

## Lampiran 1. Surat Pernyataan Kelaikan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755  
<http://www.fk.ub.ac.id> e-mail : [kep.fk@ub.ac.id](mailto:kep.fk@ub.ac.id)

### KETERANGAN KELAIKAN ETIK ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 400 / EC / KEPK / 10 / 2016

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

**JUDUL** : **Penurunan Inflamasi Pada Tahap Awal Atherosklerosis Melalui Penghambatan LP-PLA2 Pada Model In Vivo Diabetes Melitus Tipe 2 dan Dislipidemia.**

**PENELITI UTAMA** : **Dr. Titin Andri Wihastuti, S.Kp, M.Kes**

**ANGGOTA** : **Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, Sp.PD, Sp.JP**  
**dr. Teuku Heriansyah, Sp.JP-FIHA**  
**Hanifa, S.Gz**  
**Dinda Zahra Putri Andiyani, S.Ked**  
**Putu Nina Belinda Saka, S.Ked**  
**Aditya Angela Adam, S.Ked**  
**Merika Soraya**  
**Maya Dwi Wijayanti**  
**Sari Kushardianti**  
**Fariza Astri Kusuma Wardhani**  
**Laily Adji Fitriani**  
**Indira Larasati**  
**Sandra Pradita Widya Aswuri**





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
 FAKULTAS KEDOKTERAN  
 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia  
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755  
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

**Danisa Namira Wijayanti**

**Rozah Fitria Primardhika**

**Fakhrina Nur Fadhillah**

**Amalia Istiqamah Alkaf**

**Fathia Rosyida**

**UNIT / LEMBAGA : Fakultas kedokteran - Universitas Brawijaya Malang**

**TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Sentral Ilmu Hayati / Laboratorium Biosains**

**DINYATAKAN LAIK ETIK.**

Malang, 13 OCT 2016



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS (K), M.Hum  
 NIP. 1946051619711111001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan  
 Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk  
 Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali  
 Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)



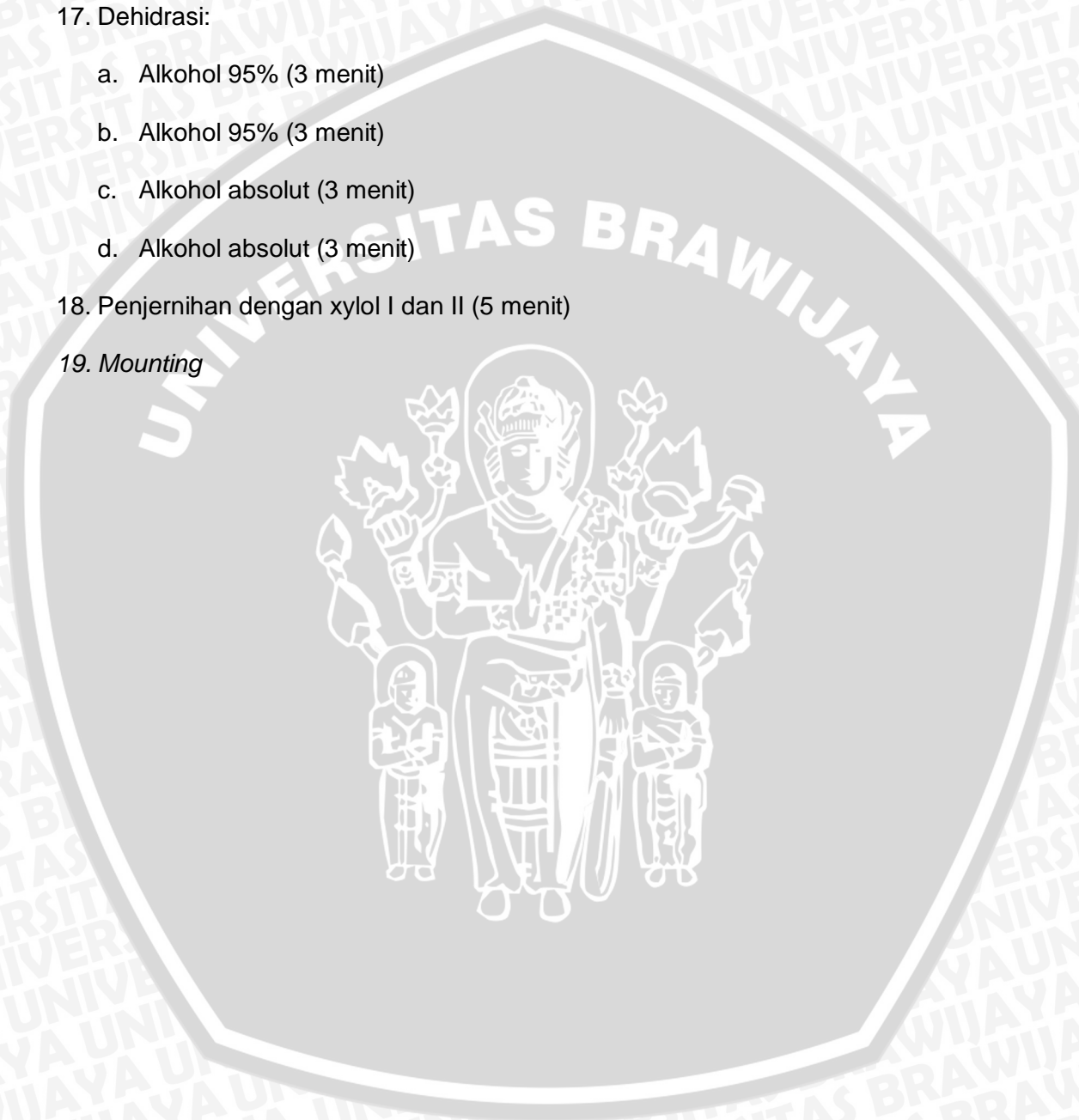
## Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Slide

Prosedur pewarnaan Hematoksilin dan Eosin dilakukan pada sediaan blok parafin dengan proses sebagai berikut:

1. Aorta yang telah dipotong pada proses pembedahan difiksasi dalam buffer formalin 10% selama semalam
2. Jaringan ditempatkan dalam kaset dan dibilas
3. Pemrosesan jaringan dengan *automatic tissue tex processor*
4. Parafinasi dengan pemberian lilin cair pada sediaan hingga menutupi seluruh jaringan
5. Pendinginan dengan diletakkan di atas *cold plate*
6. Pemotongan slide menggunakan mesin mikrotom dengan ketebalan sekitar 3-5 mikrometer
7. Selanjutnya, dilakukan deparafinasi dengan memasukkan preparat dalam oven dalam suhu 60-70°C (minimal 2 jam)
8. Penjernihan dengan xylol I, II, dan III (5 menit)
9. Rehidrasi dengan alkohol bertingkat:
  - a. Alkohol absolut (3 menit)
  - b. Alkohol absolut (3 menit)
  - c. Alkohol 95% (3 menit)
  - d. Alkohol 95% (3 menit)
  - e. Alkohol 70% (3 menit)
10. Bilas dengan air mengalir (10 menit)
11. Pewarnaan hematoksilin (6 menit), sebelumnya difiltrasi terlebih dahulu untuk menghilangkan molekul teroksidasi
12. Bilas dengan air mengalir (20 menit)
13. Penghilangan warna dengan alkohol asam (1-3 detik)



14. Bilas dengan air mengalir (5 menit)
15. Imersi dengan litium karbonat (3 detik)
16. *Counter staining* menggunakan eosin (15 detik)
17. Dehidrasi:
  - a. Alkohol 95% (3 menit)
  - b. Alkohol 95% (3 menit)
  - c. Alkohol absolut (3 menit)
  - d. Alkohol absolut (3 menit)
18. Penjernihan dengan xylol I dan II (5 menit)
19. *Mounting*



### Lampiran 3. Komposisi Pakan Tikus

#### 1. Pakan Standar (AIN-93)

Komposisi	Jumlah (gram)
Tepung Jagung	620
Gula pasir	100
Soybean oil	40
Gelatin	65
Kasein	80
CMC ( <i>Carboxy Methyl Cellulose</i> )	50
Mineral	35
Vitamin	10
<b>Total</b>	<b>1000</b>

#### 2. Pakan Tinggi Lemak (HFD)

Komposisi	Jumlah (gram)
Tepung	200
PARS	620
Kolesterol	10
Asam Kolat	2
Korsvet	168
<b>Total</b>	<b>1000</b>

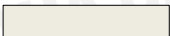
Lampiran 4. Hasil Penghitungan Jumlah Sel Busa (sel/aorta)

Kelompok	Perhitungan 1	Perhitungan 2
N8-1	13	11
N8-2	7	8
N8-3	6	8
N8-4	8	9
N8-5	10	12
N16-1	17	15
N16-2	7	6
N16-3	9	10
N16-4	12	13
N16-5	15	16
DM8-1	12	15
DM8-2	13	14
DM8-3	12	10
DM8-4	11	10
DM8-5	10	13
DM16-1	22	19
DM16-2	17	14
DM16-3	14	15
DM16-4	16	14
DM16-5	24	10
DMDP8-1	3	4
DMDP8-2	2	3
DMDP8-3	4	6
DMDP8-4	2	3
DMDP8-5	6	7
DMDP16-1	11	10
DMDP16-2	12	9
DMDP16-3	4	5
DMDP16-4	2	5
DMDP16-5	5	6

Lampiran 5. Data Asupan Pakan Tikus (gram)

Kelompok	Bulan 1	Bulan 2	Bulan 3	Bulan 4
N8-1	11,125	10,04762		
N8-2	12,5	12,71429		
N8-3	12,125	14,47619		
N8-4	10,125	12,90476		
N8-5	11,47	12,54		
N16-1	13	11,14286	24,46154	24,61538
N16-2	12,25	12,42857	24,62963	24,73077
N16-3	24,25	14,90476	24,77778	25,84615
N16-4	14,125	12,19048	24,33333	24,53846
N16-5	15,91	12,6677	24,55	24,61538
DM8-1	21,5	18,7619		
DM8-2	21,875	23,14286		
DM8-3	22,75	22,19048		
DM8-4	26	26		
DM8-5	22,25	18,71429		
DM16-1	25,5	25,28571	24,03571	25,84615
DM16-2	24,625	22,71429	22,46429	25,23077
DM16-3	25,5	25,19048	21,32143	24,19231
DM16-4	23,5	21,2381	20,32143	24,15385
DM16-5	26	23,90476	22,42857	24,65385
DMDP8-1	26	20,85714		
DMDP8-2	19,625	21,80952		
DMDP8-3	22,625	24,33333		
DMDP8-4	26	26		
DMDP8-5	25,75	25,66667		
DMDP16-1	26	25,80952	23,78571	25,76923
DMDP16-2	26	25,47619	23,46429	26
DMDP16-3	24,125	21,80952	21,71429	25,61538
DMDP16-4	26	24,66667	20,82143	23,53846
DMDP16-5	23,75	22,04762	22,42857	21,15385

Keterangan:

 : Mati

Lampiran 6. Data Berat Badan Tikus (gram)

Kelompok	Setelah Aklimatisasi	Sebelum Pembedahan
N8-1	205	181
N8-2	212	174
N8-3	195	145
N8-4	220	169
N8-5	208	167
N16-1	202	247
N16-2	231	274
N16-3	214	291
N16-4	213	266
N16-5	215	267
DM8-1	160	249
DM8-2	161	300
DM8-3	163	282
DM8-4	211	358
DM8-5	185	315
DM16-1	179	375
DM16-2	141	157
DM16-3	193	366
DM16-4	136	300
DM16-5	164	330
DMDP8-1	146	330
DMDP8-2	160	313
DMDP8-3	168	331
DMDP8-4	142	392
DMDP8-5	224	435
DMDP16-1	197	380
DMDP16-2	155	390
DMDP16-3	152	180
DMDP16-4	160	390
DMDP16-5	142	342



Lampiran 7. Data Pengukuran Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus

Kelompok	mg/dL		mmol/L	
	Setelah Aklimatisasi	Sebelum Pembedahan	Setelah Aklimatisasi	Sebelum Pembedahan
N8-1	132	93	7,33	5,17
N8-2		82		4,56
N8-3		102		5,67
N8-4		90		5,00
N8-5		91		5,06
N16-1	96	71	5,33	3,94
N16-2		71		3,94
N16-3		90		5,00
N16-4	118	100	6,56	5,56
N16-5		66		3,67
DM8-1	123	139	6,83	7,72
DM8-2	150	124	8,33	6,89
DM8-3	156	93	8,67	5,17
DM8-4	178	93	9,89	5,17
DM8-5	138	110	7,67	6,11
DM16-1	139	83	7,72	4,61
DM16-2	138	81	7,67	4,50
DM16-3	146	82	8,11	4,56
DM16-4	146	82	8,11	4,56
DM16-5	154	79	8,56	4,39
DMDP8-1	205	95	11,39	5,28
DMDP8-2	414	127	23,00	7,06
DMDP8-3	135	99	7,50	5,50
DMDP8-4	333	88	18,50	4,89
DMDP8-5	165	88	9,17	4,89
DMDP16-1	456	95	25,33	5,28
DMDP16-2	230	81	12,78	4,50
DMDP16-3	462	132	25,67	7,33
DMDP16-4	175	95	9,72	5,28
DMDP16-5	335	106	18,61	5,89

Lampiran 8. Hasil Pengukuran Kadar Insulin Plasma Tikus

Kelompok	mg/dL	μU/mL
N8-1	4,27	1,23
N8-2	4,16	1,20
N8-3	4,79	1,38
N8-4	5,038	1,45
N8-5	5,065	1,46
N16-1	5,124	1,48
N16-2	4,786	1,38
N16-3	5,065	1,46
N16-4	4,984	1,44
N16-5	5,203	1,50
DM8-1	14,871	4,28
DM8-2	11,201	3,23
DM8-3	11,292	3,25
DM8-4	10,246	2,95
DM8-5	12,478	3,59
DM16-1	41,144	11,85
DM16-2	41,703	12,01
DM16-3	45,835	13,20
DM16-4	37,333	10,75
DM16-5	35,086	10,11
DMDP8-1	6,581	1,90
DMDP8-2	5,955	1,72
DMDP8-3	5,448	1,57
DMDP8-4	5,134	1,48
DMDP8-5	5,404	1,56
DMDP16-1	8,058	2,32
DMDP16-2	9,123	2,63
DMDP16-3	7,886	2,27
DMDP16-4	9,297	2,68
DMDP16-5	7,272	2,09

## Lampiran 9. Hasil Perhitungan Resistensi Insulin

Kelompok	Sebelum Pemberian Darapladib	Setelah Pemberian Darapladib
N8-1	0,64	0,45
N8-2	0,00	0,39
N8-3	0,00	0,55
N8-4	0,00	0,51
N8-5	0,00	0,52
N16-1	0,56	0,41
N16-2	0,00	0,39
N16-3	0,00	0,52
N16-4	0,67	0,57
N16-5	0,00	0,39
DM8-1	2,08	2,35
DM8-2	1,91	1,58
DM8-3	2,00	1,19
DM8-4	2,07	1,08
DM8-5	1,95	1,56
DM16-1	6,49	3,88
DM16-2	6,53	3,83
DM16-3	7,60	4,27
DM16-4	6,19	3,47
DM16-5	6,13	3,15
DMDP8-1	1,73	0,71
DMDP8-2	2,80	0,86
DMDP8-3	1,83	0,61
DMDP8-4	1,94	0,51
DMDP8-5	1,81	0,54
DMDP16-1	4,17	0,87
DMDP16-2	2,38	0,84
DMDP16-3	4,14	1,18
DMDP16-4	1,85	1,00
DMDP16-5	2,76	0,87

Keterangan:

HOMA-IR = (Kadar glukosa puasa (mmol/L) x Insulin plasma ( $\mu$ U/mL)) / 14,1

Lampiran 10. Hasil Pengukuran Kadar Profil Lipid Tikus (mg/dL)

Kelompok	Kolesterol Total	HDL	LDL/VLDL
N8-1	72,799	49,410	58,853
N8-2	74,958	32,462	48,145
N8-3	75,042	29,764	47,470
N8-4	74,199	32,378	47,808
N8-5	74,199	29,680	46,880
N16-1	65,683	37,268	25,801
N16-2	52,445	32,968	17,707
N16-3	56,155	36,594	17,707
N16-4	52,361	36,425	17,622
N16-5	56,155	35,582	17,369
DM8-1	124,030	5,649	106,492
DM8-2	119,815	4,890	87,015
DM8-3	125,548	4,637	99,325
DM8-4	120,067	4,975	86,341
DM8-5	125,548	4,637	98,482
DM16-1	124,536	12,816	77,150
DM16-2	109,865	14,840	91,653
DM16-3	106,998	13,659	90,472
DM16-4	109,949	14,840	91,484
DM16-5	107,251	13,659	90,472
DMDP8-1	97,133	17,960	73,693
DMDP8-2	99,157	15,852	89,207
DMDP8-3	100,169	15,008	88,786
DMDP8-4	95,868	15,852	89,207
DMDP8-5	97,470	15,008	88,702
DMDP16-1	103,794	25,717	50,759
DMDP16-2	96,037	19,815	64,755
DMDP16-3	99,410	19,309	63,912
DMDP16-4	99,241	19,815	64,587
DMDP16-5	95,784	19,309	63,575

## Lampiran 11. Hasil Analisis Statistik

### 1. Uji Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Foam Cell 8 Minggu	,176	15	,200*	,924	15	,224
Foam Cell 16 Minggu	,168	15	,200*	,947	15	,483

\*, This is a lower bound of the true significance,

a, Lilliefors Significance Correction

### 2. Uji Homogenitas

		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
Foam Cell 8 Minggu	Based on Mean	1,197	2	12	,336
	Based on Median	,366	2	12	,701
	Based on Median and with adjusted df	,366	2	10,816	,702
	Based on trimmed mean	1,119	2	12	,359
Foam Cell 16 Minggu	Based on Mean	1,300	2	12	,308
	Based on Median	,635	2	12	,547
	Based on Median and with adjusted df	,635	2	11,823	,547
	Based on trimmed mean	1,265	2	12	,317

### 3. Uji Repeated ANOVA

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Waktu	Sphericity Assumed	86,700	1	86,700	20,731	,000
	Greenhouse-Geisser	86,700	1,000	86,700	20,731	,000
	Huynh-Feldt	86,700	1,000	86,700	20,731	,000
	Lower-bound	86,700	1,000	86,700	20,731	,000
Error(Waktu)	Sphericity Assumed	58,550	14	4,182		
	Greenhouse-Geisser	58,550	14,000	4,182		
	Huynh-Feldt	58,550	14,000	4,182		
	Lower-bound	58,550	14,000	4,182		

#### 4. Uji Post-Hoc Metode LSD

##### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah\_Foam\_Cell

	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	N8	N16	-2,80000	1,69804	,112	-6,3046	,7046
		DM8	-2,80000	1,69804	,112	-6,3046	,7046
		DM16	-7,30000*	1,69804	,000	-10,8046	-3,7954
		DM+DP8	5,20000*	1,69804	,005	1,6954	8,7046
		DM+DP16	2,30000	1,69804	,188	-1,2046	5,8046
	N16	N8	2,80000	1,69804	,112	-,7046	6,3046
		DM8	,00000	1,69804	1,000	-3,5046	3,5046
		DM16	-4,50000*	1,69804	,014	-8,0046	-,9954
		DM+DP8	8,00000*	1,69804	,000	4,4954	11,5046
		DM+DP16	5,10000*	1,69804	,006	1,5954	8,6046
DM8	N8	N16	,00000	1,69804	1,000	-3,5046	3,5046
		DM16	-4,50000*	1,69804	,014	-8,0046	-,9954
		DM+DP8	8,00000*	1,69804	,000	4,4954	11,5046
		DM+DP16	5,10000*	1,69804	,006	1,5954	8,6046
		N16	N8	2,80000	1,69804	,112	-,7046
	DM16		-4,50000*	1,69804	,014	-8,0046	-,9954
	DM+DP8		8,00000*	1,69804	,000	4,4954	11,5046
	DM+DP16		5,10000*	1,69804	,006	1,5954	8,6046
	DM16		N8	7,30000*	1,69804	,000	3,7954
		N16	4,50000*	1,69804	,014	,9954	8,0046
DM8		4,50000*	1,69804	,014	,9954	8,0046	
DM+DP8		12,50000*	1,69804	,000	8,9954	16,0046	
DM+DP16		9,60000*	1,69804	,000	6,0954	13,1046	
DM+DP8	N8	-5,20000*	1,69804	,005	-8,7046	-1,6954	
	N16	-8,00000*	1,69804	,000	-11,5046	-4,4954	
	DM8	-8,00000*	1,69804	,000	-11,5046	-4,4954	
	DM16	-12,50000*	1,69804	,000	-16,0046	-8,9954	
	DM+DP16	-2,90000	1,69804	,101	-6,4046	,6046	



DM+DP16	N8	-2,30000	1,69804	,188	-5,8046	1,2046
	N16	-5,10000*	1,69804	,006	-8,6046	-1,5954
	DM8	-5,10000*	1,69804	,006	-8,6046	-1,5954
	DM16	-9,60000*	1,69804	,000	-13,1046	-6,0954
	DM+DP8	2,90000	1,69804	,101	-,6046	6,4046

\*, The mean difference is significant at the 0,05 level,

### 5. Uji Post-Hoc Metode Duncan

Duncan<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0,05			
		1	2	3	4
DM+DP8	5	4,0000			
DM+DP16	5	6,9000	6,9000		
N8	5		9,2000	9,2000	
N16	5			12,0000	
DM8	5			12,0000	
DM16	5				16,5000
Sig,		,101	,188	,131	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed,

a, Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000,



## Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan Pakan Tikus di Lab Gizi



2. Penempatan Tikus



3. Penimbangan Berat Badan Tikus



4. Penyuntikan STZ



5. Darapladib

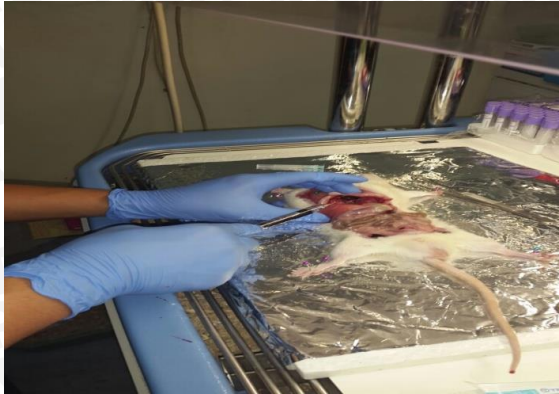


6. Penyondean Darapladib





7. Pembedahan Tikus



8. Parafin Blok



9. Pemotongan Blok Parafin Menggunakan Mikrotom



10. Scan dan Penghitungan Jumlah Sel Busa

