

BAB V

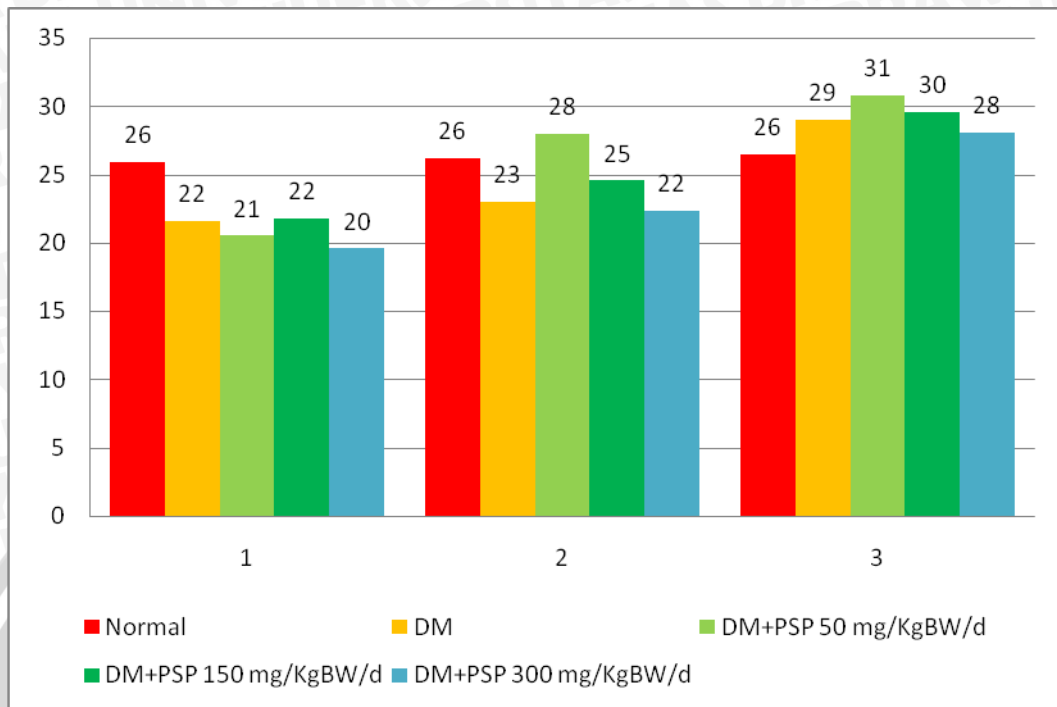
HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian tentang pengaruh pemberian Peptida Polisakarida (PSP) dari *Ganoderma lucidum* terhadap tebal tunika intima-media pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar dengan model Diabetes Melitus (DM) tipe 2. Tikus sebelumnya diaklimatisasi selama 2 minggu kemudian tikus dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang diberi diet normal, kelompok DM yang diberi diet tinggi lemak (*High Fat Diet/HFD*) dan induksi STZ, kelompok perlakuan yang diberi HFD, induksi STZ dan diberi PSP 50 mg, 150 mg, 300 mg per kg BB. Setelah aklimatisasi, selama 4 minggu tikus diberi HFD dan di hari terakhir minggu ke 4 tersebut tikus diinduksi Streptozotocin (STZ) intraperitoneal, dengan dosis 100 mg/kg BB. Dilanjutkan kembali selama 8 minggu tikus diberi diet tinggi lemak yang dikombinasi dengan PSP sesuai dosis yang telah ditentukan dalam setiap perlakuan.

5.1.1 Pengukuran Intake Pakan Tikus

Pengukuran asupan pada tikus model DM tipe 2 dapat dilihat dari sisa pakan yang diukur setiap harinya. Penyajian data hasil penelitian berikut merupakan rata-rata asupan pakan tiap kelompok dalam tiap bulan sebagaimana gambar 5.1.



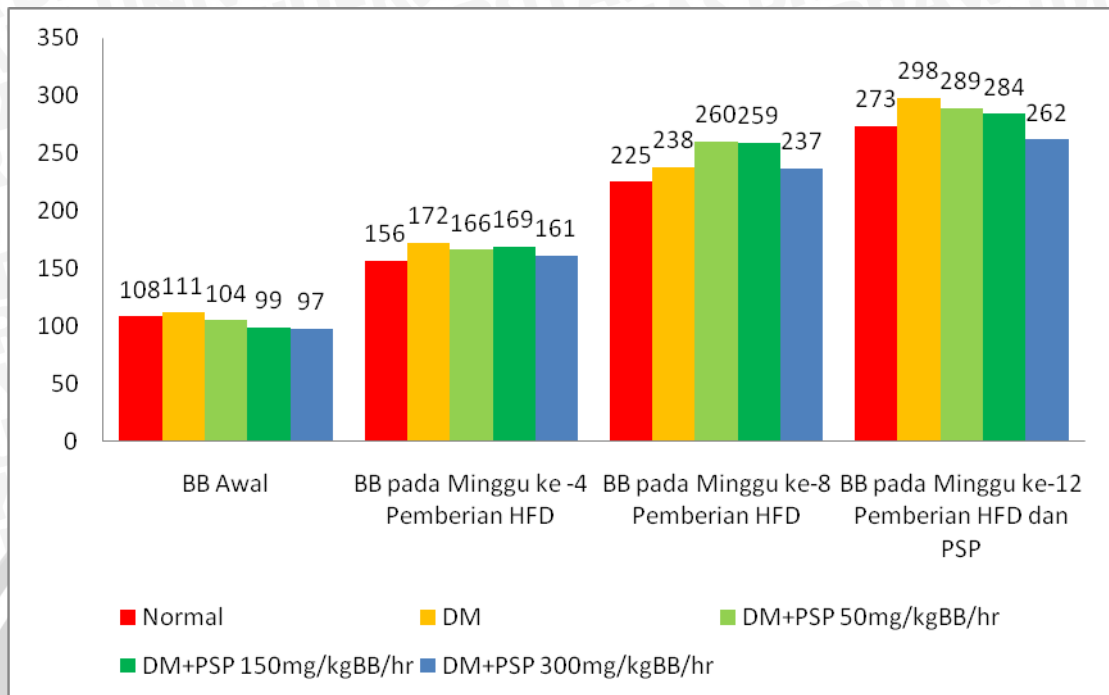
Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Pengukuran Intake Pakan pada Tiap Kelompok Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2 Setiap Bulan (mg).
 PSP = Peptida Polisakarida. DM =Diabetes Melitus Tipe 2.

Gambar 5.1 menunjukkan grafik rata-rata intake pakan tikus model DM tipe 2 tiap kelompok dalam tiap bulan. Grafik tersebut menunjukkan intake pakan tikus yang cenderung meningkat seiring dengan berjalannya waktu dan pemberian pakan yang sama setiap harinya. Selama 3 bulan, kelompok normal mendapatkan pakan normal dan kelompok DM, DM+PSP50, DM+PSP150, serta DM+PSP300 mendapatkan pakan HFD. Rataan intake pakan paling besar dimiliki oleh tikus kelompok normal dengan intake pakan sebesar 25,90 mg, sedangkan intake pakan paling sedikit adalah kelompok DM+PSP300 dengan intake pakan sebanyak 19,57 mg. Pada bulan kedua, dengan pola makan yang sama dengan bulan sebelumnya, rata-rata intake pakan paling tinggi dimiliki oleh kelompok DM+PSP50 dengan rata-rata intake pakan sebesar 28,00 mg dan rata-rata intake pakan paling rendah dimiliki oleh kelompok DM+PSP300 dengan rata-rata

intake pakan sebesar 22,38 mg. Pada bulan ketiga, kelompok normal dan DM tetap mendapatkan pola pakan yang sama yakni pakan normal untuk kelompok normal dan HFD untuk kelompok DM. Kelompok DM+PSP50, DM+PSP150, dan DM+PSP 300 selain mendapatkan pakan HFD, juga mendapatkan perlakuan dengan cara pemberian dosis PSP sesuai yang ditentukan pada masing-masing kelompok. Rataan intake pakan paling banyak dicapai oleh tikus kelompok DM+PSP 50, dengan rata-rata intake pakan sebesar 30,82 mg, sedangkan rata-rata intake pakan paling sedikit adalah kelompok normal dengan rata-rata intake pakan sebanyak 26,49 mg.

5.1.2 Pengukuran Berat Badan Tikus

High Fat Diet (HFD) atau diet aterogenik merupakan salah satu faktor dalam proses pembuatan tikus model Diabetes Melitus (DM) tipe 2 (Muwarni *et al*, 2006). Efek langsung dari diet aterogenik pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dapat dilihat dari peningkatan berat badan (BB) tikus. Pengukuran berat badan tikus sebelum pemberian HFD yakni berat badan awal saat aklimatisasi. Berat badan sebelum pemberian PSP adalah berat badan minggu pertama hingga minggu kedelapan. Berat badan selama pemberian PSP ditandai dengan data berat badan minggu kesembilan hingga minggu keduabelas setelah pemberian PSP sebagaimana Tabel 5.2



Gambar 5.2 Grafik Rata-rata Berat Badan Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2 (gram)

HFD = High Fat Diet. PSP = Peptida Polisakarida. DM =Diabetes Melitus Tipe 2.

Waktu pengukuran berat badan tikus model Diabetes melitus (DM) tipe 2 dilakukan setiap 2 minggu. Hasil penelitian merupakan hasil rata-rata pengukuran berat badan tikus tiap kelompok. Pada Gambar 5.2 menunjukkan nilai rata-rata berat badan tikus model DM tipe 2 yang cenderung mengalami peningkatan berat badan seiring dengan pemberian pakan yang diberikan selama 12 minggu.

Pada minggu aklimatisasi, rata-rata berat badan tikus paling tinggi dimiliki oleh kelompok DM sebesar 111,43 gram. Rataan berat badan tikus paling rendah dimiliki oleh kelompok DM+PSP300 dengan rata-rata sebesar 97,14 gram. Pada minggu pertama hingga minggu keempat, perlakuan pada kelompok tikus normal diberikan pakan normal saja, sedangkan pada tikus model DM tipe 2 dan DM+PSP baik dosis 50, 150, dan 300 diperlakukan sama dengan diberikan pakan HFD. Dari perlakuan tersebut didapatkan rata-rata berat badan tikus paling

tinggi dimiliki oleh kelompok DM+PSP dengan rata-rata berat badan sebesar 1721,14 gram. Rata-rata berat badan tikus paling rendah dimiliki oleh kelompok normal dengan rata-rata sebesar 156,25 gram.

Pada minggu kelima hingga minggu kedelapan, perlakuan yang sama tetap diberikan pada semua kelompok. Rata-rata berat badan tertinggi dicapai oleh kelompok DM+PSP50 dengan rata-rata berat badan kelompok sebesar 259,83 gram. Rata-rata berat badan terendah dicapai oleh kelompok normal dengan rata-rata berat badan kelompok sebesar 225,00 gram.

Pada minggu kesembilan hingga kedua belas, perlakuan pada tikus kelompok normal dengan tetap diberikan pakan normal, sedangkan pada tikus kelompok DM hanya diberikan HFD saja. Pada kelompok tikus DM+PSP50, selain tetap diberi pakan HFD juga diberikan Peptida Polisakarida (PSP) sesuai dosis yang telah ditentukan yakni 50mg/kgBB/hari. Begitu pula dengan kelompok DM+PSP150 dan kelompok DM+PSP300, selain diberikan pakan HFD juga ditambahkan dosis PSP senilai 150mg/kgBB/hari dan 300mg/kgBB/hari. Rata-rata berat badan tikus paling tinggi dimiliki oleh kelompok DM dengan sebesar 297,50 gram. Rata-rata berat badan tikus paling rendah dimiliki oleh kelompok DM+PSP300 dengan rata-rata sebesar 261,67 gram.

5.1.3 Analisa Deskriptif Pengukuran Tebal Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada Tikus

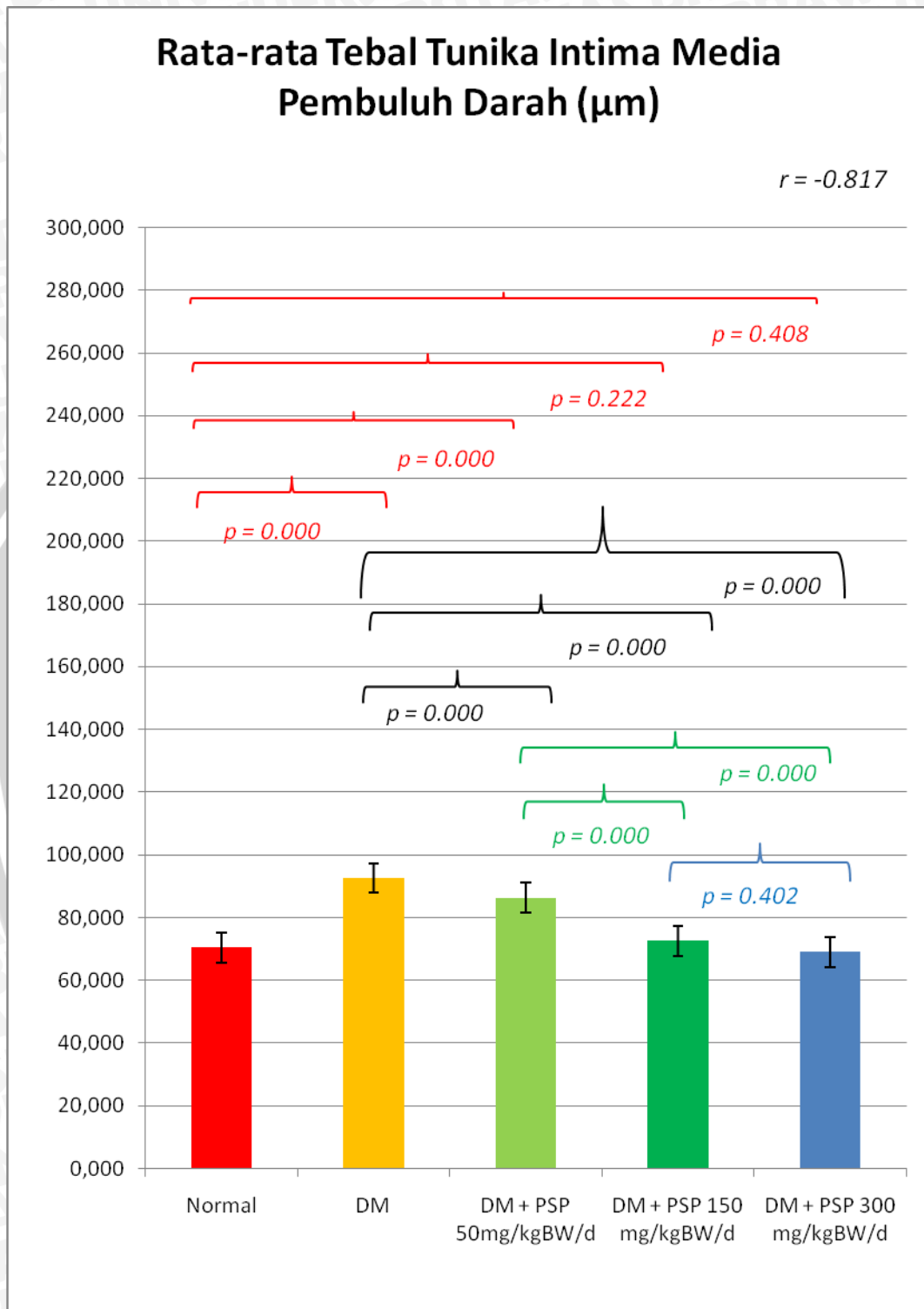
Persiapan preparat untuk menghitung tebal tunika intima-media pembuluh darah menggunakan proses *paraffin block* dan pengecatan hematoksin-eosin. Pengukuran tebal tunika intima media pembuluh darah menggunakan software Dot Slide Olyvia. Berikut paparan hasil pengukuran rata-rata tikus tiap kelompok.

Tabel 5.1. Tabel Rata-rata Tebal Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada pada Tiap Kelompok Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2 (μm).

Kelompok (n=5)	Rata-rata Tebal Tunika Intima-Media pembuluh darah (μm) ($\bar{x} \pm \text{SD}$)
Normal	70.4528 \pm 4.67152
DM	92.5865 \pm 6.82964
DM+PSP50	86.3280 \pm 5.49549
DM+PSP150	72.5815 \pm 8.04110
DM+PSP300	69.0115 \pm 5.00001

Tebal tunika intima-media pembuluh darah pada penelitian ini memiliki rata-rata sebesar 78.1921 μm . Tebal rata-rata tunika intima media pembuluh darah terkecil didapatkan pada kelompok DM+PSP300 dan rata-rata terbesar pada kelompok DM.

Rata-rata tebal tunika intima media pembuluh darah ditampilkan pada Gambar 5.3 berikut ini.

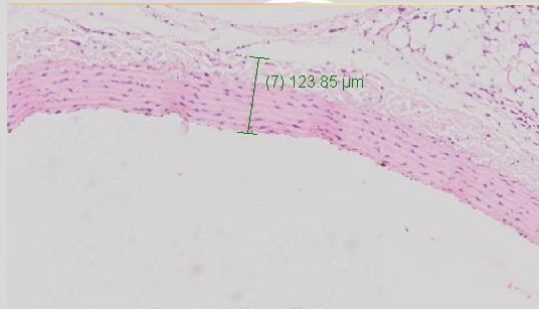


Gambar 5.3. Grafik Rata-Rata Tebal Tunika Intima Media Pembuluh Darah Pada Berbagai Kelompok Perlakuan Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2. P value merupakan hasil analisa Post Hoc dengan metode LSD signifikansi $p < 0.05$. r merupakan hasil uji korelasi metode Pearson.

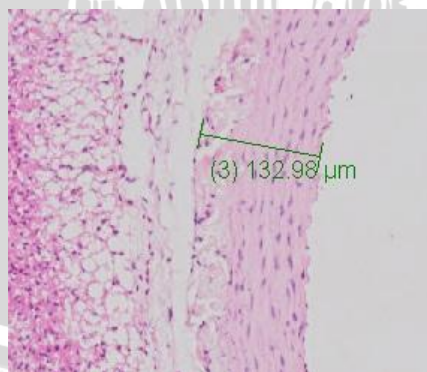
Gambar 5.3 menjelaskan secara deskriptif, bahwa kelompok DM dengan dosis PSP 300mg memiliki rata-rata tebal tunika intima media pembuluh darah yang terkecil apabila dibandingkan dengan kelompok DM, DM+PSP dosis 50, 150 dan kelompok normal. Rata-rata paling tebal dimiliki kelompok DM.

5.1.4 Hasil Pengamatan Scan Dot Slide Olyvia

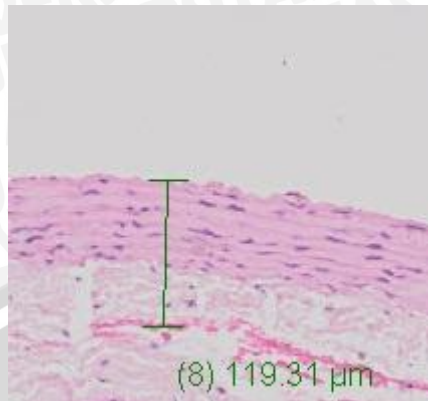
Pembacaan slide preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Pengukuran tebal tunika intima media menggunakan software Scan Dot Slide Olyvia dengan satuan ukur μm .



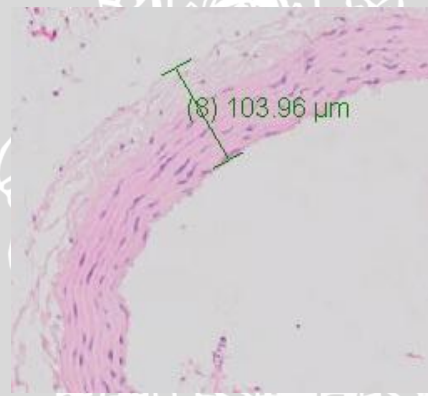
Gambar 5.4 Pengukuran Penebalan Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada Tikus Kontrol. Pewarnaan HE. Perbesaran 400x. Rata-rata ketebalan intima media pada kelompok ini adalah $70.4528 \pm 4.67152 \mu\text{m}$



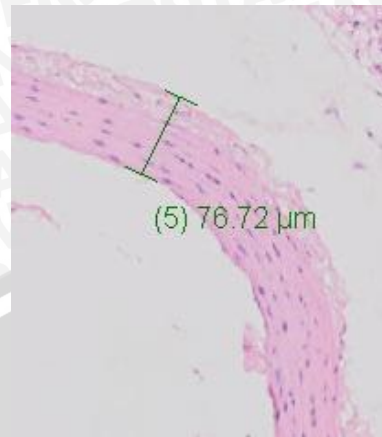
Gambar 5.5 Pengukuran Penebalan Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada Tikus Kelompok Perlakuan DM. Pewarnaan HE. Perbesaran 400x. Rata-rata ketebalan intima media pada kelompok ini adalah $92.5865 \pm 6.82964 \mu\text{m}$



Gambar 5.6 Pengukuran Penebalan Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada Tikus Kelompok Perlakuan Model DM dengan dosis PSP 50mg/kgBB. Pewarnaan HE. Perbesaran 400x. Rata-rata ketebalan intima media pada kelompok ini adalah $86.3280 \pm 5.49549 \mu\text{m}$.



Gambar 5.7 Pengukuran Penebalan Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada Tikus Kelompok Perlakuan Model DM dengan dosis PSP 150mg/kgBB. Pewarnaan HE. Perbesaran 400x. Rata-rata ketebalan intima media pada kelompok ini adalah $72.5815 \pm 8.04110 \mu\text{m}$.



Gambar 5.8 Pengukuran Penebalan Tunika Intima-Media Pembuluh Darah pada Tikus Kelompok Perlakuan Model DM dengan dosis PSP 300mg/kgBB. Pewarnaan HE. Perbesaran 400x. Rata-rata ketebalan intima media pada kelompok ini adalah $69.0115 \pm 5.0001 \mu\text{m}$.

5.2 Analisa Data

Data hasil penelitian disajikan dalam $\text{mean} \pm \text{SD}$. Kemudian semua data dianalisis dengan statistik parametrik dengan SPSS versi 17, yaitu *One-way ANOVA* setelah memenuhi uji normalitas data dan uji homogenitas varian. Uji normalitas data menggunakan metode Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa sebaran data penelitian ini normal ($p > 0,05$). Karena itu, untuk penyajian digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Uji homogenitas varian menggunakan metode Levene Test menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki varian yang homogen ($p = 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc metode LSD untuk mengetahui pengaruh pemberian PSP dan uji korelasi Pearson untuk mengetahui perbedaan tiap dosis.

5.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas bertujuan untuk menginterpretasikan apakah suatu data memiliki sebaran normal atau tidak. Untuk penyajian data yang terdistribusi

normal maka digunakan mean dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Untuk uji hipotesis, jika sebaran data normal, maka digunakan uji parametrik. Dalam penelitian ini menggunakan metode Shapiro-Wilk. Dari hasil uji normalitas didapatkan $p=0.058$. Hal ini menunjukkan bahwa distribusi data adalah normal sebab $p>0.05$.

5.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas 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. Hasil uji homogenitas menggunakan metode levene didapatkan nilai $p=0.351$. Hal ini menunjukkan bahwa data memiliki varian yang homogen dengan nilai signifikansi $p>0.05$.

5.2.3 Uji Oneway ANOVA

Uji oneway 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 $p < 0,05$. Pada penelitian ini perbandingan tiap-tiap kelompok memiliki nilai signifikansi sebesar $p=0.000$.

Tabel. 5.2. Tabel Uji Oneway ANOVA Tebal Tunika Intima Media

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11226.307	4	2806.577	74.513	.000
Within Groups	4519.846	20	37.665		
Total	15746.154	24			

Berdasarkan uji Oneway ANOVA, pada Selang Kepercayaan 95%, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna tebal tunika intima media pembuluh darah pada minimal dua kelompok perlakuan ($pV = 0.000$).

5.2.4 Uji Post Hoc

Uji Post Hoc 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 % ($p < 0,05$). Identifikasi kelompok mana yang berbeda dapat dilihat pada hasil Post Hoc Test, sebagaimana Tabel 5.3.

Tabel 5.3. Tabel Uji Post Hoc Tebal Tunika Intima Media

Nilai p	Kontrol	DM	DM+PSP50	DM+PSP150	DM+PSP300
Kontrol	-	0.000	0.000	0.222	0.408
DM	0.000	-	0.000	0.000	0.000
DM+PSP50	0.000	0.000	-	0.000	0.000
DM+PSP150	0.222	0.000	0.000	-	0.402
DM+PSP300	0.408	0.000	0.000	0.402	-

Keterangan:

Nilai $p < 0.05$: terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan

Nilai $p > 0.05$: tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan

Dari uji LSD dapat disimpulkan bahwa:

- Pemberian diet tinggi lemak dan induksi STZ pada tikus Wistar selama 90 hari menyebabkan ketebalan tunika intima-media kelompok kontrol positif (DM = $92.5865 \pm 6.82964 \mu\text{m}$) meningkat secara bermakna dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
- Terdapat perbedaan yang signifikan ketebalan tunika intima-media antara kelompok DM dengan kelompok kontrol ($p = 0.000$) dan kelompok perlakuan ($p = 0.000$; 0.000 ; 0.000).

- Pemberian PSP 50 mg/kgbb/hari selama 4 minggu bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak selama 90 hari dan induksi STZ ($DM+PSP50 = 86.3280 \pm 5.49549 \mu m$) memiliki perbedaan signifikan ketebalan tunika intima-media jika dibandingkan dengan ketebalan tunika intima-media kelompok kontrol ($p = 0.000$) dan kelompok perlakuan ($p = 0.000; 0.000$). Memiliki perbedaan yang signifikan juga jika dibandingkan dengan DM ($p = 0.000$). Pemberian PSP dosis 50mg/kgbb/hari ini mampu menurunkan ketebalan dinding aorta dibawah rata-rata kelompok DM. (Tabel 5.1 dan Gambar 5.3).
- Pemberian PSP 150mg/kgbb/hari selama 4 minggu bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak selama 90 hari dan induksi STZ ($DM+PSP150 = 72.5815 \pm 8.04110 \mu m$) tidak menyebabkan perbedaan signifikan ketebalan tunika intima-media jika dibandingkan dengan ketebalan tunika intima-media kelompok kontrol ($p = 0.222$) dan kelompok perlakuan dengan pemberian PSP 150mg/kgbb/hari ($p = 0.402$). Namun, menyebabkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok DM ($p = 0.000$) dan kelompok pemberian PSP 50mg/kgbb/hari ($p = 0.000$). Pemberian PSP dosis 150mg/kgbb/hari ini mampu menurunkan ketebalan tunika intima-media dibawah rata-rata kelompok DM. (Tabel 5.1 dan Gambar 5.3).
- Pemberian PSP 300 mg/kgbb/hari selama 4 minggu bersamaan dengan pemberian diet tinggi lemak selama 90 hari dan induksi STZ ($DM+PSP300 = 69.0115 \pm 5.00001 \mu m$) tidak menyebabkan perbedaan signifikan ketebalan tunika intima-media jika dibandingkan dengan ketebalan tunika intima-media kelompok kontrol ($p =$

0.408) dan kelompok perlakuan dengan dosis PSP 150mg/kgbb/hari ($p = 0.402$). Namun, menyebabkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok DM ($p=0.000$). Pemberian PSP dosis 300mg/kgbb/hari ini mampu menurunkan ketebalan tunika intima-media dibawah rata-rata kelompok DM dan didapatkan ketebalan rata-ratanya kembali ke normal seperti kontrol. (Tabel 5.1 dan Gambar 5.3).

Pada selang kepercayaan 95%, hasil analisis Post Hoc menunjukkan bahwa tebal tunika intima media pembuluh darah pada kelompok tikus DM berbeda bermakna dengan DM+PSP 50 mg. Tebal tunika intima pada kelompok tikus DM+PSP 50 mg juga berbeda bermakna dengan kelompok DM+PSP 300 mg, DM+PSP150 dan kelompok kontrol. Tebal tunika intima media pembuluh darah pada kelompok DM+PSP 150 mg dan DM+PSP 300 mg tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan pemberian dosis PSP 150 mg dan 300 mg mampu menghambat pembentukan plak aterosklerosis dan mampu mengurangi tebal tunika intima media pembuluh darah hingga minimal seperti kelompok kontrol.

5.2.5 Uji Korelasi Pearson

Uji korelasi metode Pearson bertujuan untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih yang berskala interval (parametrik). Berikut hasil uji korelasi Pearson berdasarkan data tebal tunika intima-media aorta.

Tabel 5.4. Uji Korelasi Pearson Tebal Tunika Intima Media

Correlations			
		Perlakuan	Tebal Tunika Intima Media
Perlakuan	Pearson Correlation	1	-.817**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
Tebal Tunika Intima Media	Pearson Correlation	-.817**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

Pada selang kepercayaan 95%, hasil analisis uji korelasi Pearson menunjukkan bahwa perbandingan keseluruhan antar kelompok menunjukkan nilai $r = -0.817$ (Tabel 5.4). Hal ini dapat dimaknai bahwa tebal tunika intima media pembuluh darah memiliki korelasi kuat berbanding terbalik dengan dosis PSP yang diberikan.

