofag, sel NK, dan T-limfosit. Juga bekerja sebagai anti-oksidan dengan mengurangi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS dan mencegah rantai DNA istirahat. Dalam hal ini juga mencegah angiogenesis tumor yang diturunkan dengan mengurangi

proliferasi HUVEC dan dengan menghambat sekresi faktor angiogenik seperti VEGF dan TGF- β 1 (Chi H.J. Kao.*et.al*, 2013)

Mekanisme antioksidan dalam menekan kolesterol darah dengan cara melindungi LDL terhadap oksidasi dan melindungi pembentukan LDL teroksidasi sehingga meningkatkan aktivitas reseptor LDL, menghasilkan sedikit adesi monosit, berkurangnya pembentukan sel busa, melindungi pembentukan platelet, mengurangi kerusakan kimia, dan mengurangi toksisitas terhadap sel-sel vaskular (Diaz MN,B, 1997; Sesso HD, 2003). Selain itu, antioksidan melindungi sel dari Reactive Oxygen Species (ROS) atau species radikal lainnya melalui mekanisme scavenger radikal-oksigen seperti enzim katalase, superoksida dismutase dan glutathion peroksidase (Langseth, L, 1995).

6.4 Perbedaan Jumlah *Foam cell* pada Masing – Masing Kelompok Perlakuan.

Berdasarkan penelitian, kelompok perlakuan yang diberi peptida polisakarida 50 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB setiap harinya diketahui cenderung mampu menurunkan risiko peningkatan jumlah *foam cell* pada kelompok perlakuan tikus dengan diet tinggi lemak. Hal ini dibuktikan dari hasil perhitungan yang dilakukan dimana jumlah *foam cell* semakin menurun disetiap perlakuan diet tinggi lemak dengan pemberian peptida polisakarida.

Bila dilihat diantara 3 kelompok perlakuan yang diberi peptida polisakarida diketahui bahwa jumlah *foam cell* paling rendah terdapat pada kelompok A-300 yaitu kelompok yang mendapat diet tinggi lemak dan peptida polisakrida 300 mg/kgBB. Melalui Uji *Pos Hoc* menunjukkan bahwa

jumlah *foam cell* kelompok tikus normal K(-) dan A-300 memiliki rata-rata jumlah *foam cell* yang tidak terdapat perbedaan secara bermakna. Sedangkan bila Kelompok K (+) dibandingkan dengan kelompok dosis perlakuan, kelompok yang memiliki nilai beda signifikan adalah kelompok HFD+PsP 150 mg/kgBB dan HFD+PsP 300 mg/kgBB. Kemudian antar kelompok tersebut kita bandingkan apakah ada nilai beda yang signifikan, dan pada penelitian ini ternyata kelompok perlakuan HFD+PsP 150 mg/kgBB dan HFD+PsP 300 mg/kgBB tidak memiliki nilai beda yang signifikan ($p=0,101$). Sedangkan bila dilihat dari korelasinya antara HFD+PsP 150mg/kgBB dengan HFD+PsP dosis 300 mg/kgBB memiliki nilai $r = 0,423$ dengan kata lain memiliki nilai korelasi yang lemah. Hal ini menunjukkan bahwa peptida polisakarida mampu menurunkan jumlah *foam cell* pada aorta tikus. Dilihat dari jumlah *foam cell* aortanya dapat disimpulkan bahwa dosis awal peptida polisakarida dapat menurunkan jumlah *foam cell* pada tikus adalah kelompok perlakuan HFD+PsP 150 mg/kgBB dan penurunan jumlah *foam cell* ini berbanding lurus dengan dosis berikutnya.

Penelitian ini menunjukkan bahwa peptida polisakarida (PsP) dapat menurunkan jumlah *foam cell* secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini didukung penelitian lain yang menyebutkan bahwa peptida polisakarida memiliki efek anti oksidan. Lu et al. (2001) menunjukkan bahwa pengobatan diet menggunakan miselium *Ganoderma* yang diturunkan dari ekstrak polisakarida dapat digunakan untuk menekan pembentukan kolon menyimpang crypt fokus pada tikus mungkin melalui

mengurangi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS (Lu HM, 2001; Lu .H, 2003).

Peptida polisakarida juga dapat meningkatkan respon kekebalan host dengan menstimulasi produksi makrofag, sel NK, dan T-limfosit. Juga bekerja sebagai anti-oksidan dengan mengurangi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS dan mencegah rantai DNA istirahat. Dalam hal ini juga mencegah angiogenesis tumor yang diturunkan dengan mengurangi proliferasi HUVEC dan dengan menghambat sekresi faktor angiogenik seperti VEGF dan TGF- β 1 (Chi H.J. Kao.*et.al*, 2013)

Mekanisme antioksidan dalam menekan kolesterol darah dengan cara melindungi LDL terhadap oksidasi dan melindungi pembentukan LDL teroksidasi sehingga meningkatkan aktivitas reseptor LDL, menghasilkan sedikit adesi monosit, berkurangnya pembentukan sel busa, melindungi pembentukan platelet, mengurangi kerusakan kimia, dan mengurangi toksisitas terhadap sel-sel vaskular (Diaz MN,B, 1997; Sesso HD, 2003). Selain itu, antioksidan melindungi sel dari Reactive Oxygen Species (ROS) atau species radikal lainnya melalui mekanisme scavenger radikal-oksigen seperti enzim katalase, superoksida dismutase dan glutathion peroksidase (Langseth, L, 1995).

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian peptida polisakarida dari myselia *Ganoderma lucidum* memiliki pengaruh dalam menghambat pembentukan jumlah *foam cell* disubendotel aorta tikus wistar yang diberi asupan diet tinggi lemak.

Didukung oleh penelitian lain yang mengatakan bahwa pada peptida Polisakarida diduga zat bioaktif yang mempunyai aktivitas antiinflamasi dan

antioksidan berperan dalam menurunkan jumlah foam cell adalah senyawa β -D-Glucan. Pada penelitian lain disebutkan bahwa β -D-Glucan juga dapat digunakan sebagai imunomodulator yang dikenal untuk mengurangi peradangan yang sudah ada (Ramprasath VR, 2006).

Dikatakan pula pada penelitian lain bahwa pemberian ekstrak beta glukukan dari *Saccharomyces cerevisiae* mampu menekan kolesterol darah tikus melalui aktivitas antioksidannya (Andriani Yosie. 2007).

Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang juga mengungkapkan bahwa pemberian antioksidan dapat menurunkan stres oksidatif sehingga dapat menghambat aterogenesis melalui penghambatan oksidasi LDL dan menurunkan produk-produk seluler serta mengurangi ROS pada sel endotel (Collins, Tucker.et.al, 2001).



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa PsP yang diisolasi dari myselia *Ganoderma lucidum* mempunyai efek menurunkan jumlah bentukan *foam cell* pada pemeriksaan histologi aorta tikus secara bermakna pada dosis 150 mg/kg BB/hari.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan varian dosis yang lebih beragam untuk mengetahui rentang dosis efektif dan dosis toksik PsP dari ekstrak *Ganoderma lucidum*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai waktu penelitian yang lebih lama dan persiapan yang lebih matang dibandingkan penelitian ini yang hanya dilakukan selama 12 minggu, untuk mengetahui perkembangan lesi aterosklerosis secara progresif.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan kandungan lainnya dari ekstrak *Ganoderma lucidum* dalam pencegahan maupun terapi dari aterosklerosis pada umumnya dan bentukan *foam cell* pada khususnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ando,H, Tsuruoka,S, Yamamoto,H, Takamura,T, Kaneko,S, Fujimura,A:
Regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase mRNA expression in C57BL/6
mice fed an atherogenic diet. *Atherosclerosis* 178(2):265-269, 2005.
- Andriani Yosie. 2007. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beta Glukan dari Saccharomyces Cerevisiae* . Jurnal Gradien Vol.3 No.1 Januari 2007 : 226-230. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu, Indonesia
- Anwar, T. Bahri. 2004. *Dislipidemia sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara
- Bauerova K, Paulovicova E, Mihalova D, Svik K, Ponist S (2009) Study of new ways of supplementary and combinatory therapy of rheumatoid arthritis with immunomodulators, Glucomannan and Immunoglukan in adjuvant arthritis. *Toxicol Industry Health* 25:329–335
- Boh B, Berovic M, Zhang J, Zhi-Bin L. *Ganoderma lucidum* and its Pharmaceutically active compounds. *Biotechnology Annual Review*; 2007.13. 265-301
- Boudi, Brian. 2010. *Atherosclerosis and Risk Factor*. Dalam <http://emedicine.medscape.com/article/150916-diagnosis>. Diakses tanggal 16 Oktober 2010. Pukul 20.00 WIB
- Bowman SM, Free SJ. The structure and synthesis of the fungal cell wal Bioessays. 2006;28:799-808.
- Chi H.J. Kao, Amalini C. Jesuthasan, Karen S. Bishop, Marcus P. Glucina, and Lynnette R. Ferguson. *Anti-cancer Activities of Ganoderma lucidum: Active*

Ingredients and Pathways. Functional Foods in Health and Disease 2013; 3(2):48-65

Collins, Tucker., Cybulsky, Myron I. NF-KB : Pitoval Mediator Or Innocent Bystander In Atherogenesis ?. The Journal Of Clinical Investigation, 2001; 107(3):255-263.

Cotti Elisabetta, Dessi Cristina, Piras Alessandra, Mercurio Guiseppe. Can a chronic dental infection be considered a cause of cardiovascular disease?. A Review of The Literature. International Journal of Cardiology. 2010. Available from : <http://www.endoexperience.com/documents/Canachronicdentalinfectionbeco sideredacauseofcardiovasculariseaseCottietal2010.pdf> . Diakses pada tanggal 06 Januari 2014. Pukul 21.50 WIB

Crowe S.M., Westhorpe C.L.V., Mukhamedova N., Jaworowsky A., Sviridov D., Bukrinsky M. The macrophage : the intersection between HIV infection and atherosclerosis. 2010. Journal of Leukocyte Biology, 87: 589-95

Curtiss, Ph.D., Linda K.2009.*Reversing Atherosclerosis*.The New England Journal of Medicine vol 360 (11):1144-1146.

Danusantoso, halim. 2003. *Peran Radikal Bebas terhadap Beberapa Penyakit Paru*. J Kedokter Trisakti. Januari- April 2003, Vol 22 No.1

Dahlan, Spiyudin M, 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan, Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat, dilengkapi dengan Menggunakan SPSS*. Salemba Medika, Jakarta.

Diaz MN,B Frey,JA Vita,JF Keaney, Antioxidants and atherosclerotic heart isease, 1997, The New England Journal of Medicine, 337(6):408.

Di Renzo L, Yefenof E, Klein E (1991) The function of human NK cells is enhanced by beta-glucan, a ligand of CR3 (CD11b/ CD18). Eur J Immunol 21:1755–1758

Donno MD, Verduri A. Oxidants and antioxidants in pulmonary diseases, European Respiratory News, VIII, Suppl. 2000 (World Congress on Lung Health and 10th ERS Annual Congress).

Dorland WA Newman. Kamus Kedokteran Dorland. 2006. Edisi 29. Jakarta: EGC.

Duryatmo, Sardi. 2008. Ling Zhi Gempur Penyakit Maut Oleh Majalah Trubus. <http://www.trubus-online.co.id/members/ma/mod.php?mod=publisher&op=viewarticle&cid=1&artid=1282> (7 Maret 2014)

Dzau VJ. Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease; a unifying hypothesis. Hypertension. 2001; 37: 1047- 52

Falk, Erling. 2006. *Pathogenesis of Atherosclerosis*. Journal of the American College of Cardiology Vol.47 No.8

Gani.N., L.I.Momuat., dan M.M. Pitoi. 2013. Profil Lipida Plasma Tikus Wistar yang Hiperkolesterolemia pada Pemberian Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.). Jurnal Mipa Unsrat 2 (1): 44-49

Garapati, C.E., Rudd, B, de Bono. 2008. Activation of NF-kB complex. Trowsdale, J.<http://www.reactome.org>. Diakses pada tanggal 3 Desember 2013 jam 06.30 WIB

Göran K.2009. *Inflammation and immune response in atherosclerosis*. Current Atherosclerosis Reports vol 1 (2):150-155.

Guyton.et.al. 2008. *Buku Ajar Fisiologi*. Edisi 11th edition.

Handayani, K. 2009. *Efek Lovastatin yang Difermentasi oleh Kapang Monascus Purpureus Jmba Terhadap Kadar Kolesterol Dan Histopatologi Hati Tikus Galur Sprague Dawley. (Effect Of Lovastatin Fermented By Monascus Purpureus Jmba On Kolesterol Activity And Histopathology On Sprague Dawley Line Of Rat.)*. Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat UNILA, Bandar Lampung.

Handayani D. 2007. *Pengaruh Pasta Tomat Terhadap Jumlah Sel Busa Aorta Tikus Dengan Diet Aterogenik*. Jurnal Kesehatan Brawijaya Vol XXIII No.2 Agustus 2007.

Hansson, G. K. 2005. *Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease*. New England Journal of Medicine, No. 352:1685-95.

Harvey, E.J., and Ramji, D.P. 2005. Interferon γ and atherosclerosis : Pro or anti atherogenic?. Cardiovascular Research, 67 : 11-20

Heart-Health Screenings. American Heart Association [Internet]. 2011. [cited 2011 Jan 8]. Available from: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/Heart-Health-Screenings_UCM_428687_Article.jsp#.TxegnNUqt0c

Hikmatun. 2007. Morfologi Jamur Lingzhi (Ganoderma lucidum). <http://elitra.multiply.com/reviews> (15 Maret 2014)

Hilsdorf A W. and Krienger J.E. 1999. Characterization of six rat strains (*Rattus norvegicus*) by mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 32 : 267-273.

IAR. 2010. Wistar-imamichi rat (<http://www.iar.or.ip>) Diakses pada 17 Maret 2013.

Ikawati Yuni, Susandijani, Eviana Rita Sri, Handini Hendrati. Bagaimana jantung anda diselamatkan. 2001. Jakarta: MAPIPTEK dan Pusat Jantung Nasional "Harapan Kita". Hal. v-16

Jaelani. 2008. Jamur Berkhasiat Obat. Jakarta: Pustaka Obor Populer. Hal: 61-70.

January 14; Volume 340 Number 2;115-26 Available from :
<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199901143400207>

Ji, Z.; Tang, Q.; Zhang, J.; Yang, Y.; Jia, W.; Pan, Y. Immunomodulation of RAW264.7 macrophages by GLIS, a proteopolysaccharide from *Ganoderma lucidum*. J. Ethnopharmacol. 2007, 112, 445-450.

Jones, Lloyd. 2009 . *Circulation*. update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee 119(3):e21-181

Julia, Arliek Rio, Kanthi Permaningtyas T dan Valettina Dwi Putri. 2012. *Tugas Akhir (Skripsi): Pengaruh Pemberian Bubuk Jamur Tiram Putih (Pleurotus Ostreatus) Per Sonde Terhadap Jumlah Foam Cell Pada Dinding Aorta Tikus Putih Galur Wistar (Rattus Novergicus) Yang Diberi Diet Aterogenik.* Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Krisna, Pratista A., 2012. Pengaruh Theaflavin Teh Hitam (Camellia Sinensis) Gambung, Jawa Barat Terhadap Ketebalan Dinding Aorta Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Yang Diberi Diet Atherogenik. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1). Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc. (2). dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K)

Kusmiati. 2007. *Produksi-Glukan dari Dua Galur Agrobacterium sp. Pada Media Mengandung Kombinasi Molase dan Urasil*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.

Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajahmada University press.

Kustiyah I, Prasetyo A, dan Sarjadi, 2003. Pengaruh Berbagai Variasi Dosis Ekstrak *Morinda citrifolia* terhadap Kadar Lipid Serum dan Perkembangan Lesi Aterosklerotik pada Aorta Abdominalis Tikus Wistar. *Media Medika Indonesia, Vol 38 No. 4.: 193-202* Kaniawat M dan Lina Y. Patogenesis Molekuler aterosklerosis, Forum Diagnostikum Prodia. Laboratorium Klinik Prodia, 2004; No 4: 1–15.

Langseth, L., *Oxidants, Antioxidants and Disease*, 1995, Belgium:Prevention ILSI Europe.

Latgé JP. The cell wall: A carbohydrate armour for the fungal cell. *Mol Microbiol.* 2007;66:279-290.

Libby, P. 2004. The Vulnerable Atherosclerotic Plaque: Pathogenesis and Therapeutic Approach. *Cardiovasc. Pathol.* 13: 125-138.

Lin, K. I.; Kao, Y. Y.; Kuo, H. K.; Yang, W. B.; Chou, A.; Lin, H. H.; Yu, A. L.; Wong, C. H. Reishi polysaccharides induce immunoglobulin production through the TLR4/TLR2-mediated induction of transcription factor Blimp-1. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 24111-24123.

Lu H, Kyo E, Uesaka T, Katoh O, H. W: A water-soluble extract from cultured medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia suppresses azoxymethane-induction of colon cancers in male F344 rats. *Oncol Rep.* 2003, 10(2):375-379.

Lu HM, Uesaka T, Katoh O, Kyo E, Watanabe H: Prevention of the development of preneoplastic lesions, aberrant crypt foci, by a water-soluble extract from cultured medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia in male F344 rats. *Oncol Rep.* 2001, 8(6):1341-1345.

Mawarti, Herin. 2011. *Epigallocatechin Gallate (EGCG) Teh Hijau Menurunkan Kadar Trigliserida yang Berhubungan dengan Penurunan Kadar SREBP-1 (pada Tikus Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Tinggi lemak.* *Jurnal Sain Med*, Vol. 3. No. 2 Desember 2011: 67–73

Mayo Clinic Staff. Arteriosclerosis/Atherosclerosis. 2005. Available from <http://www.mayoclinic.com/health/arteriosclerosis-atherosclerosis/DS00525>
Diakses pada tanggal 6 Januari 2014 Pukul 21.38 WIB

Megazyme. 2011. Mushroom and Yeast Beta-Glucan Assay Rocusedure. © Megazyme International Ireland. Available from http://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-YBGL_1107_DATA.pdf.
Diakses pada tanggal 07 Januri 2014. Pukul 08.00 WIB.

Moffat J.R dan Stamford B. 2006. *Lipid Metabolism and Health*, Taylor and Francis Group, New York

Moeliandari F. Small dense LDL pada familial combined Hyperlipidemia dan penyakit kardiovaskuler, *Informasi Laboratorium Prodia*, 2003; No 6: 4–5

Moeliandari F dan Kaniawati M. Small dense LDL dan Obesitas, *Informasi Laboratorium Prodia*, 2002; No 5: 4–6.

Monaco, Claudia. 2004. Canonical pathway of nuclear factor B activation selectively regulates proinflammatory and prothrombotic responses in human atherosclerosis *PNAS* Vol. 101, No. 15

Murray.R.K., Granner, and Rodwell. 2006. Biokimia Harper. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Murwani S, Mulyohadi A, Ketut M. 2005. *Diet Aterogenik pada Tikus Putih (Ratus norvegicus strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis*. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXII, No. 1.

Mutiyani M. 2005. *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan dengan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel β Pankreas pada Rattus norvegicus strain Wistar*. Tugas Akhir tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Program Studi Ilmu Gizi Universitas Brawijaya, Malang.

NHLBI. Atherosclerosis. 2006. Available from : <http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/Atherosclerosis/AtherosclerosisWhatIs.html>. Diakses pada tanggal 06 Januari 2014 Pukul 21.40 WIB

Nugroho AO. 2005. *Pengaruh Pemberian Suplemen Melatonin terhadap Jumlah Sel Busa dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis Tikus Wistar yang Diinduksi Aterosklerosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Parjimo, H., Soenanto H. 2008. Jamur Ling Zhi: Raja Herbal, Seribu Khasiat. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. Hal: 3-30.

Ramprasath VR, Shanthi P, Sachdanandam P (2006) Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of Semecarpus anacardium LINN. Nut milk extract in experimental inflammatory conditions. Biol Pharm Bull 29:693–700

Robbins et al. 2003. *Basic Pathology 7th Edition*.USA : Saunder.

Ross R. *Atherosclerosis and inflammatory disease*. New Engl J Med 1999

January 14; Volume 340 Number 2;115-26 Available from :

<http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199901143400207>

Rosyid, FN. 2009. Peranan Lipoprotein terhadap Terjadinya Aterosklerosis pada Arteri Koronaria. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, hal 25-26.

Sampurno. Pengaruh pemberian ekstrak allium sativa terhadap jumlah sel busa dan ketebalan dinding aorta abdominalis tikus Wistar. Tesis. Semarang. 2003.

Sarwono, Jonathan. 2009. *Statistik Itu Mudah. Panduan Lengkap untuk Belajar Komputasi Statistik Menggunakan SPSS 16*. Yogyakarta : C.V. Andi Offset.

Sesso HD, JMGaziano, Simin Liu, EB Julie, Flavonoid Intake and the risk of cardiovascular disease in women, 2003, Am J Clin Nutr.77:1400-1408.

Shworak, Nicholas W. 2010. Canonical nuclear factor-kappa B signaling in atherosclerosis.<http://www.abcam.com>. Diakses pada tanggal 23 November 2013. Pukul 16.00 WIB

Sloop GD, Kevin JW, Ira Tabas, Peter LW, Martin RB. Atherosclerosis-an inflammatory disease. NEJM 1999 June 17 Volume 340 Number 24; 1928-29 Available from : <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199906173402418>. Diakses pada tanggal 06 Januari 2014 Pukul 21.40 WIB

Soloman P. Wasser. Reishi or Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*). Encyclopedia of Dietary Supplements; 2005. 603-622

Spicer EJ. Goldenthal EI, Ikada T. A. 2005. Toxicological Assessment of Curdlan. <http://www.betaxanthin.com/toxicoogi-research.html>.

Su, Jun. 2009. Natural Antibodies Against Phosphorylcholine as Potential Protective Factors in Atherosclerosis, Cardiovascular Disease and Systemic Lupus Erythematosus. Tesis. Karolinska Institutet, Stockholm.

Supardan. 2001. *Metabolisme Lemak*. Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya, Malang.

Suryohudoyo P. Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler. CV Sagung Seto. Jakarta. 2000

Tanuwijaya S. Recent development in pathogenesis of atherosclerosis, in Atherosclerosis from theory to clinical practice, Semarang Cardiology-Update (Mini Cardiology – Update III), BP Universitas Diponegoro, Semarang; 2003.

Thontowi, Ahmad. 2007. *Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI.

Wang, Y. Y.; Khoo, K. H.; Chen, S. T.; Lin, C. C.; Wong, C. H.; Lin, C. H. Studies on the immuno-modulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides: functional and proteomic analyses of a fucose-containing glycoprotein fraction responsible for the activities. *Bioorg. Med. Chem.* 2002, 10, 1057-1062.

Weickert, Martin O., 2013. *Effects of (1,3), (1,6)-Beta-D-glucan on Insulin Sensitivity and Inflammatory Markers of the Metabolic Syndrome*. German Institute of Human Nutrition. U.S. National Institutes of Health <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00403689>_ Diakses pada tanggal 6 Januari 2014. Pukul 13.03 WIB

Wei-Ting Hung, Shwu-Huey Wang, Chung-Hsuan Chen, Wen-Bin Yang.

Structure Determination of β -Glucans from Ganoderma lucidum with Matrix-assisted Laser Desorption/ionization (MALDI) Mass Spectrometry. Molecules 2008, 13, 1538-1550; DOI: 10.3390/molecules13081538. ISSN 1420-3049
www.mdpi.org/molecules

Wibowo, Joko Wahyu. 2003. Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Vitamin E Terhadap Profil Lipid dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis Tikus yang Mendapat Diet Tinggi Kolesterol. Thesis. Program Studi Magister Ilmu Biomedik Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, Semarang.

World Health Organization. 2011. *Integrated Management of Cardiovascular Risk*. World Health Organization, Geneva.

Yuk-Kwan Chen, DDS, MS, Shue-Shang Hsue, DDS, MS, Dai-Chung Lin, DDS, MS, Wen-Chen Wang, DDS, MS, Jing-Yi Chen, DDS, Cheng-Chung Lin, DDS, and Li-Min Lin, DDS, MS, PhD, Kaohsiung, Taiwan. *An application of virtual microscopy in the teaching of an oral and maxillofacial pathology laboratory course*. 2008;105:342-7.

Zhu, X. L.; Chen, A. F.; Lin, Z. B. Ganoderma lucidum polysaccharides enhance the function of immunological effector cells in immunosuppressed mice. J. Ethnopharmacol. 2007, 111, 219-226.

LAMPIRAN 1

Diagram Alur Pembuatan Pakan Diet Normal



LAMPIRAN 2

Diagram Alur Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak

Penimbangan bahan PARS, tepung terigu, minyak babi, minyak kambing, kuning

telur dan asam kolat

↓
Pencampuran bahan

↓
Penambahan air secukupnya

↓
Aduk rata

↓
Bentuk bulatan dari pakan

↓
Penggilingan pakan

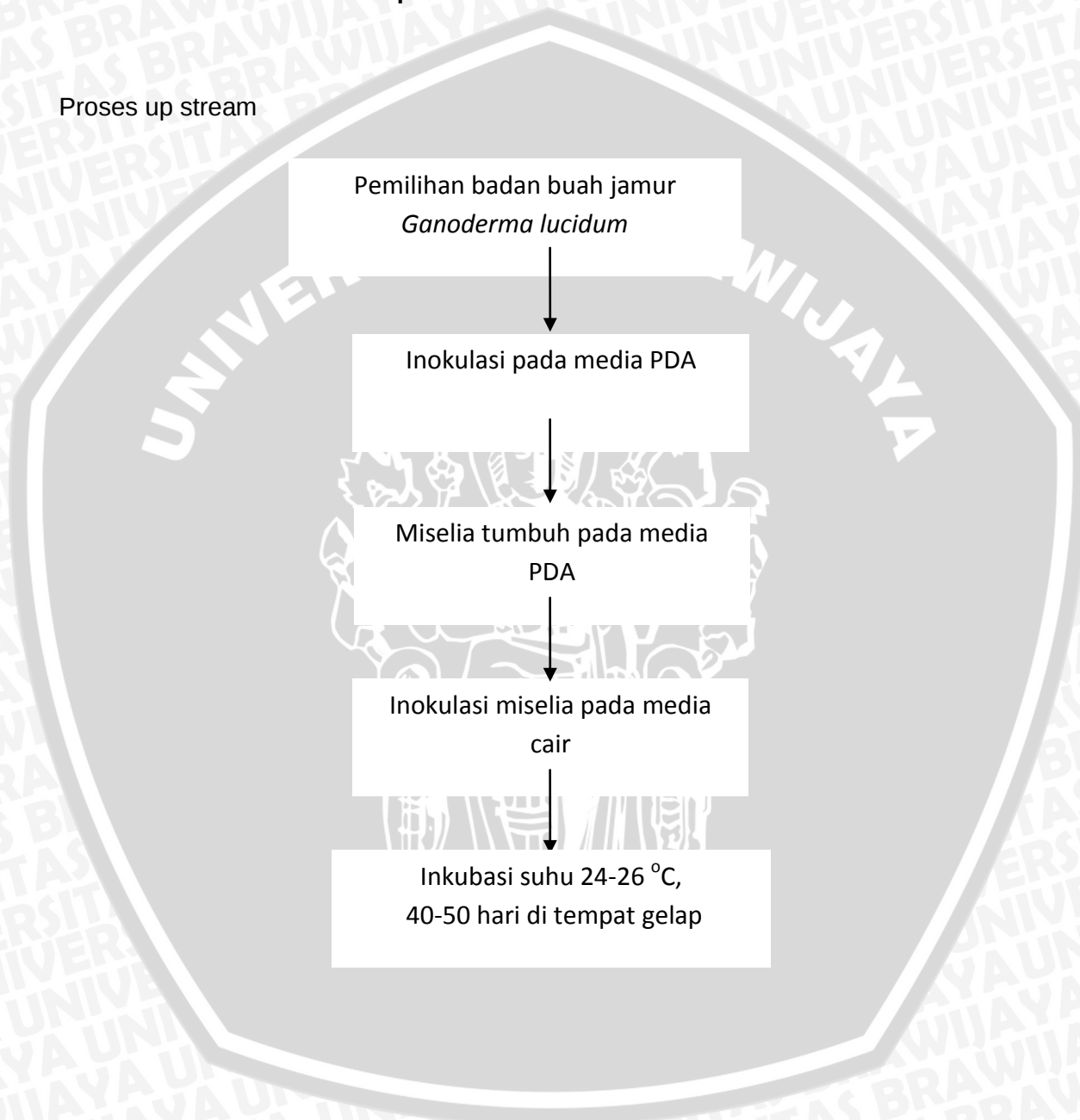
↓
Penimbangan pakan untuk tiap ekor tikus

↓
Pembagian pakan

LAMPIRAN 3

Alur Pembuatan Peptida Polisakarida *Ganoderma lucidum*

Proses up stream



Proses down stream

Pemanenan miselia *Ganoderma lucidum*

Homogenisasi

Ekstraksi

Sentrifugasi

Presipitasi

Evaporasi

Liofilisasi

Ekstrak padat kering

Pengukuran kadar β -1,3/1,6-D-Glukan

Keterangan tiap vial:

Kadar polisakarida dalam ekstrak (**batch number JQ**) adalah **80,55 %**, kadar β -D-glucan **57,78 %**, kadar β -1,3/1,6-D-glucan **48,24 %**.

Vial A

Polisakarida	: 500 mg.
Berat ekstrak	: $100/80,55 \times 500 \text{ mg} = 620,73 \text{ mg}$.
β -D-glucan	: $57,78/100 \times 620,73 = 358,66 \text{ mg}$.
β -1,3/1,6-D-glucan	: $48,24/100 \times 620,73 = 299,44 \text{ mg}$.

Vial B

Polisakarida	: 1500 mg.
Berat ekstrak	: $100/80,55 \times 1500 \text{ mg} = 1862,20 \text{ mg}$.
β -D-glucan	: $57,78/100 \times 1862,20 = 1075,98 \text{ mg}$.
β -1,3/1,6-D-glucan	: $48,24/100 \times 1862,20 = 898,33 \text{ mg}$.

Vial C

Polisakarida	: 3000 mg.
Berat ekstrak	: $100/80,55 \times 3000 \text{ mg} = 3724,39 \text{ mg}$.
β -D-glucan	: $57,78/100 \times 3724,39 = 2151,95 \text{ mg}$.
β -1,3/1,6-D-glucan	: $48,24/100 \times 3724,39 = 1796,65 \text{ mg}$.

Pemberian ekstrak polisakarida pada hewan coba:

1. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan:

Dosis 1: $50 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = \mathbf{10 \text{ mg}}$ (untuk tikus dengan BB 200 g)
dalam 2 ml.

Dosis 2: $150 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = \mathbf{30 \text{ mg}}$ (untuk tikus dengan BB 200 g)
dalam 2 ml.

Dosis 3: $300 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = \mathbf{60 \text{ mg}}$ (untuk tikus dengan BB 200 g)
dalam 2 ml.

2. Larutan ekstrak polisakarida diberikan sebanyak 2 ml pada tiap tikus secara per oral.
3. Kebutuhan untuk treatment 1 kelompok tikus (5 ekor) selama 1 minggu:

Dosis 1

Polisakarida : $10 \text{ mg} \times 5 \text{ tikus} \times 7 \text{ hari} = 350 \text{ mg}$.

Air : $2 \text{ ml} \times 5 \text{ tikus} \times 7 \text{ hari} = 70 \text{ ml}$.

Bila digunakan **100 ml air** maka banyak ekstrak yang akan dilarutkan:

100 ml/70 ml x 350 mg = **500 mg.**

Dosis 2

Polisaskarida : 30 mg x 5 tikus x 7 hari = 1050 mg

Air : 2 ml x 5 tikus x 7 hari = 70 ml

Bila digunakan **100 ml air** maka banyak ekstrak yang akan dilarutkan:

100 ml/70 ml x 1050 mg = **1500 mg.**

Dosis 3

Polisaskarida : 60 mg x 5 tikus x 7 hari = 2100 mg

Air : 2 ml x 5 tikus x 7 hari = 70 ml

Bila digunakan **100 ml air** maka banyak ekstrak yang akan dilarutkan:

100 ml/70 ml x 2100 mg = **3000 mg.**

Cara melarutkan ekstrak polisakarida:

1. Ekstrak dalam tiap vial dilarutkan dalam 100 ml aquadest panas $\pm 70 - 80^{\circ}\text{C}$.
2. Diaduk dalam *beaker glass* menggunakan *magnetic stirrer* selama ± 1 jam dengan suhu $\pm 70 - 80^{\circ}\text{C}$.
3. Larutan kemudian disaring menggunakan kertas saring.
4. Larutan dapat disimpan dalam *chiller* bersuhu $2 - 4^{\circ}\text{C}$ selama ± 1 minggu.

LAMPIRAN 4

Intake Pakan Tikus

WAKTU/Hari ke-	Kelompok																								
	Kontrol (-)					Kontrol (+)					Dosis PSP 50mg/kgBB					Dosis PSP 150mg/kgBB					Dosis PSP 300mg/kgBB				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
06/07/2013, hari ke-1	30	30	30	30	30	24.77	13.74	8.58	17.37	26.33	12.91	21.85	25.04	20.78	21.08	24.81	23.64	22.65	25.02	22.47	16.53	19.73	21.42	21.84	20.64
07/07/2013, hari ke-2	27.23	30	24.24	26.96	30	18.47	12.27	17.86	12.29	24.41	12.28	19.58	19.19	14.46	23.19	14.83	20.24	21.96	23.59	26.5	15.1	16.14	15.59	21.94	16.41
08/07/2013, hari ke-3	26.83	30	26.47	23.91	30	22.13	9.33	20.18	16.49	27.16	14.02	21.47	17.42	8.76	25.3	21.1	21.1	27.59	25.53	28.36	14.93	19.64	18.87	23.51	21.31
09/07/2013, hari ke-4	20.06	30	20.73	17.66	25.48	24.94	13.36	11.07	21.77	30.11	15.09	24.89	20.28	15.16	21.7	22.49	21.11	24.13	29.48	26.74	16.49	21.83	37.85	22.3	11.21
10/07/2013, hari ke-5	28.94	28.63	25.68	20.51	24.33	25.82	4.3	16.4	21.58	34.78	12.85	22.69	18.19	10.57	22.02	22.03	17.24	28.19	22.42	29.11	14.01	18.58	25.47	22.9	20.18
11/07/2013, hari ke-6	27.11	30	24.97	23.09	30	23.78	14.14	19.4	16.51	27.48	23.1	29.99	21.88	15.28	22.57	22.44	24.01	27.6	28.14	29.76	13.85	25.79	25.87	25.4	16.67
12/07/2013, hari ke-7	27.8	30	21.85	18.53	26.57	19.97	6.76	16.34	12.74	36.19	17.72	29.88	26.21	16.19	20.07	18.42	17.61	22.45	23.28	27.77	16.43	20.28	16.47	23.46	17.68
13/07/2013, hari ke-8	24.54	30	19.83	20.95	27.46	20.42	11.3	20.36	11.39	31.48	23.74	29.59	28.36	12.27	18.78	20.51	19.11	22.38	23.3	22.36	18.25	20.51	19.11	25.66	17.95
14/07/2013, hari ke-9	28.74	30	25.54	18.86	27.77	22.88	14.56	14.68	14.27	35.74	21.37	23.82	22.62	19.16	17.55	21.4	17.19	21.73	21.09	25.54	14.3	18.31	24.86	23.03	15.19
15/07/2013, hari ke-10	30	30	24.51	19.42	30	20.93	21.78	20.66	19.95	27.31	23.2	22.72	20.42	13.82	15.5	25.41	17.02	26.58	26.36	23.47	18.1	19.29	19.65	22.38	15.75
16/07/2013, hari ke-11	30	30	23.06	22.85	30	11.36	19.24	20.43	19.39	32.73	20.94	24.07	20.39	15.63	15.94	24.04	19.16	19.98	20.85	24.52	16.94	23.84	24	25.57	17.51
17/07/2013, hari ke-12	30	30	22.43	23.71	30	13.21	27.43	17.44	20.95	29.82	21.66	32.42	17.99	14.87	16.23	20.87	19.4	21.27	22.31	24.13	13.12	24.38	18.36	20.89	18.27
18/07/2013, hari ke-13	30	30	25.17	25.04	30	17.76	17.99	18.77	19.1	18.2	14.18	23.24	21.51	17.55	16	17.03	17.44	21.37	19.49	21.18	17.29	15.39	23.19	23.36	17.52
19/07/2013, hari ke-14	30	30	21.57	23.25	30	19.92	21.16	20.38	22.01	26.21	27.45	29.44	25.04	22.75	20.24	28.14	16.43	24.35	22.22	24.76	13.16	21.33	23.29	27.7	21.19
20/07/2013, hari ke-15	28.12	30	19.58	18.8	30	14.99	15.65	18.95	14.52	23.24	20.97	29.09	23.38	19.39	15.72	23.42	16.79	23.31	18.42	25.57	17.02	16.91	21.62	21.65	19
21/07/2013, hari ke-16	29.04	30	24.22	22.78	30	20.75	16.69	22.31	22.78	22.71	24.93	32.59	27.98	18.43	17.39	20.97	20.29	21.81	21.93	16.94	22.93	20.64	25.13	20.64	21.46
22/07/2013, hari ke-17	30	30	28.89	23.5	30	20.9	18.41	18.64	18.86	28.45	28.8	30.28	22.29	21.32	20.41	27.61	17.18	18.37	19.88	22.76	16.52	22.89	20.08	26.14	26.5
23/07/2013, hari ke-18	26.68	25.57	22.51	30	30	22.75	13.99	15.93	16.66	29.26	16.36	24.23	21.82	22.83	12.87	19.03	14.64	22.14	20.03	17.45	13.62	13.17	21.03	22.55	18.95
24/07/2013, hari ke-19	30	30	26.15	30	30	20.92	19.55	20.66	21.48	35.55	24.33	30.62	24	21.68	17.79	23.81	16.42	18.69	22.28	24.05	16.52	16.53	20.47	27.63	20.06
25/07/2013, hari ke-20	30	30	26.81	27.03	30	19.59	17.11	23.02	18.15	32.12	19.62	26.82	28.94	12.36	16.68	17.77	16.93	23.93	21.34	25.55	19.81	18.77	18.91	17.01	18.52
26/07/2013, hari ke-21	28.25	30	23.47	26.23	30	20.79	25.88	27.69	17.37	36.34	21.87	32.18	23.9	21.57	20.05	17.8	20.58	20.16	22.11	24.86	19.82	23.52	20.81	20.31	22.65
27/07/2013, hari ke-22	22.45	30	22.04	25.4	30	22.04	17.81	17.11	20.82	28.79	22.47	29.35	24.07	12.94	13.1	23.08	12.95	19	16.19	21.78	12.68	10.21	16.03	20.08	20.83
28/07/2013, hari ke-23	30	30	26.69	30	30	21.43	25.58	25.77	22.63	30.49	25.31	33.88	27.57	19.86	18.22	24.25	21.59	21.99	25.72	31.52	20.74	18.93	22.77	32.08	24.65
29/07/2013, hari ke-24	30	30	26.56	26.53	30	25.63	21.17	23.11	23.24	31.44	25.39	35.65	24.99	18.25	20.15	26.13	22.73	23.71	20.64	31.17	20.16	22.92	22.9	24.24	22.06
30/07/2013, hari ke-25	28.63	30	30	27.18	30	20.32	18.74	22.54	20.98	21.27	23.8	30.74	25.74	11.76	17.84	22.47	18.51	22.31	20.35	28.11	17.32	22.75	14.49	22.89	21.02
31/07/2013, hari ke-26	25.93	30	28.67	23.43	30	22.63	23.38	21.88	17.26	12.59	19.44	28.88	23.36	13.62	19.01	18.07	13.66	20.53	18.49	26.57	12.21	20.16	13.85	26.27	16.61
01/08/2013, hari ke-27	30	30	26.44	25.92	30	30.25	14.65	23.68	16.59	25.62	23.55	27.13	24.75	19.66	18.32	17.24	18.7	17.22	18.81	26.57	22.78	18.56	19.12	23.12	24.49
02/08/2013, hari ke-28	30	30	29.08	22.22	30	23.69	16.66	20.59	20.69	23.59	21.7	21.7	25.58	13.92	16.15	18.08	15.7	19.83	21.07	21.05	17.92	16.1	17.6	23.59	20.81
03/08/2013, hari ke-29	30	30	24.71	24.25	30	24.4	17.23	19.32	18.04	26.69	16.87	25.85	15.22	18.68	19.52	25.22	18.92	20.94	18.66	23.42	14.92	18.58	10.06	16.64	21.21
04/08/2013, hari ke-30	27.49	30	24.63	23.96	30	25.06	20.88	22.29	11.4	29.07	22.68	31.99	26.31	21.1	22.56	22.17	19.53	19.53	23.63	26.54	20.11	23.86	19.19	25.09	24.12
05/08/2013, hari ke-31	29.38	30	28.63	26.57	30	23.78	17.67	21.75	15.2	27.38	26.27	27.32	22.78	17.6	21.37	27.71	21.8	25.41	20.02	21.37	18.79	19.16	16.34	20.73	23.71
06/08/2013, hari ke-32	30	30	22.12	22.96	30	21.62	20.86	20.52	15.15	33.37	22.06	25.52	20.29	12.03	18.68	24.87	17.85	23.53	21.71	25.18	13.01	21.04	15.72	20.8	21.89
07/08/2013, hari ke-33	27.79	30	30	25.98	30	22.32	21.97	18.14	16.69	26.88	20.57	24.46	24.17	13.13	21.32	22.47	17.98	21.83	18.55	23.38	18.87	20.91	16.05	22.68	24.26
08/08/2013, hari ke-34	30	30	29.03	26.97	30	27.28	19.55	24.83	14.23	27.35	21.04	33.53	11.74	16.04	24.67	22.42	17.64	19.45	-38.92	29.5	19.24	26.36	16.8	27.77	33.23
09/08/2013, hari ke-35	30	30	30	24.59	30	23.95	26.52	21.76	15.93	27.84	22.42	32.06	26.92	10.26	22.76	18.97	17.48	20.24	18.48	25.56	13.56	20.38	13.92	19.36	24.59
10/08/2013, hari ke-36	28.07	30	27.6	21.16	30	21.52	22.68	21.76	17.35	27.68	22.01	24.18	23.05	18.65	18.65	26.91	20.24	23.39	21.76	25.4	16.39	18.7	14.17	23.78	21.07
11/08/2013, hari ke-37	30	30	30	28.33	30	30.7	22.47	18.81	15.66	35.01	22.49	20.78	22.73	14.05	19.01	26.78	15.72	24.57	20.24	32.63	15.32	22.32	11.8	27.94	25.64
12/08/2013, hari ke-38	30	30	30	26.41	30	22.42	22.36	24.14	14.33	21.6	19.21	29.75	25.65	20.13	19.48	27.97	15.81	23.42	22.18	21.67	18.22	18.27	13.96	24.8	21.64
13/08/2013, hari ke-39	30	30	30	24.17	30	24.65	28.06	23.63	19.32	29.18	22.61	24.48	18.68	13.61	21.34	20.25	19.29	24.98	26.23	37.22	16.02	22.6	16.87	29.77	25.89
14/08/2013, hari ke-40	30	30	30	26.85	30	14.59	21.59																		

WAKTU/Hari ke-	Kelompok																								
	Kontrol (-)					Kontrol (+)					Dosis PSP 50mg/kgBB					Dosis PSP 150mg/kgBB					Dosis PSP 300mg/kgBB				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
21/08/2013, hari ke-47	30	30	30	24.05	30	22.06	24.49	35.24	20.28	28.68	26.25	24.92	19.99	13.19	18.14	23.94	27.87	25.17	23.78	18.93	37.903	21.67	11.74	23.03	25.55
22/08/2013, hari ke-48	30	30	30	27.29	30	21.92	27.43	30.66	22.16	28.12	25.53	25.18	30.15	19.4	24.66	25.11	17.31	21.08	29.15	28.15	18.91	28.99	11.82	26.27	31.14
23/08/2013, hari ke-49	30	30	29.29	23.7	30	26.52	24.49	27.73	16.63	26.84	28.08	23.1	23.56	15.35	16.86	19.57	13.68	21.75	29.23	24.02	21.45	24.49	13.21	25.93	29.78
24/08/2013, hari ke-50	30	30	30	30	30	20.31	24.61	28.36	20.46	22.34	25.84	25.9	28.46	22.09	21.47	21.46	14.84	24.17	27.63	23.97	15.47	29.14	10.57	26.6	29.76
25/08/2013, hari ke-51	30	30	30	30	30	30.14	28.3	33.86	22.27	25.15	30.58	27.38	27.88	25.61	19.27	26.73	20.13	23.97	30.58	29.19	16.87	26.84	12.89	23.24	31.27
26/08/2013, hari ke-52	30	30	30	26.91	30	27.4	29.94	29.44	19.72	25.1	24.04	19.95	24.6	17.1	16.74	25.25	16.09	23.77	27.77	26.4	17.51	23.63	15.03	24.47	26.41
27/08/2013, hari ke-53	30	30	30	22.9	30	23.88	24.01	29.39	22.3	24.2	24.88	28.69	17.08	18.53	20.94	11.34	25.21	26.16	22.13	20	25.56	12.16	29.55	19.85	25.06
28/08/2013, hari ke-54	30	30	28.72	28.26	30	24.9	25.43	32.49	21.67	20.82	30.03	27.14	31.48	24.32	17.35	21.24	16.21	26.71	25.46	27.28	16.65	30.26	12.7	25.37	25.23
29/08/2013, hari ke-55	30	30	30	30	30	20.44	29.29	34.06	15.69	23.3	25.85	23.22	27.58	26.52	20.68	22.01	17.72	24.31	23.49	25.83	13.51	29.48	12.83	28.49	26.49
30/08/2013, hari ke-56	30	30	30	30	30	19.05	22.69	26.5	18.12	21.36	20.05	17.68	24.09	19.88	11.39	20.52	13.24	20.3	20.03	22.45	12.18	23.46	9.77	17.32	22.91
31/08/2013, hari ke-57	30	30	27.76	24.7	30	28.33	26.33	28.96	20.71	27.43	14.09	12.87	21.63	20.5	18.98	21.36	9.05	18.59	19.3	24.67	14.3	16.03	13.52	27.49	28.73
01/09/2013, hari ke-58	30	30	30	27.71	30	22.85	30.55	30.65	21.37	29.85	20.95	17.03	19.52	17.31	19.24	24.95	12.07	17.09	19.91	23.85	21.76	25.13	10.84	21.93	30.5
02/09/2013, hari ke-59	30	30	30	28.57	30	25.64	20.91	28.11	18.27	25.06	18.36	17.16	14.49	17.53	16.25	16.46	12.37	19.1	20.14	23.35	15.87	25.48	12.94	20.14	26.84
03/09/2013, hari ke-60	30	30	30	28.05	30	24.32	22.45	27.32	20.09	24.02	17.17	15.45	19.24	9.19	14.19	22.32	12.55	20.57	17.16	18.73	15.74	26.09	11.08	22.84	22.57
04/09/2013, hari ke-61	30	30	30	24.97	30	25.85	25.55	26.35	21.41	26.05	18.26	17.32	17.55	18.73	16.24	15.6	7.23	20.26	15.13	25.2	19.05	21.95	10.41	20.58	24.08
05/09/2013, hari ke-62	30	30	30	28.32	30	23.21	26.1	25.11	21.6	24.79	20.06	17.14	17.34	15.27	14.76	16.67	8.71	16.48	17.67	20.96	40	22.82	9.09	23.47	24.77
06/09/2013, hari ke-63	30	30	28.42	26.26	30	24.55	16.6	19	15.7	20.79	18.38	11.98	14.67	17.95	14.52	12.94	9.32	16.13	13.02	15.1	20.44	16.56	6.55	17.95	21.38
07/09/2013, hari ke-64	30	30	30	24.71	30	23.03	28.83	30.29	40	21.59	23.07	25.28	18.71	21.6	15.5	19.6	12.34	18.36	22.44	21.08	22.36	22.49	10.2	19.24	26.76
08/09/2013, hari ke-65	30	30	30	30	30	18	25.27	24.74	22.09	19.41	21.26	16.28	17.54	15.15	19.85	18.96	9.42	19.32	20.92	18.94	20.74	22.58	13.02	20.96	25.67
09/09/2013, hari ke-66	30	30	30	29.22	30	20.31	22.39	26.89	29.17	24.09	21.09	14.45	18.8	22.57	20.73	21.36	6.34	16.64	18.54	25.05	19.32	27.39	12.35	20.28	29.12
10/09/2013, hari ke-67	30	30	30	29.24	30	18.89	26.02	24.83	24.92	22.52	26.63	21	17.11	15.59	16.35	18.08	11.99	16.8	18.89	23.27	21.28	21.8	12.79	27.33	22.85
11/09/2013, hari ke-68	30	30	30	24.75	30	17.72	23.21	23.16	21.02	20.25	23.06	15.66	19.89	18.16	16.86	40	11.7	12.31	17.5	21.65	17.32	20.67	9.68	17.13	24.97
12/09/2013, hari ke-69	30	30	30	28.22	30	22.43	30.57	27.95	27.85	27.82	27.8	18.95	22.34	22.21	22.39	24.83	13.42	18.69	22.51	26.06	18.24	23.93	14.2	26.31	34.81
13/09/2013, hari ke-70	30	30	30	30	30	18.23	19.69	21.68	22.04	20.63	25.54	19.58	22.52	15.93	14.28	13.93	12.13	18.76	20.73	22.3	16.69	25.05	11.28	25.76	35.65
14/09/2013, hari ke-71	23.85	30	30	30	30	13.72	26.41	22.72	20.5	17.02	19.85	17.86	16.9	20.83	20.49	19.56	13.61	16.62	18.2	24.26	16.52	26.73	12.75	15.35	23.15
15/09/2013, hari ke-72	30	30	30	30	30	23.65	22.32	27.13	21.5	21.69	24.77	19.5	23.91	23.49	20.22	22.73	16.36	22.02	22.41	25.02	18.87	22.22	12.59	26.83	30.67
16/09/2013, hari ke-73	30	30	30	30	30	19.12	28.41	30.01	21.3	24.66	28.57	16.72	23.01	22.57	26.62	22	14.22	19.48	16.58	30.68	17.92	27.79	15.1	28.76	33.99
17/09/2013, hari ke-74	30	30	30	26.84	30	23.64	22.84	23.87	24.84	28.46	27.48	21.57	26.21	24.92	19.99	20.53	16.53	23.84	23.41	26.37	16.32	25.47	17.41	25.77	31.12
18/09/2013, hari ke-75	30	30	30	27.16	30	29.2	23.21	25.98	22.85	28.39	27.14	19.68	21.77	20	25.3	20.55	18.66	23.33	40	27.46	23.98	38.05	23.22	25.79	33.53
19/09/2013, hari ke-76	30	30	30	27.75	30	21.53	27.19	23.86	20.79	24.8	26.43	19.6	21.85	18.73	14.71	17.98	14.33	15.08	31.35	23.94	22.13	27.64	11.36	15.38	27.09
20/09/2013, hari ke-77	30	30	30	23.88	30	21.13	24.63	24.1	21.38	26.83	26.66	21.95	24.98	23.91	22.48	21.92	12.33	18.05	27.67	26.84	16.63	28.02	16.02	29.31	28.53
21/09/2013, hari ke-78	30	30	30	29.36	30	24.61	30.32	25.8	27.48	28.57	40	24.19	27.12	20.46	24.18	19.88	18.86	26.69	29.46	27.96	26.29	34.31	13.8	23.81	33.37
22/09/2013, hari ke-79	30	30	30	26.92	30	21.72	26.73	31.32	29.62	29.29	36.09	11.84	28.79	19.8	21.06	10.75	19.27	21.78	29.7	29.85	20.69	33.59	18.54	24.36	32.14
23/09/2013, hari ke-80	30	30	30	27.46	30	25.59	27.68	22.97	21.6	26.19	25.27	10.5	22.08	19.05	19.96	7.2	16.1	17.2	28.44	27.48	18.81	24.03	16.01	0.21	21.43
24/09/2013, hari ke-81	30	30	30	29.16	30	24.27	22.55	26.13	25.53	32.33	25.56	7.29	26.68	14.04	21.13	22.2	27.94	11.79	17.21	17.09	7.51	14.71	13.37	24.27	25.06
25/09/2013, hari ke-82	30	30	30	25.11	30	18.46	23.18	24.84	24.81	26.65	25.85	2.82	21.02	12.22	17.68	2.64	12.66	16.71	27.78	26.29	14.79	24.75	10.82	21.29	14.63
26/09/2013, hari ke-83	30	30	30	26.14	30	22.48	28.86	26.2	25.94	25.47	27.7	6.33	29.59	19.22	20.89	2.08	14.95	22.68	29.97	25.31	20.18	26.47	12.98	17.01	21.23
27/09/2013, hari ke-84	30	30	30	26.28	30	18.84	17.94	19.31	23.79	24.38	21.15	8.4	17.56	18.57	14.39	7.86	4.3	13.19	27.5	18.66	14.17	26.04	10.72	19.61	19.17
28/09/2013, hari ke-85	30	30	30	22.85	30	20.26	18.74	20.68	22.96	27.74	26.24	6.01	11.98	13.57	16.25	8.04	2.42	25.92	29.65	26	17.05	26.4	19.85	20.35	29
29/09/2013, hari ke-86	30	30	30	16.46	30	18.58	26.42	29.																	

LAMPIRAN 5

Berat Badan Tikus

WAKTU/Hari ke-	Kelompok																								
	Kontrol (-)					Kontrol (+)					Dosis PSP 50mg/kgBB					Dosis PSP 150mg/kgBB					Dosis PSP 300mg/kgBB				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
5/7/2013	110	90	100	80	100	100	100	100	110	140	100	100	110	110	120	110	110	110	120	120	110	100	110	120	100
19/7/2013	160	120	130	100	150	150	130	150	140	200	160	200	160	140	180	170	150	180	180	150	150	150	160	180	140
2/8/2013	220	150	190	140	190	190	140	170	170	220	200	240	200	180	200	170	160	200	230	240	150	160	180	240	190
16/8/2013	240	180	220	170	220	230	200	200	190	260	220	280	220	170	240	230	190	240	250	290	200	200	200	260	230
6/9/2013	250	220	260	210	250	260	270	290	260	300	270	320	290	240	260	250	180	290	300	300	200	260	170	300	270
13/9/2013	270	230	280	250	250	280	280	300	280	300	280	320	290	220	290	250	220	290	300	330	220	260	200	320	330
27/9/2013	320	250	310	270	270	300	300	330	300	300	320	290	300	240	300	200	220	300	340	350	230	320	200	350	350

LAMPIRAN 6

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah foam cell	.180	25	.036	.925	25	.067

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

jumlah foam cell

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.372	4	20	.825

Uji One-way ANOVA

jumlah foam cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17.200	4	4.300	7.963	.001
Within Groups	10.800	20	.540		
Total	28.000	24			

$p < 0,05$ menunjukkan nilai signifikansi dari uji ANOVA

LAMPIRAN 7

Uji Post Hoc

Multiple Comparisons

jumlah foam cell

LSD

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	-2.20000*	.46476	.000	-3.1695	-1.2305
	HFD + PSP 50	-1.60000*	.46476	.003	-2.5695	-.6305
	HFD + PSP 150	-1.00000*	.46476	.044	-1.9695	-.0305
	HFD + PSP 300	-.20000	.46476	.672	-1.1695	.7695
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	2.20000*	.46476	.000	1.2305	3.1695
	HFD + PSP 50	.60000	.46476	.211	-.3695	1.5695
	HFD + PSP 150	1.20000*	.46476	.018	.2305	2.1695
	HFD + PSP 300	2.00000*	.46476	.000	1.0305	2.9695
HFD + PSP 50	Kontrol Negatif	1.60000*	.46476	.003	.6305	2.5695
	Kontrol Positif	-.60000	.46476	.211	-1.5695	.3695

	HFD + PSP 150	.60000	.46476	.211	-.3695	1.5695
	HFD + PSP 300	1.40000*	.46476	.007	.4305	2.3695
HFD + PSP 150	Kontrol Negatif	1.00000*	.46476	.044	.0305	1.9695
	Kontrol Positif	-1.20000*	.46476	.018	-2.1695	-.2305
	HFD + PSP 50	-.60000	.46476	.211	-1.5695	.3695
	HFD + PSP 300	.80000	.46476	.101	-.1695	1.7695
HFD + PSP 300	Kontrol Negatif	.20000	.46476	.672	-.7695	1.1695
	Kontrol Positif	-2.00000*	.46476	.000	-2.9695	-1.0305
	HFD + PSP 50	-1.40000*	.46476	.007	-2.3695	-.4305
	HFD + PSP 150	-.80000	.46476	.101	-1.7695	.1695

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



LAMPIRAN 8

Uji Korelasi

Correlations

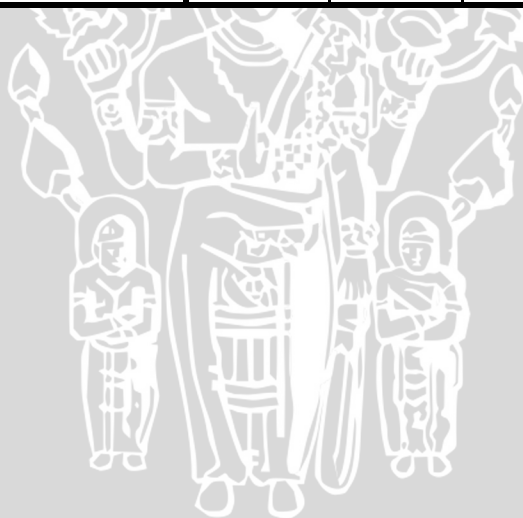
		kelompok perlakuan	jumlah foam cell
kelompok perlakuan	Pearson Correlation	1	-.743**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
jumlah foam cell	Pearson Correlation	-.743**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Correlations

		Kontrol Negatif	Kontrol Positif	HFD + PsP 50	HFD + PsP 150	HFD + PsP 300
Kontrol Negatif	Pearson Correlation	1	.000	.000	.500	.000
	Sig. (2-tailed)		1.000	1.000	.391	1.000
	N	5	5	5	5	5
Kontrol Positif	Pearson Correlation	.000	1	.218	.423	-.429
	Sig. (2-tailed)	1.000		.724	.478	.472
	N	5	5	5	5	5

HFD + PsP 50	Pearson Correlation	.000	.218	1	-.645	-.873
	Sig. (2-tailed)	1.000	.724		.239	.053
	N	5	5	5	5	5
HFD + PsP 150	Pearson Correlation	.500	.423	-.645	1	.423
	Sig. (2-tailed)	.391	.478	.239		.478
	N	5	5	5	5	5
HFD + PsP 300	Pearson Correlation	.000	-.429	-.873	.423	1
	Sig. (2-tailed)	1.000	.472	.053	.478	
	N	5	5	5	5	5



LAMPIRAN 9

Dokumentasi Penelitian

Hewan coba

Kelompok Tikus

Diet Tikus



Penimbangan Sisa Pakan

Penyondean PsP pada Tikus



Euthanasia Tikus



Pembedahan Tikus

Pengambilan Aorta

Preparat Aorta



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Yasmin Eka Aziza

NIM : 115070100111085

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 dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 09 Desember 2014

Yang membuat pernyataan,

(Yasmin Eka Aziza)

NIM. 115070100111085