

repository.ub.ac.id

UJI TOKSISITAS SUB KRONIK GANODERMA LUCIDUM PADA TARGET ORGAN AORTA

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Spesialis**



Oleh :

**dr. Gregorius didik W
128071300111005**

**PROGRAM STUDI ILMU PENYAKIT JANTUNG DAN PEMBULUH DARAH
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG**

**MALANG
2017**





LEMBAR PERSETUJUAN
UJI TOKSISITAS SUB KRONIK GANODERMA LUCIDUM PADA
TARGET ORGAN AORTA

TESIS

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat

untuk meraih gelar spesialis

OLEH:

dr. Gregorius didik W

128071300111005

Menyetujui untuk diuji

Pembimbing I

dr. Heny Martini, Sp.JP(K)

NIP.19711016 200012 2 001

Pembimbing II

dr. M Saifur Rohman, Sp.JP(K), PhD

NIP.19681031 199702 1 001

**LEMBAR PENGESAHAN
UJI TOKSISITAS SUB KRONIK GANODERMA LUCIDUM PADA
TARGET ORGAN AORTA**

TESIS

OLEH:

dr. Gregorius didik W

128071300111005

Dipresentasikan di depan penguji
Pada tanggal : 05 Februari 2018
Dan dinyatakan memenuhi syarat

Disetujui oleh

Komisi Pembimbing

Pembimbing I

dr. Heny Martini, Sp.JP(K)

NIP.19711016 200012 2 001

Pembimbing II

dr. M Saifur Rohman, Sp.JP(K), PhD

NIP.19681031 199702 1 001

Penguji I

dr. Dadang Hendrawan, Sp.JP(K), FIHA, FASCC

NIP. 19550518 198503 1 010

Penguji II

dr. Cholid Tri Tjahjono, Mkes, Sp.JP(K)

NIP. 19620724 198903 1 002

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah tesis penelitian ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah proposal penelitian ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia tesis penelitian ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh di batalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, November 2017

Mahasiswa,

Nama : Gregorius didik W.

PS : PPDS – I Ilmu Penyakit Jantung

dan Pembuluh Darah

Fak. : Kedokteran Universitas Brawijaya

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Tuhan Y.M.E., karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul **“UJI TOKSISITAS**

SUBKRONIK *Ganoderma lucidum* PADA TARGET ORGAN AORTA”

Dengan selesainya penelitian ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Restu Kurnia Tjahjani, M.Kes, selaku Direktur RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.
3. Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, SpPD, SpJP(K) selaku Ketua Peneliti Kardiovaskular-Biologi Molekular yang telah mendampingi dan memberi pengarahan terhadap penulis selama penelitian berlangsung.
4. Dr. Heny Martini SpJP(K) dan dr. M Saifur Rohman, PhD, SpJP (K) dan selaku Dosen Pembimbing yang telah mendampingi dan memberi pengarahan terhadap penulis selama penelitian berlangsung.
5. dr. Sasmoro Widito, SpJP (K) selaku Kepala Laboratorium Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya - RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.
6. dr. M. Saifur Rohman, Ph.D., SpJP (K) selaku Kepala Program Studi Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya - RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.
7. dr. Budi Satrijo, Sp.JP(K) selaku pembimbing Akademik Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya - RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.
8. Dr. Pawik Supriadi, Sp.JP(K), dr. Dadang Hendrawan Sp.JP(K), dr. Cholidy Tri Tjahyono,Mkes, SpJP (K), dr.Setyasih Anjarwani SpJP(K), dan Seluruh staf pengajar Lab/SMF Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah / RSU dr Saiful Anwar Malang atas semua pengetahuan, bimbingan, dorongan dan nasehat yang telah penulis terima selama proses penyelesaian penelitian ini.

9. Seluruh staf Lab/SMF Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah / RSU dr Saiful Anwar Malang yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas semua pengetahuan, bimbingan, dorongan dan nasehat yang telah penulis terima selama proses penyelesaian penelitian ini.
10. Orang tua penulis, dr. P.J. Soehandono Sp.PA dan B.E.S Kusumartinah (alm), yang telah melahirkan dan membesarkan dengan penuh kasih sayang, serta memberikan dorongan dan bantuan serta doa restu yang tiada henti untuk penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
11. Istri terkasih dan tercinta Veronika Arienta beserta anak-anak, Bernadeth Talitha S, Benedictus Danurwendo S, Fransiskus mosses P atas semua doa dan dukungannya yang tak pernah berhenti.
12. Teman–teman seangkatan dr.Moh Ali T, dr.Samsul B, dr. Ike dyah A.P, dr. Santy Cintiana, serta teman–teman mahasiswa yang bersama-sama mengerjakan proyek penelitian ini, beserta para pembimbing pohon penelitian ini Prof. Dr.dr. H. Djanggan Sargowo, Sp.PD, Sp. JP (K), Prof. dr. M. Aris Widodo, Sp.FK., Ph.D., Dr. Titin Andri Wihastuti, S.Kp., M.Kes., dr.Teuku Heriansyah, Sp.JP (K).
13. Rekan-rekan PPDS Program Studi Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah FK Unibraw Malang yang telah banyak membantu dan bekerja sama selama proses penelitian.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang memberikan bantuan, saran dan masukan demi selesainya penelitian ini.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, masih dirasakan banyak kekurang tepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang

Malang, November 2017

Penulis



ABSTRAK

Dr. Gregorius didik. NIM 128071300111005 – PPDS I Ilmu Penyakit Jantung dan Pembuluh Darah Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, September 2015.

Uji Toksisitas sub Kronik Ganoderma Lucidum Pada Target Organ Aorta. Pembimbing: Prof. Dr. dr. Djangan Sargowo, Sp.PD., Sp.JP (K), dr.Heny Martini,Sp.JP (K), dr. M. Saifur Rohman,Sp.JP (K) PhD.

Pengetahuan yang kita miliki tentang atherosclerosis, akan semakin memudahkan untuk mencegah atau menyembuhkannya. *Ganoderma lucidum* dengan kandungan triterpenoid dan polisakarida serta memiliki kandungan bioaktif β -glucan. Triterpenoid telah dilaporkan memiliki efek anti-hipertensi, hipokolesterolemik dan anti-angiogenic, efek pada agregasi platelet dan inhibisi komplemen. Polisakarida, terutama β -glucans, telah diketahui memiliki efek anti-tumor melalui imunomodulasi dan antiangiogenesis. Selain itu, polisakarida memiliki efek perlindungan terhadap radikal bebas yang berperan pada inflamasi.

Ganoderma lucidum mempunyai sejarah panjang lebih dari 2000 tahun dalam penggunaannya untuk berbagai kepentingan pengobatan. Beberapa kelas substansi bioaktif yang terisolasi dan teridentifikasi dari *Ganoderma lucidum* seperti *triterpenoids*, *polysaccharides*, *nucleosides*, *sterols* dan *alkaloids* telah menunjukkan fungsi dan peranan sebagai anti inflamasi, anti tumor, antioksidan, imunomodulasi dan radioproteksi. oleh karena itu *Ganoderma lucidum* dapat dikembangkan sebagai pengobatan komplementer pada penyakit kardiovaskular.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan peptida polisakarida (*Ganoderma Lucidum*) sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang efektif dalam menghambat progresifitas atherosclerosis sebagai penyakit kardiovaskuler yang sangat berhubungan erat dengan kejadian stress oksidatif dan proses inflamasi. Pada tahun kedua penelitian direncanakan uji toksitas akut menggunakan tikus balb/c dengan 5 variasi dosis dan diamati setiap hari selama 7 hari. Pada uji toksitas akut juga akan ditentukan *lethal dose* 50 selama 24 jam. Uji toksitas subkronik menggunakan *Rattus Novergicus*



Strain Wistar jantan dan betina yang masing dibagi menjadi 5 kelompok dosis selama 3 bulan. Pemberian ekstrak dilakukan secara per oral (penyondean) sebanyak 1 cc tiap ekor. Parameter yang dinilai pada penelitian ini adalah histopatologi organ aorta

Upaya untuk mengembangkan polisakarida peptida (*Ganoderma lucidum*) sebagai antioksidan dan antiinflamasi, pada penelitian sebelumnya telah terbukti secara signifikan mengurangi tingkat MDA, hs-CRP, H₂O₂, kolesterol total, dan sel busa dan juga meningkatkan tingkat HDL di *Rattus norvegicus* tikus strain wistar yang diberi diet tinggi lemak.

Penelitian Uji toksitas perlu dilakukan untuk mengetahui efek toksitas subkronik *Ganoderma lucidum* pada hewan coba, dalam hal ini pengaruhnya pada target organ Aorta.

Kata kunci: *Ganoderma lucidum*, inflamasi, aterosklerosis, penyakit kardiovaskular.

ABSTRACT

Dr. Gregorius didik. NIM 128071300111005 - PPDS I Cardiology And Vascular Faculty of Medicine Universitas Brawijaya Malang, September 2015. Administration of Ganodema

Lucidum in the target organ of Aorta by evaluating the effect of Sub Chronic Toxicity.

Supervisor: Prof. Dr. dr. Djangan Sargowo, Sp.PD., Sp.JP (K), dr. Heny Martini, Sp.JP (K), dr. M. Saifur Rohman, Sp.JP (K) Ph. D.

The knowledge that we have about atherosclerosis, will make it easier to prevent or cure it. *Ganoderma lucidum* with triterpenoid and polysaccharide content and has a bioactive content of β -glucan. Triterpenoids have been reported lead anti-hypertensive, hypocholesterolemic and anti-angiogenic effects, effects on platelet aggregation and complement inhibition. Polysaccharides, especially β glucans, have been known lead anti-tumor effects through immunomodulation and antiangiogenesis. In addition, polysaccharides have a protective effect against free radicals that play a role in inflammation.

Ganoderma lucidum has a long history of over 2000 years of use for a variety of medical purposes. Several classes of bioactive substances isolated and identified from

Ganoderma lucidum as triterpenoids, polysaccharides, nucleosides, sterols and alkaloids have demonstrated the function and role as an anti-inflammatory, anti-tumor, antioxidant, immunomodulating and radio protection. Therefore *Ganoderma lucidum* can be developed as a comprehensive treatment of cardiovascular disease.

This research is to prove that polysaccharide peptide (*Ganoderma Lucidum*) as an antioxidant and antiinflamation that effectively blocked the progressively of atherosclerosis that one of cardiovascular diseases which has connection with the occurrence of oxidative stress and inflammation process. In this second year of research is planned with testing the acute toxicity using balb/c rat with 5 variant dose and we observed it every day in 7 days. In this acute toxicity test also determined with lethal dose 50 in 24 hours. Sub chronic toxicity test using Rattus Novergicus Strain Wistar both male and female that divided into 5 dose groups in 3 month. The extract is

administered orally (using sonde) with 1 cc per each rat. The assessed parameter in this research is the histopathology of the aorta.

Efforts to develop polysaccharide peptide (*Ganoderma lucidum*) as antioxidant and antiinflammation in previous studies had proved its ability to significantly reduce the level of MDA, hs-CRP, H₂O₂, total cholesterol, and foam cell and also increase the level of HDL in *Rattus norvegicus* wistar strain rats which was given high fat diet.

Furthermore, additional study has to be done to understand the toxicity effect of subchronic administration of polysaccharide peptide (*Ganoderma lucidum*) especially on target organ Aorta.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, inflammation, atherosclerosis, cardiovascular disease.



HALAMAN JUDUL.....

LEMBAR PERSETUJUAN.....

KATA PENGANTAR.....

ABSTRAK.....

DAFTAR ISI.....

DAFTAR GAMBAR.....

DAFTAR TABEL.....

DAFTAR SINGKATAN.....

BAB I PENDAHULUAN.....

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penulisan	3
1.4 Manfaat Penelitian	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....

2.1 Physiologi pembuluh darah	4
2.2 Patophysiologi Aterosklerosis	4
2.3 Pemicu dan Faktor Resiko Aterosklerosis	9
2.4 Indikator Inflamasi Sistemik	14
2.5 Ganoderma Lucidum	18
2.5.1 Sejarah Ganoderma lucidum	20
2.5.2 Taxonomi Ganoderma lucidum	21
2.5.3 Peran Ganoderma Lucidum	24
2.6 Uji toksisitas	35
2.7 Toksisitas organ aorta	36

DAFTAR ISI

i

ii

v

vii

xi

xiii

xiv

xv

1

1

2

3

3

4

4

4

4

9

14

18

20

21

24

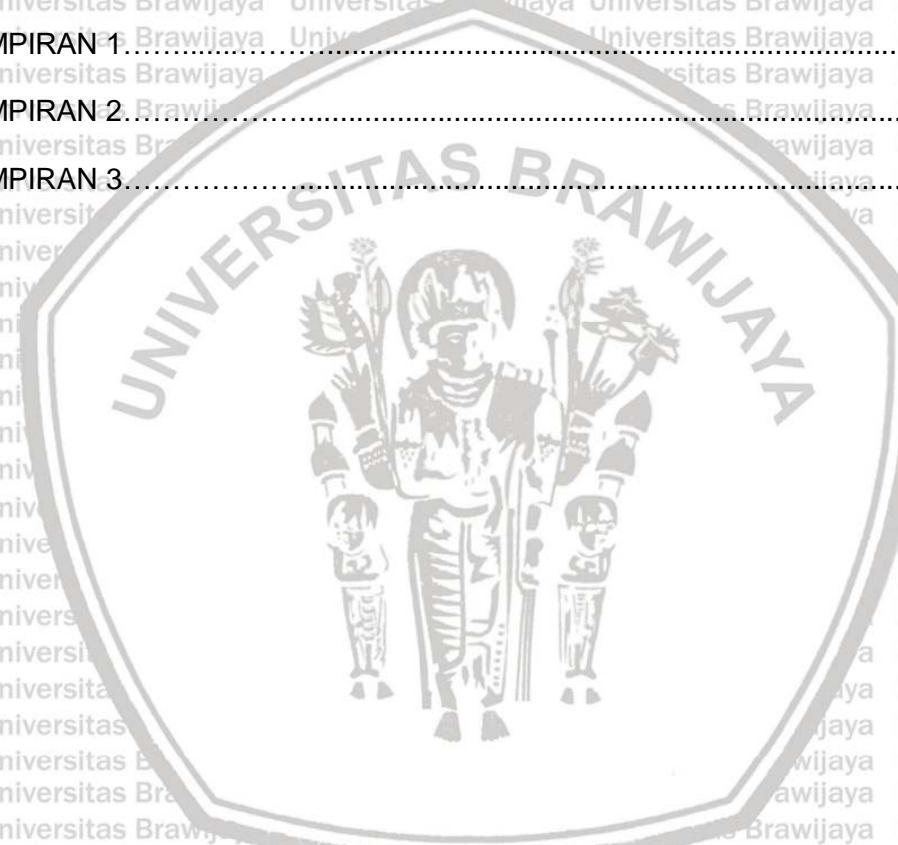
35

36

xi



BAB III KERANGKA KONSEP	44
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	46
BAB V HASIL PENELITIAN	55
BAB VI PEMBAHASAN	65
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN 1	84
LAMPIRAN 2	86
LAMPIRAN 3	88





DAFTAR TABEL	
Tabel 1. Perubahan histopatologi organ aorta	53
Tabel 2. Jadwal penelitian.....	54
Tabel 3. Pengamatan klinis tikus betina.....	56
Tabel 4. Pengamatan klinis tikus jantan.....	57
Tabel 5. Rerata berat badan tikus.....	58
Tabel 6. Pengamatan temuan gross organ aorta betina.....	60
Tabel 7. Pengamatan temuan gross organ aorta jantan.....	60
Tabel 8. Pengamatan histopatologi organ aorta betina.....	62
Tabel 9. Pengamatan histopatologi organ aorta jantan.....	62

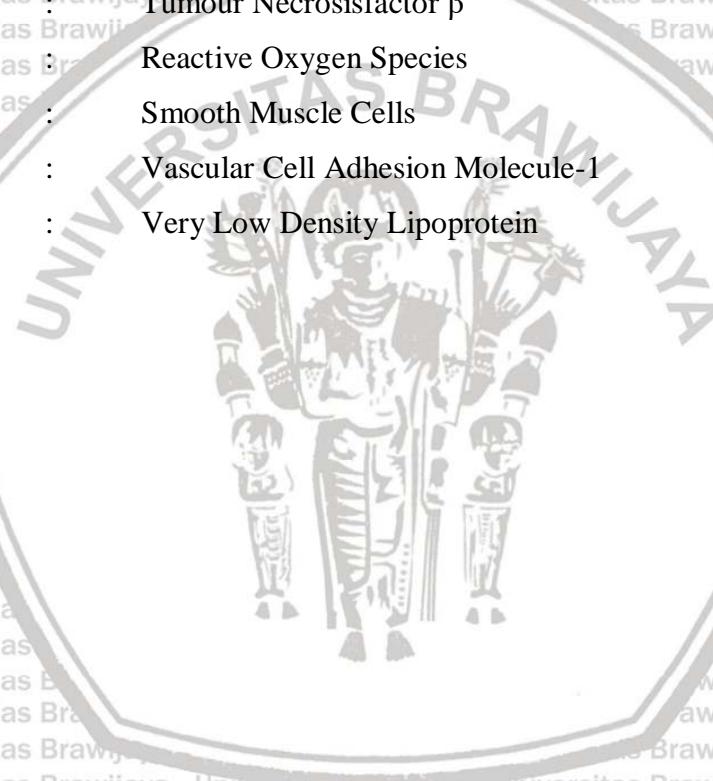
	DAFTAR GAMBAR	
Gambar 1. Respon Inflamasi pada Atherogenesis.....	5	
Gambar 2. Pembentukan sel busa.....	7	
Gambar 3. Interaksi faktor resiko aterosklerosis.....	9	
Gambar 4. Proses respon inflamasi dan biobarker spesifik.....	17	
Gambar 5. Gambar 5. Struktur (1,3)- β -D-glucan.....	24	
Gambar 6. Struktur molekul inti asam ganoderic, subtipe triterpen.....	26	
Gambar 7. Gambaran umum berbagai macam mekanisme seluler yang dipengaruhi oleh triterpen dan polisakarida dari <i>Ganoderma lucidum</i>	27	
Gambar 8. Struktur molekul polisakarida dari <i>G. lucidum</i> .consist monomer D-Galaktosa	34	
Gambar 9. Histopatologi jantung normal	40	
Gambar 10. Histopatologi organ aorta dengan vasculitis dan focal hemorrhage.....	40	
Gambar 11. Kerangka konsep.....	44	
Gambar 12. Alur Penelitian.....	53	
Gambar 13. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus.....	58	
Gambar 14. Gambaran gross organ aorta betina kontrol A, Gambaran gross organ aorta betina perlakuan B.....	59	
Gambar 15. Gambaran gross organ aorta jantan kontrol A, Gambaran gross organ aorta jantan perlakuan B.....	59	
Gambar 16. Dot scan histopatologi tikus jantan kontrol.....	63	
Gambar 17. Histopatologi tikus jantan, perlakuan 300 mg psp. A: 600mg psp B: 1200mg psp C.....	63	
Gambar 18. Dot scan histopatologi betina.....	64	
Gambar 19. . Histopatologi tikus betina, perlakuan 300 mg psp. A: 600mg psp B: 1200mg psp C.....	64	



DAFTAR SINGKATAN

AIDS	: Acquired Immunodeficiency Syndrome
AI	: Angiotensin II
AGE	: Advanced Glycosylation End product
BCE	: Before The Common Era
BPH	: Benign Prostatic Hyperplasia
FD&C	: Act, Food, Drug, and Cosmetics Act
CRP	: C -Reactive Protein
eNOS	: endothelial Nitrogen Oxide Synthase
ET-1	: Endothelin-1
GA	: Ganoderic Acid
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
HDL	: High Density Lipoprotein
HMGCo	: 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA
HMGR	: 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA reductase
ITS	: Internal Transcribed Spacer
ICAM-1	: Intercellular Adhesion Molecule-1,
IFN- γ	: γ -Interferon
IL-1	: Interleukin-1
MMP	: Matrix Metalloproteinase
Mt-SSU	: Mitochondrial Small-Subunit
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1
MCSF	: Macrophage Colony Stimulating Factor
NFB	: Nuclear Factor KappaB
NO	: Nitrogen Oxide
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
Lp(a)	: Lipoprotein (a)
LDL	: Low Density Lipoprotein
oxLDL	: oxidized LDL
PAR	: Protease Activated Receptor

IL-18	: Interleukin-18
LOX-1	: Lectin-like Oxidized low-density lipoprotein receptor-1
Lp-PLA2	: Lipoprotein-associated Phospholipase
RPBII	: RNA Polymerase II subunit
RPBI	: RNA Polymerase I subunit
TCM	: Traditional Chinese Medicine
TEF1-a	: Translational Elongation Factor 1-alpha
TF	: Tissue Factor
TNF-β	: Tumour Necrosisfactor β
ROS	: Reactive Oxygen Species
SMCs	: Smooth Muscle Cells
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule-1
VLDL	: Very Low Density Lipoprotein



BAB I

PENDAHULUAN

1. LATAR BELAKANG

Diperkirakan dalam dua dekade ke depan, penyakit kardiovaskular yang timbul dari aterosklerosis akan menjadi penyebab utama kematian secara global. Prevalensi yang tinggi di sebagian besar negara maju dan beberapa negara berkembang. Penyakit kardiovaskular berkontribusi terhadap 38% kematian di Amerika dan merupakan penyebab utama kematian pria Eropa di bawah usia 65 tahun. Atherosclerosis adalah penyebab mendasar yang paling penting pada gagal jantung, penyakit arteri koroner, dan stroke.^{1,2,3}

Atherosclerosis berasal dari kata Yunani 'athero' yang berarti pasta dan 'sklerosis' yang berarti pengerasan. Hal ini dapat digambarkan sebagai penyakit arteri yang ditandai dengan terbentuknya plak atheromatosa (terdiri dari kolesterol dan makrofag) dan penyempitan arteri (stenosis). Atherosclerosis dapat berkembang pada arteri elastis dan otot yang berukuran menengah atau besar. Inflamasi adalah proses biologis yang terjadi sebagai respon yang timbul dari zat (patogen, sel yang rusak, toksin, iritasi) yang menimbulkan ancaman untuk kelangsungan hidup sel dan organisme secara keseluruhan. Ini melibatkan sistem kekebalan tubuh yang menghasilkan sel darah putih untuk menghancurkan rangsangan yang berbahaya dan sistem vaskular (membantu masuk transpor leukosit ke dalam sel). Atherosclerosis mengembangkan faktor penyebab termasuk kegagalan sistem kekebalan tubuh untuk melawan atau menghancurkan modifikasi LDL, radikal bebas, infeksi dan atau agen berbahaya lainnya yang terdeteksi oleh sistem sebagai kondisi penyakit asing. Masalah timbul karena adanya ketidakmampuan leukosit (monosit dan limfosit T) untuk menghancurkan atau mengeluarkan molekul asing ini sehingga memicu respons kekebalan lebih lanjut yang menyebabkan Arteri

mengalami inflamasi. Sel yang terinfiamasi menghasilkan radikal bebas, yang berpartisipasi dalam degradasi sel. Lesi aterosklerosis dapat tetap asimptomatik selama bertahun-tahun dan menghilang seiring berjalannya waktu atau berkembang menjadi tahap penyakit dimana manifestasi klinis semacam angina pectoris yang tidak stabil dan infark miokard.

Atherosclerosis adalah penyakit kronis yang berkembang selama bertahun-tahun dan bersifat kumulatif.^{1,4-9}

Diperlukan pemahaman peran dan pentingnya inflamasi pada atherosclerosis, struktur dan fungsi arteri, mekanisme atherogeneis dan perkembangannya, faktor risiko, biomarker yang terkait dengan atherosclerosis serta perawatan yang tersedia. Intervensi terapeutik yang diberikan oleh penemuan obat dan ahli nutrisi bertujuan membatasi atherosclerosis atau menekan sekuel. Ganoderma lucidum mempunyai kandungan triterpenoid dan polisakarida. Triterpenoid telah dilaporkan memiliki efek anti-hipertensi, hipokolesterolemik dan anti-angiogenic, efek pada agregasi platelet dan inhibisi komplemen. Polisakarida, terutama β -glucans, telah diketahui memiliki efek anti-tumor melalui imunomodulasi dan antiangiogenesis. Selain itu, polisakarida memiliki efek perlindungan terhadap radikal bebas yang berperan pada inflamasi.^{1,2,3}

2. RUMUSAN MASALAH

2.1. Apakah pemberian dosis besar *Ganoderma lucidum* subkronik berpengaruh pada kerusakan sel-sel aorta?

2.2. Apakah *Ganoderma lucidum* aman digunakan sebagai terapi komprehensif penyakit kardiovaskular?

3. TUJUAN PENULISAN

3.1. Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini untuk membuktikan apakah *Ganoderma lucidum* memiliki efek toksitas subkronik pada target organ aorta hewan coba.

3.2. Tujuan Khusus

3.2.1. Mengetahui efek toksitas subkronik pemberian *Ganoderma lucidum* pada target organ aorta.

3.2.2. Mengetahui gambaran histopatologi aorta setelah diberikan dosis besar *Ganoderma lucidum* subkronik.

3.2.3. Mengetahui peranan *Ganoderma lucidum* yang digunakan dalam pengembangan pengobatan komprehensif kardiovaskular.

4. Manfaat penelitian

4.1. Penelitian ini menjadi studi uji toksitas subkronik *Ganoderma lucidum* sehingga dapat menilai keamanan penggunaan *Ganoderma lucidum* dalam pengembangan pengobatan komprehensif kardiovaskular.

4.2. Penelitian ini memberikan manfaat akademis untuk pengembangan pengetahuan toksitas subkronik dari pemberian *Ganoderma lucidum*.

4.3. Menambah referensi bacaan ilmiah yang dapat digunakan sebagai kajian pustaka untuk penulisan karya ilmiah atau penelitian selanjutnya yang terkait dengan studi toksitas *Ganoderma lucidum* dan pengembangan penggunaan *Ganoderma lucidum* pada pengobatan kardiovaskuler.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Physiologi pembuluh darah

Studi morfologi pembuluh darah khususnya arteri menunjukkan adanya lapisan luar (tunika adventia), tunica media (beberapa lapisan sel otot polos) dan interior (tunika intima) dilapisi dengan Endotelium. Bila ada keseimbangan antara konsentrasi nitrogen oksida (NO : Vasodilator) dan endothelin-1 (ET-1:vasokonstriktor) di arteri, endotelium terlindung dari cedera, inflamasi dan trombosis. Selain itu, leukosit tidak dapat mengikat endothelium, sel otot polos (SMCs) tidak berkembang biak dan agregasi platelet diminimalkan. Namun, ketika faktor risiko aterosklerosis terjadi, perlindungan yang diberikan pada sel endotel oleh keseimbangan tersebut terganggu karena produksi dan aktivitas oksida nitrogen terhambat.¹

2.2 Patophysiology Atherosclerosis

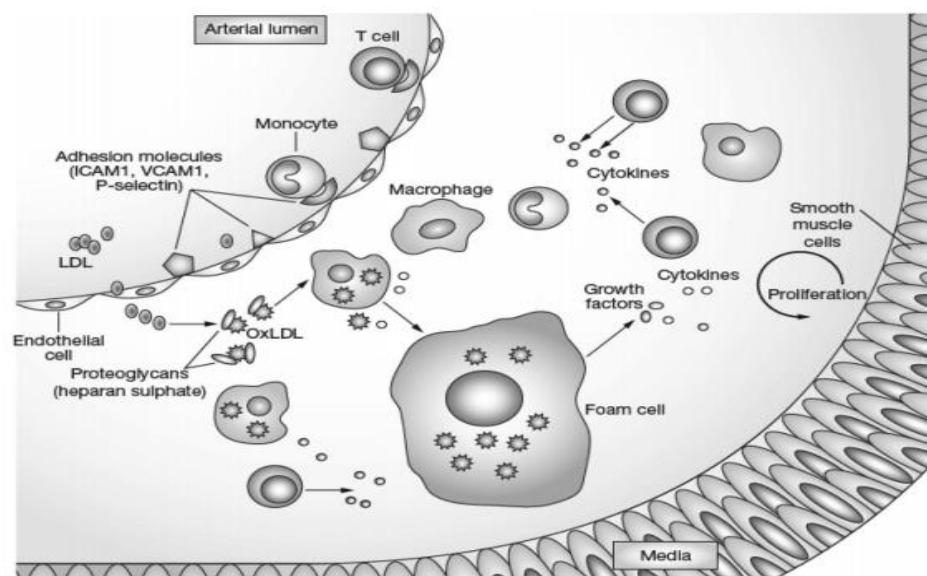
2.2.1 Inisiasi

Mekanisme pengaturan fungsi reseptor lipoprotein densitas rendah (LDL) berfungsi sedemikian rupa sehingga ekspresi reseptor ini dihentikan saat sel telah menyerap cukup kolesterol sesuai kebutuhan metabolismenya. Ini tidak seperti keadaan dimana ada penumpukan lipid yang berlebihan: partikel lipoprotein dapat terbentuk di intima arteri sebagai akibat peningkatan diet lemak (kolesterol dan lemak jenuh) dalam darah, mekanisme kontrol reseptor LDL yang salah atau cacat genetik pada LDL receptor (pada familial hiperkolesterolemia). LDL disusun pada proteoglikan endothelium dan mengikatnya bersama membentuk agregat. Setelah melekat pada proteoglikan, lipoprotein menjadi sangat rentan terhadap oksidasi dan modifikasi kimia lainnya. Ciri yang sangat penting dari patogenesis awal atherosclerosis. Stres

oksidatif yang diakibatkan oleh NADH / NADPH oksidase sel vaskular, lipooksigenase leukosit infiltrasi (monosit dan limfosit-T) atau enzim myeloperoxidase berperan pada tahap ini. Oksidasi LDL (oxLDL) meningkatkan perekat dan permeabilitas leukosit pada endotelium yang menginduksi prokoagulant dan koagulan.²⁻⁵

Endothelium diinduksi untuk mengekspresikan molekul adhesi leukosit (vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) dan P-selectins dalam perkembangan lesi aterosklerosis. Sinyal diproduksi oleh chemoattractants ketika monosit memasuki endotelium (gambar.1) memungkinkan monosit bermigrasi ke dinding arteri.

Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) disintesis oleh endothelial dan SMCs, Ekspresi VCAM-1 meningkat saat atheroma mulai terbentuk (gambar 2). Percobaan yang dilakukan dengan menggunakan kelinci dan tikus menunjukkan bahwa konsentrasi VCAM-1 di Endothelium meningkat sebelum masuknya leukosit. Penelitian selanjutnya menggunakan Tikus mutan MCP-1 mendeteksi adanya penundaan dalam pembentukan ateroma saat itu Tikus terkena kondisi hiperlipidimik.^{3, 5, 6}



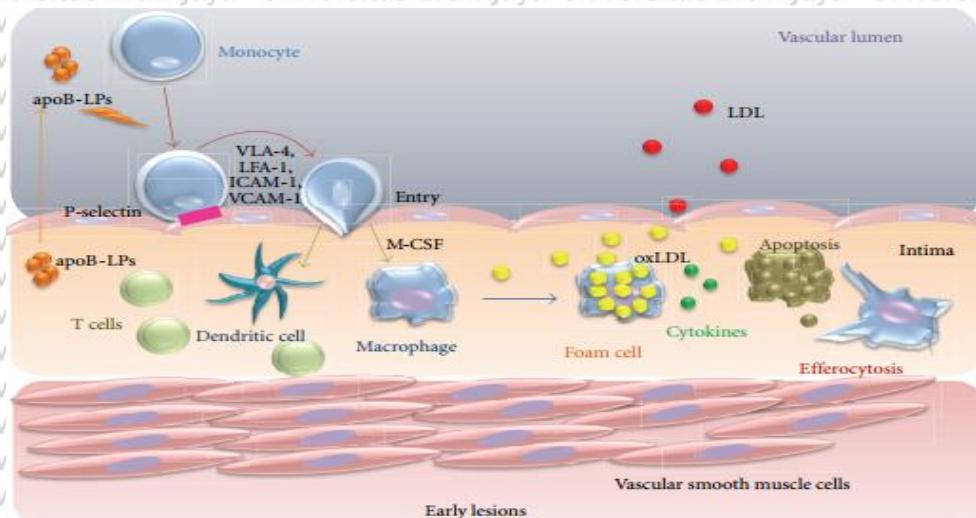
Gambar 1. Respon Inflamasi pada Atherogenesis.(ANTONIO M. GOTTO, JR., M.D., D.PHIL)

Sel dendritik, sel T dan sel mast dibawa ke endothelium yang berperan dalam pembentukan plak aterosklerotik. Sel T dapat memasuki intima endotelium dengan mengikat VCAM-1. Sel-sel T merespons sinyal inflamasi dengan mengatur produksi γ-interferon (IFN-γ) dan limfotoksin, tumor necrosis factor β (TNF-β). Ini merangsang makrofag, endotelium vaskular dan SMCs untuk mengadakan respon inflamasi.^{2,3,7}

2.2.2 Pembentukan sel busa (Fatty Streak)

Ketika monosit menembus ke intima, dengan menggunakan LDL yang dimodifikasi untuk memediasi makrofag yang sarat lipid (gambar.1). Proses yang dimediasi oleh macrophage-colony stimulating factor (MCSF) yang memungkinkan konversi monosit menjadi makrofag. MCSF memfasilitasi ekspresi reseptor scavenger receptor-A yang mengikat LDL yang dimodifikasi untuk membentuk sel busa dengan menginternalisasi modifikasi LDL. MCSF menyediakan sumber yang kaya aktivator inflamasi seperti sitokin (IFN-γ, limfotoksin, TNF-α), kemokin, Eicosanoids dan faktor pengaktifan platelet. Lingkungan fagosit seperti itu menjadi rawan terhadap generasi spesies oksigen reaktif (ROS) seperti anion superoksida. Ketika produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan inangnya, rangkaian stres oksidatif yang mengarah pada kerusakan molekul atau sel arteri. Inflamasi yang terjadi terus menerus menangsang Makrofag dan aktivasi limfosit yang menghasilkan pelepasan enzim hidrolitik, sitokin, kemokin dan faktor pertumbuhan yang menyebabkan lebih banyak kerusakan. Berbagai molekul (oxLDL, toksin bakteri, dan sisa-sisa apoptosis) diserap ke dalam makrofag melalui toll-like receptors. Studi yang dilakukan oleh Bjorkbacka dkk. Menggunakan tikus tanpa (apo-E dan toll-like receptors) mengungkapkan bahwa lesi aterosklerotik tidak berkembang pada tikus ini.

Dilaporkan bahwa toll-like receptors menghasilkan sinyal untuk mengaktifkan makrofag.¹⁻⁹



Gambar 2. Pembentukan sel busa (Ting Gui,1 Aiko Shimokado)

2.2.3 Plak Aterosklerosis

Saat atherosclerosis berlanjut, lesi kompleks terbentuk dari lemak dengan migrasi kontinu dan proliferasi SMCs. Bila ini terjadi, lesi yang dibentuk diikuti oleh penebalan dan pelebaran dinding arteri berikutnya. Ekstraselular matriks juga terakumulasi dan menyebabkan remodeling positif atau kompensasi pembesaran untuk mengakomodasi pertumbuhan arteri. Pengapuran juga bisa terjadi sehingga plak lebih mengeras. Seiring waktu, leukosit yang diaktifkan bersamaan dengan produksi sel arterial Mediator fibrogenik dan faktor pertumbuhan yang meningkatkan SMCs dan pembentukan matriks ekstraselular padat,dan fibrous cap. Platelet derived growth factor (PDGF) disekresikan oleh makrofag yang teraktivasi meningkatkan migrasi dan proliferasi SMCs (dari Media tunika ke intima) dan diekspresikan dalam atherosclerosis. Kematian SMCs dimediasi oleh sel T, kejadian yang menghambat plak atherosclerosis.^{1, 2, 5, 6, 10}

2.2.4 Penipisan dan Pengangkatan Fibrous Cap

Pada stadium lanjut aterosklerosis, makrofag teraktivasi menurunkan kestabilan fibrous cap dengan memproduksi enzim proteolitik yang menghancurkan konstituen kolagen dari tutupnya (gambar 2). Respon inflamasi dilakukan dengan interaksi CD40 / CD40L dengan sel T yang diaktifkan makrofag, aktivitas yang menghasilkan tissue factor, matriks metaloproteinase (MMP) dan Sitokin proinflamasi. MMP adalah protease yang membelah gelatin dan tipe komponen kolagen IV pada membran dasar. Dengan adanya oxLDL, ROS, TNF- α dan IL-1 (interleukin-1) di dalam endotelium, MMP dilepaskan dari sel busa dan SMCs. Aktivitas proteolitik membuat plak aterosklerotik lemah dan kurang stabil. Menurut Szmitko dkk, sitokin (TNF- α , IL-1 β), oxLDL dan CD40L terlibat dalam membuat tutup fibrosa tipis dengan mengaktifkan ekspresi MMP. Ekspresi tinggi MMP, T-sel aktif dan TF menyebabkan pelemahan plak aterosklerotik dan pembentukan Trombus.^{1,7,11}

Karena tutup fibrosa tumbuh lebih lemah, ia menjadi sangat rentan terhadap tekanan hemodinamik. Stres menyebabkan terganggunya plak aterosklerotik yang bisa memicu trombosis dan mungkin menyebabkan infark miokard akut. Prothrombotic dihasilkan saat plak lepas dan isinya keluar. Lipid tumpahan menyebabkan lebih banyak peradangan. Sel dendritik pada lesi aterosklerotik membentuk antigen ke sel T: lipoprotein yang dimodifikasi, heat shock proteins, beta-2-glikoprotein dan agen infeksius dapat berfungsi sebagai antigen. Pembentukan dipercepat trombin sebagai tissue factor, faktor von Willebrand dan kolagen subendotel (Zat yang ekspresinya dimediasi oleh IL-1, TNF- α , dan CD40L) bersentuhan dengan komponen darah. Akibatnya, trombosit diaktifkan dan mengikat menjadi satu agregat. Lebih banyak trombosit dilepaskan dan siklus yang menguatkan inflamasi juga mempercepat pembentukan aterosklerosis.^{1,3}

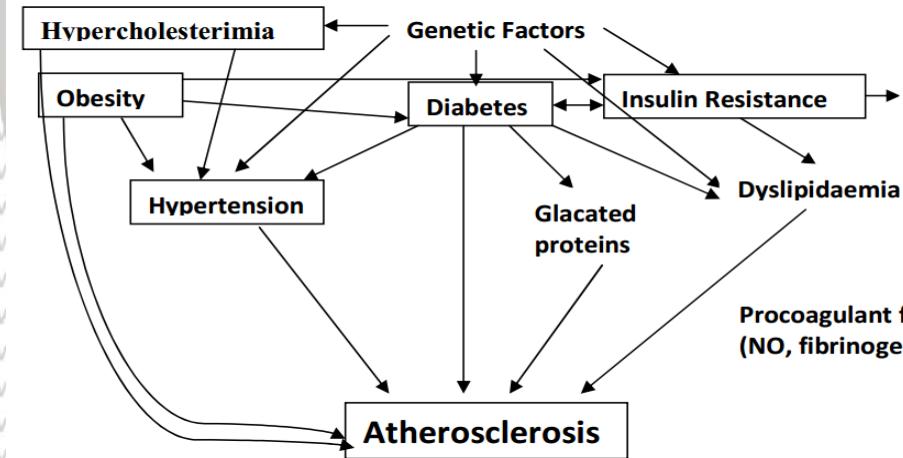
2.3 Inive Pemicu dan Faktor Resiko Aterosklerosis

Sejumlah faktor yang berkontribusi terhadap patogenesis aterosklerosis telah diidentifikasi.

Faktor-faktor ini nampak sangat erat dengan respons inflamasi atau yang terkait.

2.3.1 Hypercholesterolemia

Kolesterol LDL yang tinggi dalam darah adalah penyebab utama cedera pada arteri dan SMCs pembuluh darah. Cacat pada gen yang menjadi kode untuk reseptor LDL (familial Hipercolesterolemia), kelainan pada mekanisme regulasi reseptor LDL dan lemak dapat menyebabkan hipercolesterolemia yang pada akhirnya dapat menyebabkan Aterosklerosis (gambar 3).^{2, 6, 10, 12}



Gambar 3. Interaksi faktor resiko aterosklerosis (Boamponsem1,2, A.G, Boamponsem3*, L.K)

Hypercholesterolemia dapat mengaktifkan respon inflamasi dengan menyebabkan ekspresi melalui mekanisme rekrutmen leukosit mononuklear. Gen untuk VCAM-1 diatur oleh faktor transkripsi yang dipengaruhi oleh stres oksidatif. Mediator peradangan (TNF- α , IL-1 dan MCSF) mempercepat pengikatan LDL ke endotelium dan SMC dengan meningkatkan ekspresi gen yang mengkodekan reseptor LDL. Dengan kadar LDL tinggi dalam endotelium pembuluh darah, leukosit mulai 'menempel' ke endotelium dan

menyebabkan akumulasi lebih lanjut Lipid yang menghasilkan pembentukan sel busa.

Penelitian lebih lanjut menetapkan bahwa oxLDL Memiliki konsekuensi biologis yang bervariasi pada dinding pembuluh: penghambatan fungsi vasodilator sel endotel, stimulasi produksi sitokin, dan stimulasi produksi faktor pertumbuhan.^{6, 10, 13-15}

Kolesterol lipoprotein densitas tinggi (HDL) atau kolesterol "baik" menghambat modifikasi oksidatif dari LDL dan menghambat efek proinflamasi oxLDL. HDL memberikan perlindungan terhadap Aterosklerosis dengan mempromosikan aktivitas enzim antioksidan seperti faktor aktivasi platelet, Asetil hidrolase dan paraoxonase.

Studi pada tikus transgenik menunjukkan bahwa protein HDL, apolipoprotein A-I, dapat menghambat oksidasi LDL.^{3, 8, 16}

Lipoprotein (a), [Lp (a)] menyerupai LDL namun memiliki apolipoprotein glikoprotein yang unik. (Apo a) dan ada dalam bentuk isoform yang berbeda dengan domain kringle yang serupa dengan plasminogen. Peningkatan Lp (a) merupakan faktor risiko aterosklerosis dan penyakit jantung koroner karena mempromosikan inflamasi.

Aktivitasnya Tampaknya difasilitasi oleh peningkatan kadar homosistein, LDL dan pada penderita diabetes. Apo (a) bertindak sebagai ligan yang mengikat secara khusus untuk

β_2 -integrin Mac-1. Ini dapat meningkatkan migrasi molekul adhesi dan migrasinya ke dalam endoteliun. Kemudian melalui interaksi tersebut dengan Mac-1, Lp (a) menginduksi nuclear factor kappaB /NFkB, (faktor transkripsi yang mengendalikan gen proinflammatory) yang menghasilkan sintesis faktor jaringan (yang bersifat protrombotik) serta molekul proinflammatory lainnya. Lp (a) menghambat pembentukan fibrin dengan mencegah aktivasi TGF- β . Peran fisiologis TGF- β adalah untuk menahan respons inflamasi dan menghambat migrasi dan Proliferasi SMC. Studi yang melibatkan apo (a) menunjukkan bahwa apo (a) menurunkan jumlah plasmin dan TGF- β di dinding aorta.^{10, 16-18}

2.3.2 Haemodinamika

Bagian arteri yang sangat rentan dan rentan terhadap aterogenesis adalah cabang-cabangnya, curvatura dan bifurkasi (daerah hemodinamik) dimana aliran darah bisa terganggu akibat adanya turbulensi dan menurunkan shear stress. Gangguan hemodinamik ditambah dengan akumulasi lipid memberikan lingkungan yang menguntungkan untuk inisiasi atherosclerosis. Rendanya shear stress ditambah dengan osilasi shear stress yang meningkat menghasilkan ekspresi adhesi Molekul. Di tempat ini, produksi molekul adhesi leukosit, ICAM-1, bisa jadi dirangsang dan fungsi anti-inflamasi nitrogen oksida dihambat. Karenanya SMC Sintesis diinduksi dan menimbulkan respons inflamasi.^{2, 6, 19}

Bagian arteri yang mengalami aliran laminar kurang rentan terhadap aterogenesis. Gen yang mengandung elemen respon shear stress terdapat di daerah tersebut dan memiliki sifat atheroprotektif karena mengekspresikan enzim yang menghambat ekspresi VCAM-1. Superoksida Dismutase disintesis di daerah aliran laminar, mengkatalisis pemecahan anion superoksida, Spesies oksigen reaktif, untuk meringankan sel endotel oksidatif stres. Nitrogen oksida Synthase juga merupakan produk dari gen ini; Ini mencegah ekspresi VCAM-1 melalui jalur nuclear factor kappaB (NF κ B).^{20, 21}

2.3.3 Hipertensi

Angiotensin II (AII) dianggap sebagai vasokonstriktor yang hebat dan berperan dalam Atherosclerosis dengan meningkatkan pertumbuhan SMCs. Angiotensin II mempercepat inflamasi dengan cara memfasilitasi aktivitas lipoxygenase otot polos, aktivitas yang menghasilkan oxLDL. Radikal bebas (Anion superoksida dan radikal hidroksi) yang dihasilkan di plasma karena reaksi hipertensi mengurangi sintesis oksida

nitrogen dan meningkatkan adhesi leukosit. Angiotensin II diproduksi selama Hipertensi dapat mengatur radang intima endotel sehingga menyebabkan endotelium dan SMCs arteri menghasilkan anion superoksida. Angiotensin II dan VCAM-1 juga mempromosikan ekspresi Sitokin (IL-6) dan MCP-1 yang berfungsi sebagai aktivator inflamasi. Hipertensi dikaitkan dengan adhesi leukosit, akumulasi makrofag, otot polos migrasi sel dan proliferasi, dan penebalan intimal.^{2, 22, 23}

2.3.4 Diabetes melitus

Lipoprotein dapat mengalami glikasi pada kondisi hiperglikemia kronis. Lipid yang dimodifikasi bentuk advanced glycosylation end product (AGE) yang dapat dikenali oleh reseptor AGE makrofag. Stres oksidatif pada penderita diabetes adalah karena pembentukan ROS yang mempromosikan inflamasi. Lipoprotein yang terkontrol mendukung aksi proinflammatory sitokin di endothelium arteri. Resistensi insulin pada pasien dengan diabetes tipe 2 mengarah Untuk hipertrigliceridaemia dan dislipidaemia (gambar 3), kondisi yang ditandai HDL rendah dengan VLDL tinggi (low density lipoprotein) dan kadar LDL yang tinggi. Pada akhirnya aktivitas NO terganggu yang menyiratkan bahwa fungsi endotel terhambat. Colwell, mencatat bahwa glyco-oxidation, produksi radikal bebas, dan sistem pertahanan antioksidan yang berkangurum umum terjadi pada penderita diabetes. Ini meningkatkan oksidasi dan promosi lipoprotein aterosklerosis.^{3, 9}

2.3.5 Obesitas

Bila lemak visceral tinggi, lebih banyak asam lemak bebas dihasilkan dan ini menyebabkan tingginya VLDL yang bisa menurunkan HDL dengan aksi protein transfer cholesterol ester yang bisa diubah HDL ke VLDL. VLDL yang tinggi dapat menyebabkan aterosklerosis. TNF- α dan IL-6 disintesis oleh jaringan adiposa berpartisipasi dalam

respon inflamasi. Adiponeotin, leptin dan resistin adalah sitokin yang dihasilkan dari jaringan adiposa yang dapat mempengaruhi inflamasi. Proses inflamasi dan VLDL yang tinggi ini dapat menyebabkan aterosklerosis (gambar 3).^{6, 19, 24}

2.3.6 Merokok

Kandungan nikotin dan karbon monoksida dari rokok memiliki efek merusak pada arteri dengan menyebabkan kehilangan ketahanan dan menyiapkan tahap perkembangan plak. Merokok menghasilkan banyak asam lemak non esterifikasi yang beredar yang dapat membahayakan sel oleh karena memunculkan respons inflamasi. Radikal bebas yang dihasilkan dari hasil merokok termasuk stres oksidatif dan meningkatkan oksidasi LDL yang memicu migrasi monosit dan Sel T. Hal ini menyebabkan terbentuknya makrofag dan proses lainnya yang meningkatkan aterosklerosis. Para penulis menjelaskan bahwa racun dalam asap tembakau menurunkan HDL dan meningkatkan kadar kolesterol LDL atau kolesterol "jahat".²⁵

2.3.7 Homocysteine

Homocysteine memiliki sifat protrombotik, menghambat aktivitas oksida nitrogen. Ini juga mematikan Endothelium dan meningkatkan sintesis kolagen. Atherosclerosis berat dapat dilihat pada pasien dengan cacat pada satu atau kedua enzim (cystathione beta-synthase, Methylenetetra-hydrofolate) yang diperlukan untuk metabolisme homocystein. Sebagian besar pasien ini Infark miokard pada usia 20.²⁶

2.3.8 Infeksi

Beberapa Infeksi (tipe kronis) yang terjadi di luar sistem vaskular (misalnya gingivitis, prostatitis, Bronkitis) dan infeksi intracellulr biasanya meningkatkan sintesis sitokin yang mengaktifkan inflamasi. Sitokin ini meningkatkan laju perkembangan lesi

aterosklerosis. Infeksi herpesvirus, cytomegalovirus atau Chlamydia pneumoniae, aktivasi komplemen dan inflamasi dapat dilihat pada plak aterosklerotik. Plak aterosklerotik yang diisolasi dari obyek yang terinfeksi dengan Chlamydia Pneumoniae mempengaruhi endotelium dan SMCs untuk mengeluarkan mediator proinflamasi dan untuk memfasilitasi masuknya leukosit.^{3, 19, 27}

2.4 Indikator Inflamasi Sistemik – Biomarker

Biomarker adalah molekul yang berfungsi sebagai indikator keadaan biologis (misalnya biologis dan proses patogenik) dalam sistem kehidupan. Sebagian besar biomarker berhubungan dengan atherosclerosis adalah indikator respon inflamasi.

2.4.1 Protein C-Reaktif (CRP)

Ada bukti yang berkembang untuk menunjukkan bahwa CRP, protein fase akut, adalah Biomarker yang sangat penting pada inflamasi. CRP sangat penting dalam memprediksi atherosclerosis dan dengan demikian berfungsi sebagai alat yang berharga dalam diagnosis dan prognosis atherosclerosis. CRP disintesis dan diinduksi di hati oleh IL-6 dan memainkan peran utama dalam pertahanan kekebalan bawaan. Untuk mengetahui apakah CRP memang ada pada plak aterosklerotik. Studi ekspresi CRP dan menunjukkan bahwa tingkat mRNA CRP pada jaringan plak adalah 10.2 kali lipat lebih tinggi dari arteri normal. CRP mempromosikan aktivasi komplemen untuk tahap respon inflamasi. Para peneliti mendeteksi sinyal kuat untuk mRNA CRP pada makrofag dan sel. Temuan ini mendukung hipotesis itu CRP dapat memainkan peran langsung dalam mempromosikan komponen inflamasi atherosclerosis dan sebagai target potensial untuk pengobatan atherosclerosis. CRP mencegah nitrogen oksida lepas ke endotelium dengan meregulasi sintesis nitrogen oksida endothelial (eNOS). CRP juga

meningkatkan pelepasan endothelin (ET-1), Molekul adhesi (VCAM-1, ICAM), kemoattractants (MCP-1), migrasi SMCs juga memfasilitasi serapan LDL oleh makrofag. Endotelium merespons CRP mengintensifkan pelepasan NFkB yang memulai pelepasan sitokin dan memediasi sel Apoptosis. Menurut penelitian CRP menginisiasi proses penghambatan angiogenesis dan kematian sel saat meningkatkan kadar ET-1. Ini mengganggu fungsi dari Endotelium.^{1, 19, 28-30}

2.4.2 Protease Activated Receptor (PAR)

Tingginya ekspresi ekspresi PAR (G-protein coupled receptor), diinduksi oleh sekresi IL-6 pada Lesi aterosklerotik dan area cedera jaringan vaskular. Dari keempat tipe PAR tersebut (PAR-1, PAR-2, PAR-3, PAR-4), dikatakan PAR-1 di endothelium memfasilitasi pengikatan dari monosit ketika NFkB dirangsang oleh proses yang mendukung ekspresi ICAM-1. Demikian juga, dengan PAR-3 yang berfungsi sebagai kofaktor, aktivasi PAR-1 mempromosikan migrasi leukosit pada aterosklerosis. PAR-1 dan PAR-2 melepaskan Weibel Palade bodies yang mengandung faktor p-secretin dan von Willebrand, molekul yang meningkatkan adhesi leukosit dan trombosit ke endothelium. Telah ditunjukkan bahwa IL-1 dan TNF- α dalam keadaan inflamasi sel menginduksi properti proinflamasi PARs. Aktivitas PAR di SMC telah Terlibat dalam translokasi SMCs dari media ke intima dan sintesis kolagen: Persyaratan kritis untuk pembentukan tutup berserat. Eksperimen *in vitro* menggunakan blokir PAR-2 Antibodi menunjukkan bahwa migrasi SMC dihambat.^{7, 19, 31}

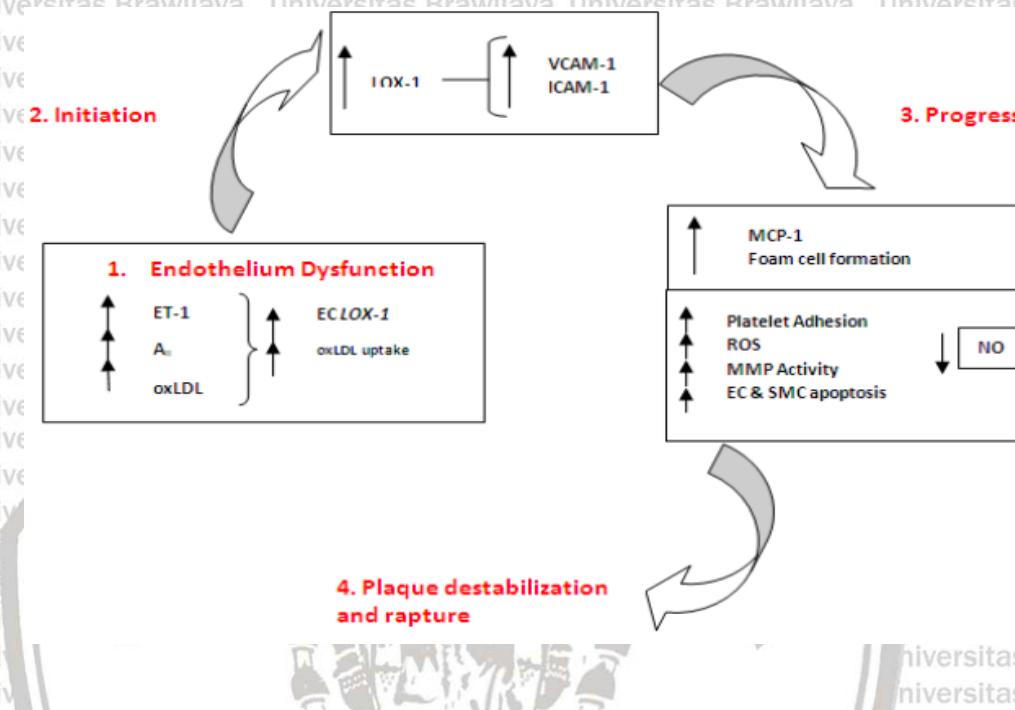
2.4.3 CD40

CD40 adalah protein yang terletak pada sel yang menyajikan antigen dan merangsang aktivasinya. CD40 Reseptor dan ligannya, CD40L (pada sel TH), serupa TNF telah terdeteksi di plak aterosklerotik dan ditemukan bersama-sama diekspresikan

oleh makrofag aktif, SMCs, sel endotel vaskular dan limfosit T. Pada kondisi kekurangan reseptor LDL kemudian diberi makan dengan diet kolesterol tinggi diikuti dengan pemberian antibodi yang menetralisir anti-CD40L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada penurunan yang cukup besar dalam perkembangan dan progresifitas lesi aterosklerosis. Temuan eksperimental semacam itu memberikan kepercayaan pada klaim CD40 / CD40L adalah sistem proinflamasi. Hal ini terkait dengan atherosclerosis melalui CD40L (sCD40L) yang berasal dari platelet teraktivasi. Dilaporkan bahwa pada pasien dengan Hipertensi sedang dan diabetes tipe 1 atau 2, jumlah sCD40L yang lebih tinggi. Pengikatan sCD40L ke CD40 pada SMC dan inisiasi kejadian Cascade yang menyebabkan disfungsi endotel dan inflamasi. ROS terbentuk karena pengikatan CD40 dan CD40L berlawanan dengan aktivitas NO yang menyebabkan penurunan sintesisnya. Sebagai tanggapan terhadap hal ini, sitokin proinflamasi diproduksilah (IL-6, IL-1), VCAM-1, ICAM dan MCP-1.^{1, 29, 32}

2.4.4 Interleukin-18

Interleukin-18 (IL-18) adalah sitokin yang dibuat oleh makrofag. IL-18 berikatan dengan reseptornya diekspresikan pada limfosit (T-helper (Th) 1), ECs, SMCs, dan makrofag. Sitokin (IL-1, TNF- α , dan IL-6) menunjukkan ekspresi gen IL-18 pada makrofag dan adhesi leukosit meningkat karena IL-18s disintesis sejak IL-18 meningkatkan VCAM-1 dan ICAM-1. IL-18 mengikat reseptor dan memproduksi aktivatornya (IL-1 β , TNF- α) membentuk mekanisme umpan balik positif yang menginisiasi inflamasi dan pembentukan plak. Stabilitas plak menurun karena IL-18 menyebabkan peningkatan ekspresi MMP. Blankenberg dkk, melaporkan bahwa jumlah IL-18 yang terdeteksi pada pasien dengan miokard Infark atau angina tidak stabil lebih besar dari pada pasien normal. Penelitian dilakukan pada keadaan apolipoprotein E defisien mengungkapkan bahwa ketika IL-18 eksogen diperkenalkan ke dalam keadaan



Gambar. 4 Proses respon inflamasi dan biomarker spesifik (Boamponsem1,2, A.G, Boamponsem3*, L.K)

2.4.5 Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 (LOX-1)

LOX-1 diekspresikan pada sel endotel, makrofag dan SMC. LOX-1 mengenali dan mengikat oxLDL. Tingkat LOX-1 yang tinggi telah terdeteksi pada semua tahap aterosklerosis. Produksinya dimediasi oleh AII dan ET-1. LOX-1 telah ditemukan juga mengikat sel apoptosis, platelet aktif, produk akhir glikasi, dan Organisme patogen. LOX-1 menyediakan rute masuk untuk oxLDL ke dalam endotelium. Tindakan yang mengganggu fungsi endotel normal dengan mendorong adhesi dan infiltrasi monosit (gambar 4). Sehubungan dengan studi yang dilakukan, kompleks oxLDL / LOX-1 meningkatkan produksi ROS, kematian SMC dan MMP yang berpengaruh pada fibrous cap.²³

2.4.6 Lipoprotein-associated phospholipase (Lp-PLA2)

Hasil dari hibridisasi in-situ dan studi imunohistokompatibilitas menunjukkan bahwa makrofag pada lesi aterosklerotik mengekspresikan LpPLA2. Disitu ada beberapa bukti yang menunjukkan bahwa LpPLA2 memiliki fungsi proinflammatory dan proatherogenic dengan menghasilkan lysophosphatidylcholine (lysoPC) dan bagian asam lemak yang tidak diesterifikasi. LysoPC mempromosikan kemotaksin monosit dan meningkatkan ekspresi leukosit mononuklear molekul adhesi di sel endotel. LysoPC diduga memfasilitasi inisiasi Lesi aterosklerotik melalui aktivitas tersebut. Dikatakan bahwa lysoPC berikatan dengan peptida dan menjadi antigenik dan pada gilirannya, merangsang sel T.⁷

2.5 Ganoderma lucidum

Obat tradisional yang berbahan jamur telah digunakan selama berabad-abad untuk meningkatkan kesehatan dan untuk mengobati berbagai penyakit kronis dan menular. Salah satu jamur tersebut adalah Ganoderma lucidum, umumnya dikenal sebagai Lingzhi, spesies dikenal sebagai jamur obat untuk mengobati berbagai macam penyakit dan memperpanjang hidup. Jamur ini ditemukan di lokasi yang beragam. Klasifikasi taksonomi genus Ganoderma pertama kali digunakan sebagai nama spesimen ditemukan di Inggris dan setelah itu diterapkan pada spesies Ganoderma yang berbeda ditemukan di Asia, umumnya dikenal Cina sebagai Lingzhi. Meskipun penentuan taksonomi, yang sebagian besar mengalami perubahan popularitas Lingzhi telah meningkat di seluruh dunia. Lingzhi dibudidayakan atau dikumpulkan dari alam liar dan dikonsumsi sebagai teh, minuman beralkohol, dan sebagai nutraceutical untuk memberikan banyak manfaat kesehatan. Konsumsi nutraceutical ini telah bertambah populer, dan menjadi semakin penting setelah diidentifikasi bahan aktifnya. Pengantar jamur obat sebagai nutraceuticals.^{33,34}

Kata “nutraceutical” pertama kali diciptakan oleh Stephen Defelice dengan mengkombinasikan istilah “gizi” dan “farmasi” pada tahun 1989 (Brower, 1998). Sejak saat itu ada banyak kontroversi mengenai apakah nutraceuticals harus dianggap sebagai makanan atau obat-obatan. Salah satu definisi menggambarkan nutraceutical sebagai produk yang diisolasi dari makanan, dan diyakini memiliki manfaat untuk kesehatan atau pencegahan penyakit kronis. Secara garis besar, nutraceuticals mencakup makanan fungsional, komponen aktif makanan fungsional, suplemen makanan dan makanan obat serta makanan yang mengandung probiotik. Definisi berikut akan dipahami untuk probiotik: “mikroorganisme hidup yang, bila diberikan dalam jumlah yang cukup, memberikan manfaat kesehatan pada host”.^{35, 36}

Ada bukti potensi manfaat menggunakan berbagai ekstrak jamur dengan sehubungan dengan anti-bakteri, anti-inflamasi, anti-virus, antiatherosclerotic, anti-diabetes dan aktivitas anti-kanker. Secara historis, sejumlah obat efektif dan banyak digunakan diperoleh dari sumber tanaman, dan dalam rangka untuk mempromosikan penggunaan luas dari obat ini pada zaman modern, kuncinya adalah identifikasi dan sintesis bahan aktifnya. Contoh obat yang banyak digunakan untuk sifat obat dan yang desain didasarkan pada sifat obat bahan aktif dari sumber tanaman adalah Aspirin. Aspirin adalah nama dagang untuk asetilsalisilat asam, prodrug, yang terinspirasi oleh bukti anekdot dari sifat obat asam salisilat. Asam salisilat adalah aktif bahan awalnya diperoleh dari tanaman yang kaya salisilat seperti willow (Raskin, 1992) dan digunakan selama berabad-abad sebelum mekanisme kerja diidentifikasi. Banyak yang merasa bahwa jamur obat dapat dimanfaatkan dan memiliki potensi besar untuk menyediakan manfaat kesehatan.^{37, 38}

Ada sejumlah spesies jamur yang secara tradisional digunakan sebagai nutraceuticals di seluruh dunia (Wasser, 2011). Ini termasuk *G. Lucidum* (Lingzhi), *Ophiocordyceps* (sebelumnya *Cordyceps*) spesies (Paterson, 2008), *Grifola frondosa* (Hen dari hutan / Maitake), *Lentinula edodes* (Shiitake), *Piptoporus betulinus* (Birch Polypore / bracket), *Inonotus obliquus* (Chaga),

dan subrufescens Agaricus (Almond jamur), di antara banyak orang lain. Namun, Lingzhi mungkin yang paling dikenal luas dan paling unggul sebagai jamur obat di Asia.³⁸⁻⁴⁰

2.5.1 Sejarah *Ganoderma lucidum*

G. Lucidum selama lebih 2000 tahun digunakan sebagai obat "herbal". Di seluruh dunia, spesies *G. lucidum* (Lingzhi) ditemukan di Cina yang dikenal sebagai basidiomycete dan telah disebut sebagai "Jamur Keabadian". Lingzhi telah banyak digunakan di Cina untuk tujuan pengobatan sejak sebelum era umum (SM). Jamur ini telah banyak digunakan oleh populasi Asia untuk tidak hanya meningkatkan kebugaran dan kesehatan (Shiao, 2003), tetapi juga telah digunakan sendiri atau bersama pengobatan kemoterapi untuk menghambat kanker atau untuk membantu meredakan efek samping (Papadopoulos et al., 2007). Selain itu, penggunaannya telah menjadi semakin luas untuk mencegah obesitas; mengurangi kolesterol; untuk pemeliharaan kesehatan usus; pengurangan hipertensi; pengendalian diabetes dan stimulasi probiotik (Paterson, 2006;).⁴¹⁻⁴³

Pada zaman kuno, Lingzhi tumbuh di alam liar dan dikonsumsi hanya oleh orang yang sangat kaya, sedangkan saat ini sebagian besar telah dibudidayakan dan lebih banyak dikonsumsi di seluruh kelompok sosial ekonomi sebagai alternatif untuk, atau di samping, obat modern (Zhao et al, 2011). Sebagian besar digunakan pada pencegahan penyakit kronis, yang oleh pers baru-baru rilis Badan Internasional untuk Penelitian Kanker bertepatan dengan Hari Kanker Dunia (WHO, 2014), lebih banyak orang mungkin mulai mencari nutraceuticals (termasuk probiotik) untuk mendukung kesehatan.⁴⁴

Hari ini Lingzhi dikonsumsi sebagai nutraceutical (dalam bentuk sup / teh atau ramuan lainnya) oleh penduduk terutama Asia sebagai sarana meningkatkan kebugaran

dan kesehatan. Dalam teks ini, enam jenis “*zhi*” (karakteristik / kualitas) dijelaskan, yang qing, chi, huang, bai, hei dan zi zhi. Semua digambarkan sebagai mampu “untuk mencegah kepukunan, memperpanjang hidup untuk membuat satu abadi”. Perbedaan dalam penggunaan bervariasi antara masing-masing jenis, misalnya, “*bai zhi*” (putih Ganoderma) itu diakui untuk meningkatkan *qi* paru-paru (energi), sedangkan “*hei zhi*” (Hitam Ganoderma) mendorong *qi* ginjal dan dipertajam pendengaran (Yang, 1998). Dengan deskripsi ini, jelas mengapa Lingzhi telah dianggap sebagai jamur kemampuan khusus, “tanaman keabadian”.⁴⁵

Dalam perkembangan dan keberlanjutannya dalam penggunaan Lingzhi memerlukan antara lain hal-hal, identifikasi yang benar dari spesies dan bahan aktifnya. Dari perspektif nutraceutical, ini juga memerlukan takaran dosis aman dan kontrol kualitas. Unsur-unsur ini perlu untuk dipertimbangkan.

2.5.2. Taxonomi *Ganoderma lucidum*

Masalah nomenclatural sekarang secara luas dibahas khusus dalam “*Ganoderma with an up-to-date revision of the correct name*” (Zhou et al., 2015) sebagai tempat rujukan. *G. lucidum* pertama kali dijelaskan oleh William Curtis pada 1781 berdasarkan pada bahan tumbuh di Inggris. Catatan ilmiah pertama *G. lucidum* itu dari China dibuat oleh Teng pada tahun 1934 ketika ia mengidentifikasi spesimen Lingzhi sebagai *G. lucidum*.^{43, 46}

Banyak yang percaya bahwa semua taksonomi dapat diandalkan dibedakan dengan menggunakan karakteristik alaminya, di mana kondisi dapat dikontrol ketat, tapi bahwa karakteristik ini tidak selalu berguna dalam mendefinisikan garis keturunan monofiletik. Namun, karakteristik alami sendiri mungkin tidak cukup untuk meyakinkan menetapkan semua spesimen yang benar. Sebelum munculnya biologi

molekuler modern, ada banyak kebingungan taksonomi mengenai spesies tertentu Ganoderma. Data sequencing dari internal transcribed spacer (ITS) dari DNA ribosom, serta dari divergen domain region D2 dari gen subunit ribosom, dibandingkan seluruh genus Ganoderma yang sesuai posisi 425-648 dari *Saccharomyces cerevisiae*, dan dari urutan ini digunakan untuk spesimen klaster (Moncalvo et al., 1995). Selain itu, Cao et al. (2012) menggunakan mitochondrial small-subunit ribosomal DNA (mt-SSU), DNA-directed RNA polymerase II subunit (RPB2), dan urutan translational elongation factor 1-alpha (TEF1-a) untuk mempelajari hubungan filogenetik antara *G. tsugae*, “benar” *G. lucidum* dan “Lingzhi”. Cao et al. (2012), menyimpulkan bahwa *G. tsugae* tumbuh di utara China dan timur adalah sejenis dengan Eropa *G. Lucidum*. Bahwa *G. lucidum* dan “Lingzhi” adalah spesies yang berbeda dan bahwa ada dukungan yang kuat untuk mengubah nama *G. tsugae* dari Jepang dan Taiwan sebagai “Lingzhi”.^{47, 48}

Selain itu, studi yang dilakukan oleh Wang et al., digunakan untuk mendukung kesimpulan bahwa Lingzhi Cina adalah sejenis dengan *Ganoderma sichuanense* dan merupakan spesies yang berbeda dari *G. Lucidum* ditemukan di Inggris. Artinya, jamur bernama *Ganoderma lucidum* di Asia tropis sebenarnya *Ganoderma*. Mirip dengan model yang diusulkan oleh Moncalvo et al. (1995), kesimpulan ini ditarik berdasarkan analisis dari tiga daerah sequencing, yaitu ITS (RNA non-fungsional), intergenic spacer (yaitu non-ditranskripsi DNA) dan RPB2, serta bukti morfologis. Namun, konsensus belum tercapai mengenai nama dari spesies disebut. Untuk membantu klarifikasi dari spesies, Hawksworth (2005) mengusulkan bahwa nama baru diperkenalkan untuk Eropa “*G. lucidum*” dan bahwa Lingzhi Cina, mempertahankan nama *G. lucidum*.^{43, 48}

Selain klasifikasi berdasarkan karakter morfologi dan analisis filogenetik molekuler, kimia mungkin juga diterapkan untuk membantu dengan penggambaran spesies yang terkait erat. Diketahui bahwa *G. lucidum* kaya polisakarida dan

triterpenoid. Adalah mungkin bahwa kedua polisakarida dan profil triterpenoid dapat digunakan untuk membedakan antara berbagai spesies Ganoderma dan memberikan kejelasan sehubungan dengan klasifikasi. Meskipun didapatkan kesulitan yang berhubungan dengan pemisahan dan identifikasi polisakarida Ganoderma. Baru-baru ini high performance liquid chromatography (HPLC) suatu metodologi berdasarkan mencirikan spesies dalam genus Ganoderma menggunakan polysaccharide fingerprint profile. polysaccharide fingerprint profile yang digunakan untuk membedakan antara *G. lucidum* dan *Ganoderma sinense*, dan perbedaan yang juga mencatat antara strain berbeda, kondisi pertumbuhan yang berbeda , dan asal-usul geografis yang berbeda.⁴⁹

Dalam sebuah penelitian dilaporkan pada tahun 1999, Chen et al. (1999) menggunakan analisis triterpenoid untuk membedakan antara *G. tsugae* dan *G. lucidum*. Meskipun tiga strain tsugae *G.* diuji dengan profil spektral yang sama, tiga strain *G. Lucidum*. Masing-masing memiliki profil sangat berbeda dari yang dihasilkan dari strain tsugae *G* satu sama lain. Hal ini konsisten dengan data filogenetik molekuler sebelumnya disebutkan dan didukung oleh kekuatan dari berbagai clades pohon disampaikan oleh Cao et al. (2012). Chen (2003) melanjutkan untuk mengembangkan profil spektral lanjut dengan memurnikan dan mengidentifikasi GAs dengan menggunakan HPLC fase terbalik dan HPLC semipreparative. Setelah itu, Liu et al. (2011) menggunakan sensitive and selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of five GAs in *G. lucidum*, *G. sinense* and *Ganoderma applanatum*.^{48, 50}

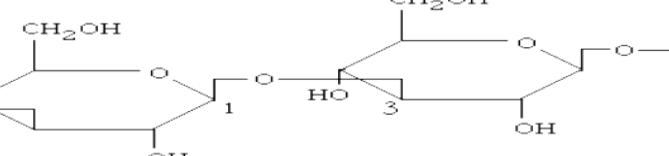
2.5.3 Peran *Ganoderma lucidum*

Dalam pengobatan tradisional Cina (TCM), *G. lucidum* yang diakui mempunyai beragam manfaat kesehatan. Studi modern yang melibatkan model hewan dan teknik

penelitian berbasis molekuler telah digunakan untuk menunjukkan berbagai efek farmakologis mendukung klaim ini (Sanodiya et al, 2009). Lebih khusus, *G. lucidum* telah terbukti memiliki potensi pengobatan modern penyakit seperti kanker, diabetes, dan Immunodeficiency Manusia Virus (HIV) (Sanodiya et al., 2009).⁵¹

Berbagai penelitian telah meneliti efek potensial dari β -glucan. β -glukan terbukti dapat menurunkan kadar lemak jenuh dalam darah dan dapat mengurangi risiko penyakit jantung. B-glukans terdiri dari sekelompok polisakarida β -D-glukosa yang terjadi secara alami di dinding sel bakteri, dan jamur, dengan sifat fisikokimia berbeda secara signifikan bergantung pada sumbernya. Biasanya, β -glukan membentuk tulang punggung linier dengan ikatan 1-3 β -glikosidik tetapi bervariasi sehubungan dengan massa molekul, kelarutan, viskositas, struktur percabangan, dan sifat gelasi, yang menyebabkan efek fisiologis beragam pada hewan. Dimana secara aktif biologi polisakarida terutama berasal dari cabang (1→3)- β -D-glucans dan aktifitasnya melalui komponen reseptor tipe 3 (CR3 receptor) yang berikatan dengan polisakarida (1→3)- β -D-glucans. β -D-glucans merupakan komponen komponen mayor dari *Ganoderma* mycelium yang merupakan komponen minor dari spora *Ganoderma*. (Silva D.

Ganoderma lucidum in cancer treatment. Integrative cancer therapies 2(4); 2003:358-364.).^{1, 6, 19}



Gambar 5. Struktur (1,3)- β -D-glucan (Toai T., Ban V., Tu L., Hanh N., et all Study on polysccharide (1,3)- β -D-Glucan from Ganoderma Lucidum. *Journal of Chemistry*, 2005; 43:258-262.)

Meskipun banyak manfaat dilaporkan dalam studi *G. lucidum*, mekanisme aksi masih kurang jelas. Dengan perbaikan dalam teknik penelitian modern, penyelidikan rinci mekanisme ini tindakan di mana *G. Lucidum* dapat diamati manfaat kesehatan menjadi semakin mungkin. Selain itu, pemisahan, dan teknik pemurnian yang lebih baik telah memungkinkan untuk diisolasi dan diidentifikasi dari beberapa komponen aktif dalam *G. Lucidum*. Penelitian modern telah difokuskan pada dua komponen aktif utama yaitu polisakarida dan triterpen.

2.5.3.1. Polisakarida

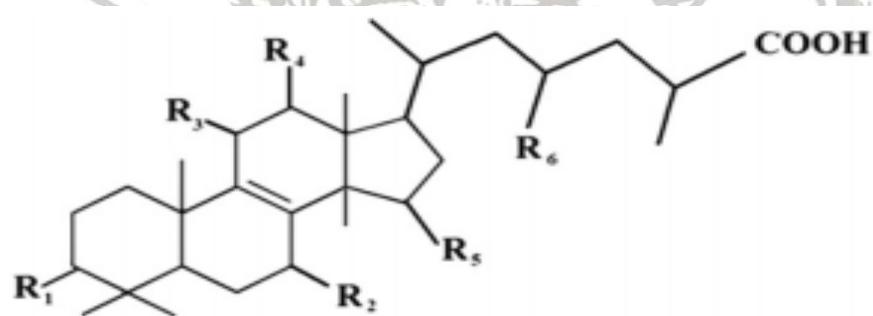
Selain triterpen, polisakarida dari *G. lucidum* adalah juga diyakini memberikan manfaat kesehatan. Polisakarida panjang rantai molekul gula yang bergabung melalui ikatan glikosidik. Berbagai jenis polisakarida, dengan berat molekul berkisar dari 4×10^5 to 1×10^6 Dalton telah diidentifikasi dalam *G. lucidum* (Sanodiya et al., 2009). Terlepas dari berat molekul polisakarida, beberapa diantaranya memiliki dampak positif pada pengurangan perkembangan kanker.⁵¹

Analisis struktural menunjukkan bahwa polisakarida dari *G. lucidum* adalah heteropolymers berat molekul sebagian besar tinggi (Gambar. 1) (Chan et al., 2007). Glukosa merupakan komponen utama dari molekul gula bersama-sama dengan xylose, mannose, galaktosa, dan fucose di berbagai konformasi. Berbagai jenis polisakarida dari jamur ini, dengan berbagai bercabang konformasi dan kelarutan, dapat menginduksi respon imun terhadap inflamasi yang berbeda dengan berbagai potensi kekebalan tubuh (Chan et al., 2007).⁵²

2.5.3.2 Triterpen

Triterpen adalah salah satu kelompok biologis aktif utama senyawa yang berkontribusi terhadap berbagai manfaat kesehatan dari *G. lucidum*. Triterpen yang subtipen

dari terpene terdiri dari enam isoprena unit. The isoprenes di triterpen dapat membentuk rantai linear. GAs adalah subtipe dari triterpen dengan empat siklik dan dua isoprenes linear. Ada lebih dari 140 spesies GAs yang telah diidentifikasi dari *G. lucidum*. Struktur molekul inti GA ditunjukkan pada Gambar. 2, berbagai jenis GAs ditandai dengan R-kelompok yang berbeda. Triterpen adalah senyawa berat molekul rendah yang dapat menargetkan proses seluler seperti apoptosis, regulasi siklus sel dan angiogenesis melalui interaksi langsung dengan target molekul (Ferreira et al, 2010). Hasil dari sejumlah penelitian telah dipublikasikan dimana triterpen tertentu atau campuran triterpen, terisolasi dari *G. lucidum*, telah diidentifikasi, bersama-sama terkait dengan berbagai manfaat kesehatan.⁵³



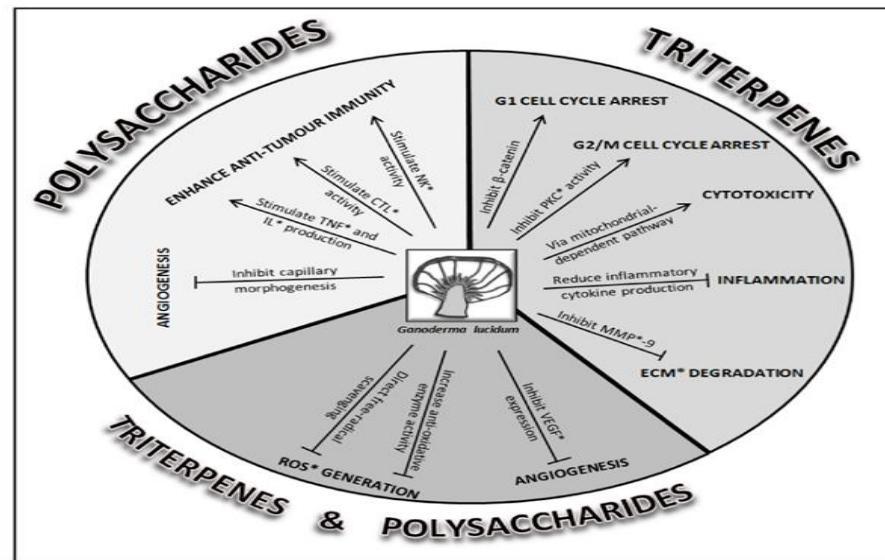
Gambar 6. Struktur molekul inti asam ganoderic, merupakan subtipe triterpen (Liu et al., 2012)

A. Respon inflamasi dan imunologi

i. Interleukin

Ganoderma lucidum terbukti meningkatkan produksi IL-2 pada sel T (khususnya sel T+ CD4), akibat sekunder reseptor CD18, yang diaktifkan saat protein Ganoderma / LZ-8 (1 µg / mL) yang bekerja pada reseptor CD45.⁵⁴ Peningkatan sekresi IL-2 dari sel-sel CD4 obyek dan sel T+ CD4 pada manusia pada studi dengan pemberian Ganoderma/ LZ-8 1 µg / mL bahkan tanpa

antigen apapun. Produksi IL-2 ini bergantung pada aktivasi fosfolipase C (PLC) dan selanjutnya aktivasi saluran kalsium yang merekrut PKC alpha (PKC α) dan theta (PKC θ) yang berfungsi sebagai perantara dalam sinyal CD18 dalam sel T, dengan produksi MAPK dan ROS Keduanya juga memainkan peran.⁵⁵ Protein imunomodulator LZ-8 yang ditemukan pada *Ganoderma Lucidum* meningkatkan sekresi IL-2 dari sel CD4 $+$ T yang sekunder akibat mengaktifkan PLC dan dua protein PKC. Peningkatan IL-2 yang terjadi dengan *Ganoderma* (dari 1 μ g / mL LZ-8 yang bekerja pada CD45) menghasilkan peningkatan IL-10 yang disekresikan dari sel T. Peningkatan IL-2 dari protein LZ-8 pada *Ganoderma Lucidum* juga meningkatkan peningkatan IL-10.⁵⁴



Gambar 7 Gambaran umum berbagai macam mekanisme seluler yang dipengaruhi oleh triterpen dan polisakarida dari *Ganoderma lucidum*. Dikutip dari: (Kao C, Jesuthasan AC, Bishop KS)



Sel Natural Killer (NK)

Sel Natural Killer (NK) adalah sel kekebalan yang menunjukkan sitotoksitas terhadap sel-sel tertentu seperti sel tumor dan merupakan mekanisme dimana terapi kanker dapat dilakukan secara vicariously melalui sistem kekebalan tubuh. Khususnya ketika sel tumor mencoba metastasis (menyebar ke organ lain) dan mekanisme utama yang dengannya mereka dihancurkan melalui sistem kekebalan tubuh. Sel NK cenderung dipandang sebagai anti metastasis.⁵⁶

Dapat dilihat pada Intervensi manusia dan sel NK, kedua studi mencatat peningkatan aktivitas sel NK meskipun secara statistik tidak signifikan sedangkan yang lain mencatat peningkatan yang relevan secara statistik dari 34,5 +/- 11,8% yang terkait dengan konsumsi Ganoderma polisakarida. Efek ini telah dilaporkan pada tikus setelah pemberian Ganoderma polisakarida atau triterpenoid. Dapat meningkatkan jumlah keseluruhan sel Natural Killer dalam sistem kekebalan tubuh, walaupun dua penelitian pada manusia yang mencatat peningkatan hanya satu yang signifikan secara statistik.⁵⁷

Telah dicatat bahwa Ganoderma dapat mencegah perlindungan sel tumor yang diinduksi oleh fibrogenin (di mana fibrin membeku dan membentuk mantel, mencegah sel NK beraksi pada tumor dengan mencegah fibrin tidak bergabung dengan sel kanker; Secara tidak langsung meningkatkan sitotoksitas sel NK.

Fibrin biasanya berasosiasi dengan integrin $\alpha v\beta 3$ dan $\alpha 5\beta 1$ pada permukaan sel tumor, dan Ganoderma dapat mengurangi hubungan ini ke tingkat kontrol yang dekat. Studi yang sama mencatat bahwa Ganoderma menurunkan metastasis ke

paru pada tikus (setelah injeksi) yang diberikan komponen polysakarida, dan Ganoderma dapat meningkatkan sitotoksitas tumor.⁵⁸

Selain itu, terlepas dari jumlah sel NK, meningkatkan sitotoksitas sel NK pada tumor dengan mencegah pembentukan fibrin pada sel tumor. Perlindungan fibrin pada sel tumor mungkin 'melapisi' nya untuk melawan sel NK, dan Ganoderma dapat mempertahankan tindakan sel NK dengan mengurangi lapisan pelindung ini.

iii. Makrofag

Ekstrak air Ganoderma (polysakarida) telah terbukti dapat meningkatkan fagositosis makrofag peritoneal secara *in vitro* dan *in vivo* serta meningkatkan ukuran, aktivitas, dan menginduksi pseudopodia. Produksi sekunder dari makrofag yakni IL-1 β , IL-6 dan TNF- α yang 'diaktifkan' telah menunjukkan peningkatan bersamaan dengan peningkatan mRNA TNF- α pada konsentrasi 25-400ug / mL, dan mRNA transkripsi berbagai interleukin. Setidaknya produksi TNF- α telah diketahui pada sel mononuklear perifer juga.⁵⁹

Sekresi TNF- α (dan beberapa sitokin lainnya) oleh triterpenoid dan beta-glukan yang terisolasi tampaknya bersifat sinergis dengan LPS pro-inflamasi karena keduanya bekerja untuk merangsang aktivitas p38 MAPK sambil menekan jalur pensinyalan c-JNK. Meskipun sebaliknya (penurunan TNF- α) telah dilaporkan dalam beberapa penelitian.⁶⁰

Konsumsi 500mg / L (air minum) pada tikus meningkatkan aktivasi makrofag sebesar 340% dibandingkan dengan kontrol dan meningkatkan sekresi IL-1 β dan TNF- α (secara teoritis) yang merupakan hasil dari produksi oksida nitrat dalam makrofag, dan mampu meningkatkan tingkat fagositosis. Produksi

oksida nitrat dapat ditingkatkan sekunder akibat peningkatan kadar protein iNOS pada makrofag peritoneum. Efek ini juga terlihat dengan peptida polisakarida terisolasi 25-200mg / kg berat badan (GLPP).⁶¹

Satu studi yang meneliti efek polisakarida pada kalsium intraselular mencatat bahwa Ganoderma dapat menginduksi pelepasan ion Ca²⁺ seluler dan juga menginduksi influx ekstraselular Ca²⁺. [6] Dihipotesiskan bahwa ini mungkin sekunder akibat pembentukan IP3, atau sekunder terhadap aktivasi PKC. Teori alternatif mencakup aktivasi TLR4 dan pensinyalan caskade dari reseptor tersebut, yang oleh beberapa polisakarida terbukti dapat bertindak.⁶²

Secara mekanis, makrofag tampaknya memiliki aktivitas dan kemampuan fagositik yang meningkat dengan meningkatkan produksi sitokin (dari pensinyalan oksida nitrat). Yang menyebabkan sinyal nitrat oksida ini belum sepenuhnya diketahui, tapi mungkin melalui aktifitas pada reseptor TLR4. Peptida polisakarida dari Ganoderma pada konsumsi oral 100mg / kg juga telah ditunjukkan dapat melindungi makrofag dari kerusakan oksidatif *in vivo* (tikus) dan mencegah perubahan morfologis pada mitokondria dan retikulum endoplasma dengan pemeriksaan mikroskop elektron. Ini juga menunjukkan efek perbaikan, pada hari ke 5 suplementasi ditemukan potensi membran mitokondria pada dosis yang sama (sebelumnya makrofag rusak oleh karena oksidatif). Efek perlindungan juga mungkin diberikan makrofag, yang memungkinkan penyebaran kardioproteksi (mencegah pembentukan sel busa, dapat mengurangi penumpukan atherosclerotic).⁶³



iv. **Sel Dendritik**

Pada sel dendritik, Ganoderma polisakarida dapat meningkatkan ekspresi

I-A / I-E dan CD11c pada permukaan sel serta meningkatkan sekresi IL12p40

dan IL23p19 serta meningkatkan produksi keempat protein tersebut di atas. [128]

Penelitian ini dilakukan pada sel sumsum tulang murine dengan adanya LPS

(Lipopolisakarida) dan menunjukkan bahwa Ganoderma polisakarida (GI-PS)

dapat meningkatkan respon imun adaptif. Penelitian ini diperkuat oleh satu hasil

yang menunjukkan bahwa peningkatan sel dendritik meningkatkan aktivitas sel T

sitotoksik melalui jalur (IFN) - γ dan granzyme B. Peningkatan aktivitas sel T

sitotoksik ini telah dicatat di tempat lain, dan melalui aktivasi TLR4 dan

translokasi NF-kB, menghambat reseptor pensinyalan caskade MAPK atau

aktivasi NF-kB. Menunjukkan bahwa efek Ganoderma pada imunitas aktif adalah

sekunder akibat sinyal pro-inflamasi.⁶⁴

Setidaknya satu penelitian mencatat bahwa ekstrak yang dihasilkan oleh pelarut organik (mengandung triterpenoid) tidak mempengaruhi sel dendritik seperti yang dimiliki polisakarida. Meningkatkan ekspresi dan aktivitas sel Dendritik (yang meningkatkan kekebalan host) melalui sinyal inflamasi dapat meningkatkan kekebalan adaptif, dan secara teoritis dapat digunakan secara akut untuk melawan penyakit.⁶⁵

v. **Sel T**

Promosi naif sel CD4 + sel T menjadi sel T efektor terjadi di bawah pengaruh sitokin. Ada empat jenis tipe sel T yaitu Th1, Th2, Th17, dan Treg dan semuanya terlibat secara serius dengan sel dendritik (antigen-presentase protein, atau APN) tersebut di atas. Menariknya, Ganoderma beta-glucans dapat

meningkatkan proliferasi sel T dan CD4 yang tidak matang sama hebatnya dengan LPS.⁶⁶ Ganoderma juga berperan dalam peningkatan diferensiasi Th1. Selain itu, subset sel T yang ketiga (Th17) nampaknya juga lebih meningkat setelah konsumsi polisakarida tanpa rangsangan inflamasi melalui peningkatan sekresi IL-23p19 oleh sel dendritik. Sebaliknya, inkubasi dengan LPS untuk menginduksi sinyal pro-inflamasi yang menekan produksi IL-23p19 dan produksi IL-12p40, yang hampir tidak ada tanpa LPS. Peningkatan produksi IL-23p19 dimediasi oleh beta-glukan pada Ganoderma (dan telah dilaporkan di tempat lain dan melalui jalur ERK / MEK. Semua efek di atas telah terlihat *in vivo* setelah konsumsi oral.⁶⁶

Peningkatan sel Treg (*Foxp3 +*; kelas utama sel T regulasi telah dicatat dengan protein LZ-8 pada *Ganoderma lucidum*, di mana 1 µg / mL yang diberikan pada sel CD4 meningkatkan ekspresi Treg 4 sampai 10 kali lipat sehingga meningkat Sekresi IL-2 dan IL-10. Sel Treg yang teraktivasi di tanam dalam tikus dengan peradangan usus menunjukkan efek penekan (terlihat dengan induser sel Treg lainnya seperti *lactobacillus reuteri*).⁵⁴

Efek stimulasi Ganoderma tampaknya meluas ke sel T. Ada metode pelatihan untuk atlet yang melibatkan pelatihan di dekat permukaan laut dan atau pelatihan di tempat yang lebih tinggi, diperkirakan dapat mencapai manfaat pelatihan terhadap hipoksia meskipun juga dikaitkan dengan penekanan kekebalan (imunosupresi). Terkait dengan sel NK dan sel T).⁶⁷

Pada pemain sepak bola yang mengalami kondisi tidur hipoksia (pada ketinggian 2500m) dan latihan dalam kondisi normooksik Suplemen Reishi sejumlah 2,5-5g (ekstrak polisakarida larut air) selama 28 hari menunjukkan bahwa imunosupresi sementara jangka pendek (yang dinilai oleh CD3 +, CD4 +,

dan Jumlah sel CD8 +) dilemahkan untuk mengendalikan sel T CD3 + dengan Ganoderma 5g yang distimulasi dengan uji kontrol dan plasebo. Perubahan pada sel T +CD3 dari latihan hipoksia tampaknya sepenuhnya normal dan sedikit terbalik dengan suplementasi Ganoderma 5.000 mg.⁶⁸

vi. Sel B

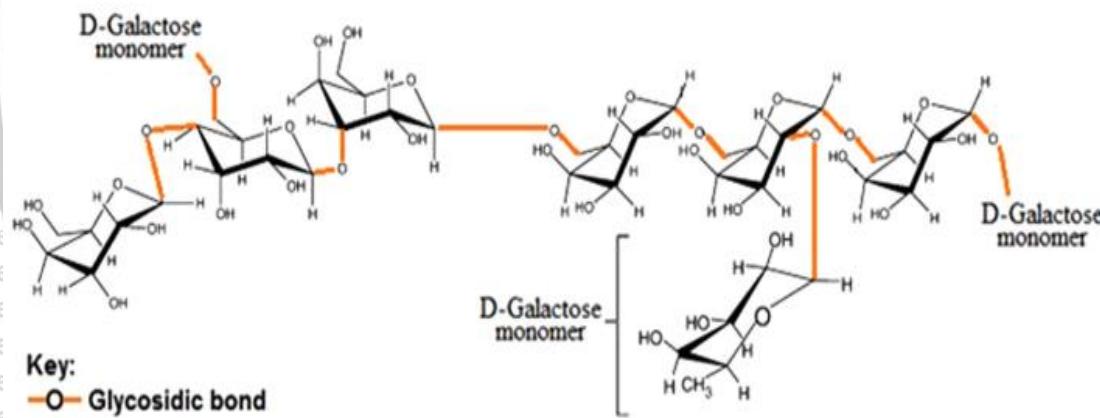
Ganoderma polisakarida (fragmen larut air yang dikenal sebagai F3 telah menunjukkan bahwa dapat menginduksi diferensiasi sel B dan menyebabkan aktivasi sel B pada sel limpa tikus, dan menginduksi diferensiasi ke sel sekresi IgM (plasma Sel). Potensi induksi aktivitas sel B yang diinduksi Ganoderma serupa dengan Lipopolysaccharide (LPS), standar penelitian pro-inflamasi. Sesuai dengan diferensiasi yang diamati ini, induksi aktivitas protein pematangan-limfosit yang disebabkan oleh limfosit-1 (Blimp-1) melalui pengaktifan reseptor TLR4 dan / atau TLR2 (karena penghambatan keduanya saja tidak banyak mengubah hasil, yang menandakan post-cytosolic pathway) dan pensinyalan melalui p38 / MAPK.⁶⁹

Pada sel B dewasa (sel plasma), peningkatan konten terlihat (dinilai dengan peningkatan deteksi CD138 setelah 3 hari) dan peningkatan sekresi antibodi. Sekresi Ig tampaknya dimediasi melalui JNK, NF- κ B, dan MEK-ERK1 / 2 karena penghambatan salah satu dari tiga ini mengurangi sekresi Ig tetapi tidak dilakukan induksi Blimp-1.⁷⁰

Tidak ada efek signifikan pada diferensiasi atau aktivasi yang terlihat pada sel B perifer manusia namun peningkatan IL-6, IL-8 dan MIP-1 α terlihat, dan tidak ada induksi TNF α dari sel B.⁷⁰

B. Sebagai anti-oksidan

Radikal bebas dan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan oleh-produk dari proses metabolisme yang melibatkan enzim redoks dan bioenergetika transfer elektron, serta dalam menanggapi paparan untuk beberapa bahan kimia eksogen. ROS dan radikal bebas dapat merusak sel-sel melalui oksidasi, dan akumulasi jangka panjang kerusakan tersebut menyebabkan penuaan dan berbagai penyakit terkait usia. Studi telah digunakan untuk menunjukkan bahwa *G. lucidum* meningkatkan aktivitas superokida oksida dan katalase dimana enzim yang terlibat dalam menghilangkan ROS yang berbahaya. Selain itu, pemberian triterpen pada tikus meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, dan mengurangi radiasi oksidatif kerusakan DNA pada splenocytes tikus.^{2,3}



Gambar 8. Struktur molekul polisakarida dari *G. lucidum*. consist monomer D-Galaktosa (Ye et al., 2010)

2.6 Uji Toksisitas

Toksikologi adalah studi tentang sifat dan mekanisme yang mendasari efek toksik yang diberikan oleh zat-zat pada organisme hidup dan sistem biologis lainnya. Toksikologi juga berhubungan dengan penilaian kuantitatif efek samping dari suatu zat dalam kaitannya dengan konsentrasi atau dosis, durasi, dan frekuensi paparan organisme.⁷¹ Uji toksitas pada tikus putih merupakan salah satu upaya untuk mengetahui daya racun dan efek sampingnya terhadap manusia. Pengujian secara biologi bila dibandingkan dengan pengujian secara kimia dan fisika lebih memberikan gambaran tentang reaksi makhluk hidup terhadap bahan yang diuji tersebut. Gambaran yang diperoleh dapat berupa informasi perilaku, jumlah kematian yang terjadi, abnormalitas fungsi organ tubuh atau gangguan fisiologis lainnya. Menurut Harmita & Radji (2008) pengujian toksitas dibagi menjadi tiga kelompok yaitu:

2.6.1. Uji toksitas akut

Uji ini dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam.

2.6.2. Uji toksitas jangka pendek (subkronik)

Uji ini dilakukan dengan memberikan bahan tersebut berulang-ulang biasanya setiap hari, atau lima kali seminggu selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan yaitu tiga bulan untuk tikus dan satu atau dua tahun untuk anjing. Tetapi beberapa peneliti menggunakan jangka waktu yang lebih pendek misalnya selama 14 dan 28 hari.

2.7. Toksisitas Organ Aorta

Paparan obat dan bahan kimia sering menyebabkan keracunan pada organisme hidup. Yang perlu diketahui bahwa tidak semua senyawa mempunyai tingkat toksik sama pada semua sistem organ, karena aksi racun dari banyak senyawa dapat dimanifestasikan pada organ-organ spesifik tertentu. Organ-organ ini dikenal sebagai target organ dari keracunan. Toksikan tidak mempengaruhi semua organ sasaran dengan keberadaan yang sama. Secara umum mekanisme yang mendasari disebabkan oleh karena kerentanan pada masing-masing organ sasaran atau disebabkan oleh tingkat konsentrasi bahan kimia/metabolitnya pada tempat aksinya. Terlepas dari efek lokal pada lokasi kontak, racun dapat menyebabkan kerusakan hanya setelah diserap oleh organisme. Penyerapan dapat terjadi melalui kulit, saluran pencernaan, paru-paru dan beberapa rute minor lainnya. Selain itu, sifat dan intensitas efek bahan kimia pada organisme tergantung pada konsentrasi pada organ sasaran. Konsentrasi tidak hanya tergantung pada dosis yang diberikan tetapi juga pada faktor-faktor lain, termasuk penyerapan, distribusi, pengikatan dan ekskresi. Agar bahan kimia dapat diserap, didistribusikan dan akhirnya diekskresikan, maka racun harus melewati sejumlah membran sel.⁷¹

Pemeriksaan fungsional dan morfologi aorta secara rutin jarang di kerjakan. Mengingat aorta bukan merupakan target organ umum akibat obat, namun dapat dilakukan sebagai bagian integral dari studi toksisitas jangka pendek dan jangka panjang. Dalam studi yang dirancang

khusus untuk cardiotoksisitas, banyak dengan menggunakan hewan coba jenis anjing, kelinci, dan tikus yang umum digunakan.⁷²

Ganoderma lucidum spesies jamur, dilaporkan mengandung senyawa bioaktif atau fungsional seperti polisakarida, β -glucan polisakarida-peptida dan triterpenol dilaporkan memiliki aktivitas hipoglikemik, imunomodulator, antiinflamasi, antiviral, antibakteri atau antiparasit. Efek anti kanker dari polisakarida ini telah disarankan karena efek imunomodulator daripada aktivitas sitotoksik langsung.⁷³

Studi terbaru menunjukkan hubungan aktivitas struktur polisakarida, terutama dalam bentuk b-glukan, terhadap sistem kekebalan tubuh. B-Glucans, terdiri dari polimer D-glukosa, diproduksi oleh jamur, Ragi dan biji-bijian tapi bukan sel mamalia. Ini adalah sebuah Polimer karbohidrat dengan rantai molekul glukosa yang dihubungkan bersama oleh hubungan b-glikosidik (gambar 8). Ini adalah salah satu komponen utama dinding sel di sebagian besar jamur dan tumbuhan. Struktur utama dari polimer b-glukan berbeda dari sumber ke sumber, namun terutama terdiri dari polimer glukosa linier. Polimer ini memiliki beragam variabilitas struktural termasuk berat molekul, pola keterkaitan, dan derajat percabangan, triple konformasi heliks dan kelarutan air. Fungsi imunomodulasi b-glukan telah diklaim tergantung pada variabilitas strukturalnya. Dalam hal modulatin imun Aktivitasnya, polisakarida jamur sudah diklaim lebih Efektif karena unitnya β (1,3) glukan dengan ikatan percabangan tertentu.⁷³⁻⁷⁵

β -glucan umumnya diproduksi sebagai produk sampingan pertanian. Produksi β -glucan dari sumber tersebut menyiratkan manfaat ekonomi dan lingkungan mereka. Selain itu, mengingat manfaat kesehatannya, A.S. Food and Drug Administration (FDA, 1997) telah menyampaikan klaim kesehatan pada produk makanan untuk mengurangi tingkat kolesterol pada b-glukan (0,75 g per porsi) termasuk dalam makanan semacam itu (FDA, 1997). Demikian pula, European Food Safety Authority (EFSA) mengesahkan klaim kesehatan terkait pemeliharaan

normal. Konsentrasi kolesterol darah untuk serat sereal larut. Pabrikan makanan telah memanfaatkan ini dan telah banyak usaha dibuat untuk menghasilkan zat yang diperkaya b-glukan dari berbagai macam makanan dan memasukkannya ke dalam berbagai makanan semacam itu. Seperti makanan yang dipanggang, produk susu dan produk kembang gula.

Tersedia saat ini beberapa bahan makanan komersial kaya sereal b-glukan. Dalam beberapa tahun terakhir usaha telah dibuat untuk secara efektif mengekstrak b-glukan dari ragi dan jamur untuk aplikasi makanan. Mengingat potensi manfaat kesehatan dari β -glucan, tujuan dari Penelitian saat ini adalah untuk menyelidiki efek samping, setelah pemberian jangka sedang pada tikus. Efek ekstrak β -glucan jamur diteliti dalam penelitian 3-10 kali dosis terapi.⁷³

Penelitian terdahulu, tikus dibagi menjadi empat kelompok Berdasarkan pengacakan terstratifikasi dengan menggunakan bobot tubuh yang diambil sebelum inisiasi pengobatan. tikus diberikan obat secara oral (gavage) sekali sehari dengan jamur b-glukan. Persiapan pada tingkat dosis 0 (kontrol Kelompok I), 500 (dosis kelompok II-rendah), 1000 (Kelompok III-pertengahan dosis), atau 2000 (kelompok IV-dosis tinggi) mg / kg bb (volume dosis 10 mL / kg) selama 90 hari berturut-turut. Larutan dosis disiapkan segar setiap hari dengan air steril dan diaduk sampai dosis yang tepat tercapai. Hewan kontrol mendapat air steril. Parameter diselidiki diantaranya tanda klinis, bobot tubuh dan konsumsi pakan. Pengamatan klinis dilakukan setiap hari setelah pemberian dosis selama masa studi dan setiap kelainan dicatat dan didokumentasikan. Berat badan rata-rata dan berat badan rata-rata tercatat. Konsumsi pakan diukur pada interval mingguan. Pemeriksaan laboratorium klinis hematologi dan kimia darah diperoleh melalui aorta perut dan dikumpulkan. dan dianalisis, berat organ dan histopatologi. Setelah selesai periode perawatan. Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan kemudian dicatat dan dianalisis.⁷³

Hasil pengamatan didapatkan tidak ada mortalitas yang dilaporkan selama masa pengobatan yang terkait dengan jamur β -glucan. Dilaporkan tikus betina perlakuan dosis rendah kelompok di eutanasia pada hari ke 82 karena trauma yang tidak disengaja yang tidak

terkait dengan pengobatan b-glukan jamur. Tidak ada tanda klinis abnormal terkait pengobatan pada kelompok manapun selama masa studi. Bobot tubuh kelompok perlakuan (Kelompok II, III, IV) adalah sebanding dengan kelompok hewan kontrol (Grup I) pada periode perlakuan dan tidak ada perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$).⁷³⁻⁷⁵

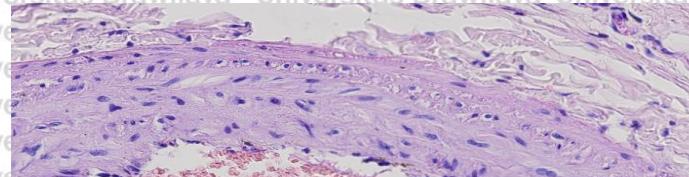
Pemeriksaan gangguan organ aorta dapat dilakukan dalam beberapa cara.

1. Kimia darah Profil lipid (LDL, HDL, trigliserida dan total cholesterol) menggunakan uji spektrofotometri colorimetri menggunakan alat cobasmira.

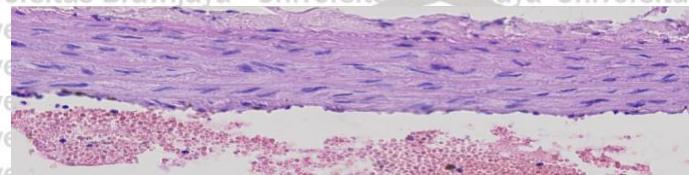
2. Pemeriksaan histopatologi organ

Penilaian histopatologi adalah landasan penilaian toksitas aorta, meskipun sejumlah teknik dan metode lainnya juga penting, terutama dalam penjelasan mekanisme toksitas atau pemantauan organ aorta selama hidup. Pemeriksaan histopatologi meliputi pemeriksaan response morfologi terhadap injuri. Dapat dipantau dengan adanya Vasculitis dan Focal hemorrhage

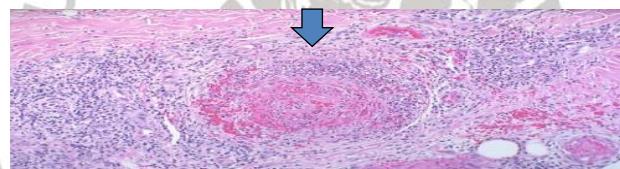
Berikut berbagai macam contoh gambaran histopatologi organ aorta normal dan yang mengalami injuri karena berbagai macam toksikan yang dirangkum dari berbagai sumber:

Gambar 9. Gambaran histopatologi organ Aorta normal

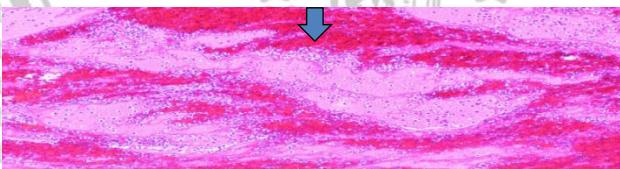
A. Gambaran histologi aorta jantan. Pembesaran 200x pengecatan HE.



B. Gambaran histologi aorta betina. Pembesaran 200x pengecatan HE.

C. Gambar 10. Gambaran histopatologi organ Aorta, hemorrhage :

D. Gambaran histologi aorta, Vaskulitis



E. Gambaran histologi aorta, focal hemorrhage

vaskulitis dan w focal

2.8.1. **Vasculitis**

Vasculitis adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan serangkaian kondisi dimana ada peradangan pembuluh darah. Vasculitis bisa primer (terjadi dengan sendirinya), atau sekunder (sebagai akibat dari infeksi, atau dalam hubungan dengan kondisi lain seperti rheumatoid arthritis). Efeknya mungkin sementara atau mengakibatkan kerusakan jangka panjang pada pembuluh darah.

Vasculitis jarang terjadi. Sekitar 14.000 kasus baru didiagnosis di Inggris setiap tahun

⁸⁰. Sebuah studi praktik umum di Inggris menemukan bahwa tipe yang paling umum - polymyalgia rheumatica (PR) - memiliki perkiraan kumulatif prevalensi (jumlah orang yang pernah memiliki penyakit selama periode waktu tertentu) sebesar 2,27%. Untuk yang paling umum berikutnya - giant cell arteritis (GCA) - adalah 0,41%⁸¹.

2.8.1. Etiologi ⁸²

1. Idiopathic (45-55%).
2. Infeksi (15-20%) - misalnya, purpura Henoch-Schönlein, vaskulitis septik, flare saluran pernapasan atas granulomatosis dengan polyangiitis (granulomatosis Wegener), poliarteritis nodosa (PAN).
3. Penyakit inflamasi (15-20%) - mis., Lupus eritematosus sistemik (SLE), artritis reumatoid, penyakit Crohn dan kolitis ulserativa.
4. Diinduksi obat (10-15%) - misalnya, sulfonamid, beta-laktam, kuinolon, obat anti-inflamasi non-steroid (NSAID), kontrasepsi oral, tiazid, vaksin anti-influenza. Bahan kimia seperti insektisida dan produk minyak bumi.
5. Neoplastik (<5%) - misalnya, sebagai akibat dari paraproteinaemia atau gangguan limfoproliferatif.

2.8.2 Klasifikasi

Banyak upaya telah dilakukan untuk mengklasifikasikan kelompok penyakit ini dan beberapa klasifikasi sudah ada. Konferensi Konsensus Chapel Hill (CHCC) secara luas mengklasifikasikan penyebab vaskulitis menjadi infektif dan non-infektif dan

kemudian melanjutkan untuk mengklasifikasikan penyebab non-infektif lebih lanjut

⁸³

Penyebab infeksi dianggap sebagai penyebab di mana ada invasi langsung oleh patogen ke dinding pembuluh darah, yang mengakibatkan peradangan. Contohnya termasuk rickettsial vasculitis, aortitis sifilis dan arteritis aspergillus.

Untuk penyebab non-infektif, CHCC mengklasifikasikan vaskulitis menjadi:

Large-vessel (eg, GCA)	Single-organ (eg, isolated aortitis)
Medium-vessel (eg, Kawasaki disease)	Systemic disease-associated (eg, rheumatoid)
Small-vessel (eg, immune complex)	Probably associated (eg, hepatitis B, hepatitis C)
Variable-vessel (eg, Behçet's disease)	

Klasifikasi CHCC berlaku untuk vasculides (pleura dari vasculitis) di mana

Antineutrophil Cytoplasmic Antibody (ANCA) hadir dalam darah. Ini dikenal sebagai

ANCA-associated vasculitis (AAV). Non-AAV biasanya terjadi pada kondisi di mana

terjadi deposisi kompleks imun (misalnya purpura Henoch-Schönlein) atau

fenomena pan-neoplastik⁸⁴.

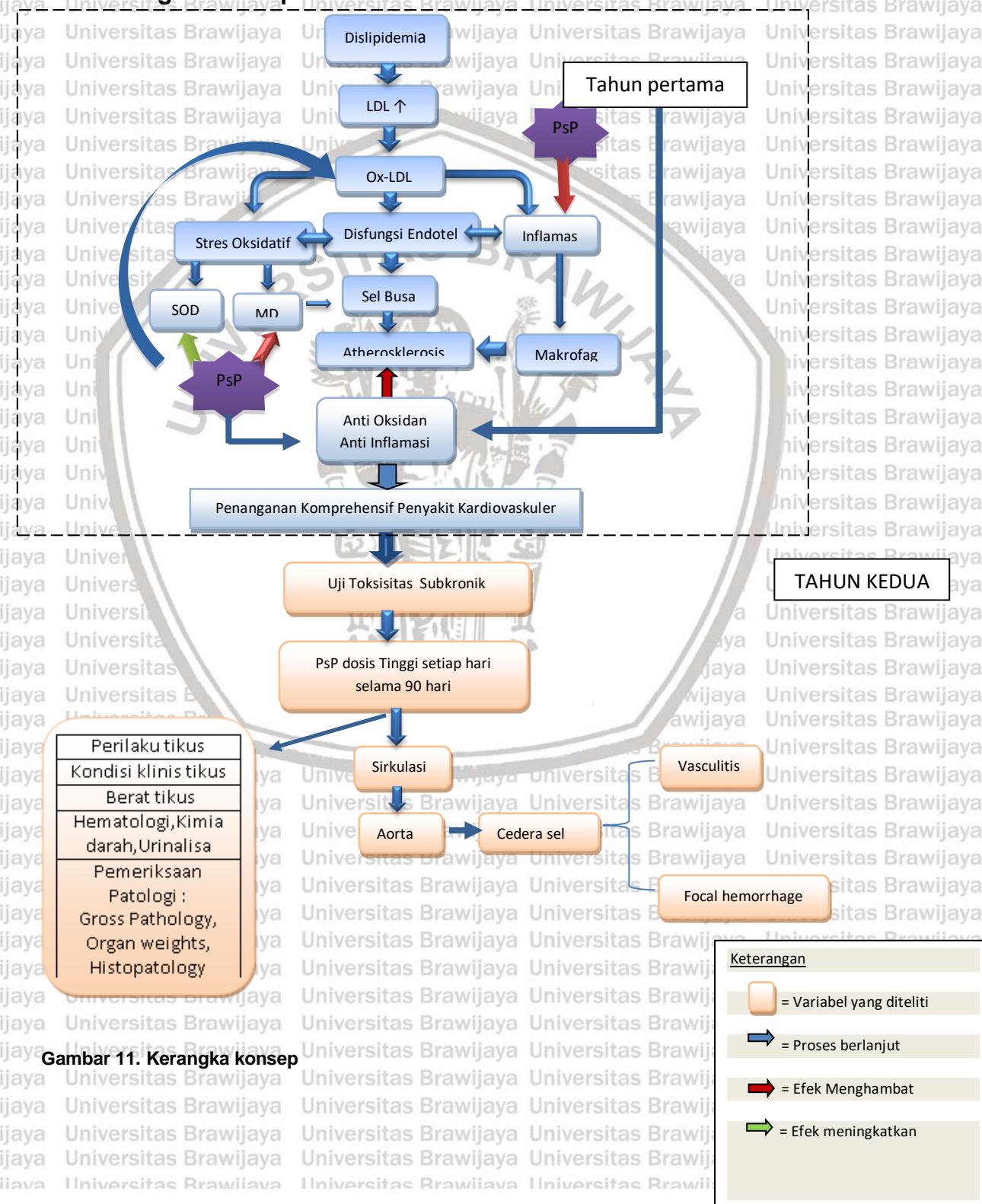
2.8.3 Presentasi⁸⁵⁻⁸⁶

Vaskulitis dapat mempengaruhi sistem apa pun, menghasilkan berbagai macam gejala. Meskipun gejala yang tidak spesifik seperti artralgia dan kelesuan dapat terjadi untuk beberapa waktu, seringkali tanda pertama yang terlihat dari vaskulitis akan menjadi lesi kulit dan karena itu akan muncul seperti :

	Vaskulitis pembuluh kecil (terkadang disebut sebagai hipersensitivitas vaskulitis atau leukocytoclastic vasculitis kulit (LCV))	Vaskulitis pembuluh berukuran sedang	Vaskulitis pembuluh besar (mis.aorta dan cabang utama)
Presentasi	<ul style="list-style-type: none"> • Purpura yang teramat 1-3 mm (dapat bergabung membentuk plak ± ulkus) • papula kecil • Splinter haemorrhages • Urtikaria • Vesikel • Livedo reticularis (jarang) 	<ul style="list-style-type: none"> • Bisul • Infark digital • Nodul • Livedo reticularis • Lesi papulo-nekrotik • Hipertensi (kerusakan pada pembuluh ginjal) 	<ul style="list-style-type: none"> • Iskemia organ (misalnya, TIA / CVE) • Hipertensi • Aneurisma • Diseksi ± haemorrhage atau ruptur
Diagnosis banding	<ul style="list-style-type: none"> • Henoch-Schönlein purpura • Vaskulitis cryoglobulinaemic - idiopatik, hepatitis C • Reaksi hipersensitivitas obat • Infeksi (misalnya, streptokokus beta-hemolitik, hepatitis virus, HIV) • Penyakit kolagen vaskular (misalnya, rheumatoid arthritis, sindrom Sjögren, SLE) • Penyakit radang usus • Neoplastik (misalnya, sel leukemia berbulu) • Penyebab vaskulitis pembuluh darah besar (tidak umum) 	<ul style="list-style-type: none"> • Vaskulitis Wegener • Sindrom Churg-Strauss • Polyarteritis nodosa • Penyakit Kawasaki • GCA • Penyakit Behçet, • Radang sendi • Infeksi (tuberkulosis) • Erythema induratum (dari Bazin) 	<ul style="list-style-type: none"> • Penyakit Kawasaki • Penyakit Behçet • Radang sendi • Sifilis dan tuberkulosis • Aorta dan Arteritis Takayasu

3.1. Kerangka Konsep

BAB III. KERANGKA TEORI DAN KONSEP



Keterangan Kerangka Konsep:

Penyakit arteri koroner merupakan bentuk yang paling sering dari penyakit kardiovaskuler, dimana patofisiologi yang mendasari adalah aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyakit kronis berkembang lambat pada arteri ukuran besar dan menengah yang ditandai dengan pembentukan plak aterosklerotik yang terdiri dari inti nekrotik, daerah terkalsifikasi, akumulasi lipid termodifikasi, migrasi sel-sel otot polos, sel busa, sel endotel dan leukosit. Dislipidemia dengan petanda kenaikan kadar LDL darah akan menyebabkan infiltrasi LDL yang kemudian menimbulkan oksidasi LDL. Oksidasi LDL pada sel endotel dapat mempengaruhi fungsi endotel, menimbulkan stress oksidatif serta menimbulkan reaksi inflamasi yang dapat mempercepat progresifitas proses arterosklerosis.

Peran PSP sebagai antioksidan disini adalah menghambat proses inflamasi dan mengurangi stress oksidatif melalui penghambatan MDA dan meningkatkan SOD. G. Lucidum kaya kandungan polisakarida dan triterpenoid. Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas subkronik *G. lucidum*, dengan beberapa dosis yang berbeda pada objek hewan coba untuk mengetahui peranan antioksidan, anti inflamasi, pengamatan terhadap gross pathology, organ weight dan histopathology. Adapun efek toksis yang kemungkinan terjadi pada target organ aorta adalah infiltrasi vasculitis dan focal hemorrhage akan diamati dalam penelitian ini.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan tinjauan pustaka dan kerangka konsep, peneliti mempunyai hipotesis sebagai berikut: Tidak didapatkan efek toksis subkronik pada organ aorta dengan pemberian peptida polisakarida (*Ganoderma lucidum*) pada hewan coba.

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang menggunakan metode *randomize, post test, control group*, dan *true experimental*. Penelitian laboratoris secara *in vivo* dengan pendekatan *post test with control group*. Penelitian dilakukan selama tiga bulan

4.2 Populasi Sampel Penelitian

Uji toksisitas subkronik ini menggunakan hewan uji coba tikus *Rattus Novergicus Strain Wistar* sejumlah 48 ekor. Terdiri dari 24 ekor jantan dan 24 ekor betina yang masing-masing dibagi menjadi 4 kelompok. Total kelompok ada 8 dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok perlakuan. Banyak pengulangan ditentukan oleh rumus Federer yaitu :

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

t : jumlah perlakuan, pada penelitian ini t=4

r : jumlah sampel penelitian

Sehingga jumlah pengulangan yang dilakukan adalah:

$$(4-1)-(4-1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$r = \pm 6$$

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak Ganoderma lucidum dosis tinggi untuk uji toksitas subkronik

4.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi organ Aorta

4.3.3. Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah penggunaan beberapa tingkatan dosis Ganoderma lucidum dalam uji toksitas subkronik.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian.

Tempat Penelitian ini dilakukan di :

4.4.1. Laboratorium Farmakologi FK UB untuk pemeliharaan binatang coba dan pemberian PSP selama 90 hari serta pengambilan sampel organ.

4.4.2. Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Airlangga Surabaya untuk proses preparasi gross organ dan slide histopatologi

4.4.3. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas kedokteran Malang untuk proses pemeriksaan DOT Scan.



4.4.4. Instalasi Laboratorium Sentral RSUD dr. Saiful Anwar Malang untuk pemeriksaan

parameter hematologi dan kimia darah

Universitas Brawijaya

4.4.5. Instalasi Patologi Anatomi RSUD dr. Saiful Anwar Malang untuk pemeriksaan

histopatologi organ Aorta

Waktu penelitian: April 2014 – Desember 2014

4.5. Bahan dan alat

4.5.1. Bahan:

- Pakan normal yang diberikan sesuai standar
- Air minum hewan coba
- Sekam padi untuk alas kandang
- Ekstrak Ganoderma lucidum, dari PT. Sahabat Lingkungan Hidup Surabaya berupa sediaan freeze dried di mana setiap 250 mg mengandung sekitar 80% β -D-glucan atau 200 mg.

Air steril untuk pencampur ekstrak *Ganoderma lucidum*

Obat anestesi untuk pembiusan.

Sabun dan cairan steril untuk cuci tangan.

4.5.2. Alat:

- Alat untuk pemeliharaan tikus: Kandang tikus, penutup kandang, alat minum tikus.

Timbangan, Sput dan Sonde, Sarung tangan dan masker



4.5.3. Hewan coba: tikus *Rattus novergicus* Strain Wistar sejumlah 48 ekor.

4.6. Definisi operasional

4.6.1. Layak Etik Penelitian.

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian pohon yang telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian menggunakan subjek hewan coba dengan No. Etik: 400/112/K.3/302/2014

4.6.2. Kriteria subjek penelitian

Tikus *Rattus novergicus* Strain Wistar sejumlah 48 ekor.

4.6.2.1. Kriteria inklusi:

berat badan 150 – 200 gram

Gelas ukur, Pengaduk gelas

Alat tulis dan buku catatan.

Jas laborat

Alat pembersih kandang dan tempat sampah.

Alat dan tempat pengambilan sampel: gunting bedah, pisau bedah, pinset, sarung tangan, spuit, vacum container untuk sampel darah, wadah sampel organ tertutup rapat, formal dehidratasi 10%, label.

Alat Pemeriksaan histopatologi Aorta: dot scan, hardisk memori kapasitas

1 TeraB, Laptop/komputer terprogram software dot scan viewer (OlyVIA®), slide organ, mikroskop.

4.6.2.2. Kriteria eksklusi:

Tikus tidak memenuhi kriteria inklusi, tikus kurang aktif, sakit, tikus mengalami mati.

4.6.3. Uji toksitas subkronik:

Uji ini dilakukan dengan memberikan bahan tersebut berulang-ulang biasanya setiap hari, atau lima kali seminggu selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan yaitu tiga bulan untuk tikus.

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Persiapan kandang

Menyiapkan rak besi untuk penempatan kandang tikus, Menyiapkan kandang dari kotak plastik dengan tutup terbuat dari ram kawat dan didalamnya diberi sekam,

Menyiapkan tempat minum tikus, setiap 3 hari sekali kandang tikus dibersihkan dan diganti sekam, pemberian makan dan minum tikus dilakukan setiap hari.

4.7.2. Persiapan hewan coba

Seleksi hewan yang akan digunakan sebagai model sesuai kriteria yang telah ditetapkan, dalam hal ini tikus putih (*Rattus Norvegicus* strain Wistar), Dilakukan adaptasi setelah tikus diseleksi, yaitu tikus dimasukkan dalam kandang yang sudah disiapkan dengan diberi pakan biasa dan minum selama 2 minggu. Pemberian diet normal : Diet normal yang digunakan berupa pakan standart yang terdiri dari pakan ayam / ParS

tikus Wistar dalam keadaan sehat, aktivitas dan tingkah laku normal, Berat Badan 150-300 gram, selama penelitian gerakan tikus aktif, tidak sakit atau mengalami mati, hewan coba bersertifikat sehat.

dengan kandungan air, protein, lemak, serat, abu, Ca, Phosphor, antibiotika, dan coccidistat 66.6%, dan tepung terigu 33.4%

4.7.3. Pengambilan data berat badan dan pengamatan perilaku tikus

Berat Badan tikus ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dengan tingkat ketelitian 0,01 kg dan untuk mengetahui perkembangan berat badannya, tikus ditimbang setiap dua minggu sekali, perilaku tikus diamati setiap hari.

4.7.4. Dosis Uji

Sekurang-kurangnya digunakan 3 kelompok dosis yang berbeda. Dosis sediaan uji yang paling tinggi harus menimbulkan efek toksik tetapi tidak menimbulkan kematian atau gejala toksisitas yang berat, dosis menengah menimbulkan gejala toksik yang lebih ringan sedangkan dosis yang paling rendah tidak menimbulkan gejala toksik / *No Observed Adverse Effect Level* (NOAEL). Batas Uji: Bila pada dosis 1000 mg/kg berat badan tidak dihasilkan efek toksik, dosis tidak perlu dinaikkan lagi, meskipun dosis yang diharapkan untuk manusia belum tercapai.

4.7.5. Perlakuan pemberian PSP

Toksitas subkronik dosis PSP yang digunakan 300 mg/kg, 600 mg/kg, 1200 mg/kg. Pemberian PSP dilakukan secara per oral (penyondean) sebanyak 1 cc tiap ekor selama 90 hari.

4.7.6. Perlakuan pembiusan dan pembedahan

Sebelum dilakukan pembedahan, tikus dibius terlebih dahulu dengan bius eter dengan cara kapas yang sudah diberi eter dimasukkan ke dalam toples, kemudian tikus dimasukkan kedalam wadah toples tertutup yang sudah berisi eter sampai tidak sadar, kemudian dilakukan prosedur pembedahan.

4.7.7. Pengambilan sampel darah dan pemeriksaan organ aorta.

Setelah pembedahan nampak organ aorta, dengan sputit 10 cc diambil darah kemudian dimasukkan kedalam vacutainer yang diberi label kemudian dikirim ke instalasi laboratorium RSUD dr. Saiful Anwar untuk pemeriksaan Hematologi dan Kimia darah.

4.7.8. Pembuatan preparat histopatologi anatom

Diawali pengambilan organ aorta setelah pembedahan, selanjutnya organ jantung ditimbang dan didokumentasi foto, organ aorta kemudian dimasukkan kedalam wadah sampel yang telah diberi cairan formalin dan diberi label, kemudian dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi Universitas Airlangga Surabaya untuk dibuatkan slide preparat histopatologi organ aorta.

4.7.9. Pembuatan Preparat Dot Scan

Setelah slide preparat histopatologi organ aorta telah jadi, slide preparat tersebut dikirim ke laboratorium patologi anatomi FK Universitas Brawijaya untuk dibuatkan visualisasi fotomikrograf digital preparat histopatologi organ aorta (DOT SCAN).

4.7.10. Pengukuran Parameter histopalogi organ aorta

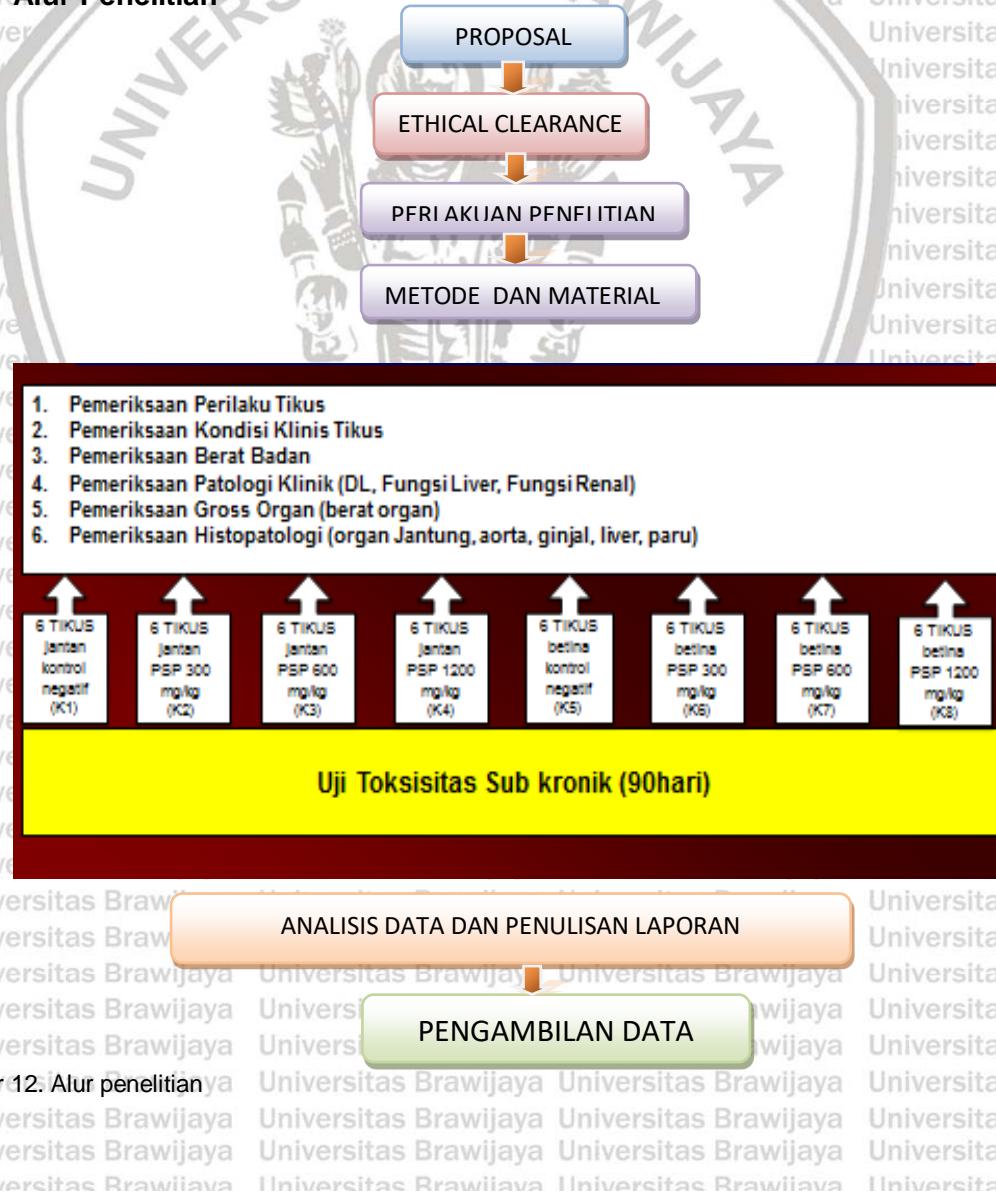
Dengan menganalisa gambaran histopatologi organ aorta melalui DOT SCAN dan dibandingkan dengan pemeriksaan slide organ melalui mikroskop pembesaran 200x dan 400x, dilakukan pemeriksaan untuk mencari gambaran injuri sel aorta seperti *vasculitis,focal hemorrhage*.

Tabel 1. Perubahan Histopatologi organ aorta

Perubahan Histopathology	Gradasi	Keterangan
Vasculitis	0	none
	1	exist
Focal hemorrhage	0	none
	1	exist

Diadaptasi dari Junko Sato, Takuya Doi, Takeshi Kanno, Histopathology of Incidental Findings in Cynomolgus Monkeys (*Macaca Fascicularis*) Used in Toxicity Studies, 2012

4.8. Alur Penelitian



Gambar 12. Alur penelitian

4.9 Jadwal penelitian

	Kegiatan	Bulan						
		Mei	Juni	Juli	agustus	september	Oktober	November
1	Persiapan penelitian : Koordinasi peneliti Pemesanan bahan penelitian Pengajuan ethical clearance Pengajuan ijin penelitian							
2	Pelaksanaan penelitian: Uji toksisitas akut Uji toksisitas subkronik Penentuan lethal dose 50							
3	Pengukuran parameter penelitian							
4	Analisis data							
5	Penyusunan laporan penelitian							
6	Publikasi penelitian							

Tabel 2. Jadwal penelitian

- DAFTAR PUSTAKA
1. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. Circulation. 2003; 108(16):1917-23.
 2. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med. 1999; 340(2):115-26.
 3. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. Circulation. 2002; 105(9):1135-1143.
 4. Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in Atherosclerosis and Implications for Therapy. Circulation. 2004; 109(23 suppl 1):III-20-III-26.
 5. Mann DL, Zipes DP, Libby P, Bonow RO. Braunwald's Heart Disease E-Book: A Textbook of Cardiovascular Medicine. Elsevier Health Sciences; 2005.
 6. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature [10.1038/nature01323]. 2002; 420(6917):868-874.
 7. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. Circulation. 2003; 108(17):2041-8.
 8. Wang J-F, Guo Y-X, Niu J-Z, Liu J, Wang L-Q, Li P-H. Effects of Radix Puerariae flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2004; 10(13):1967-1970. Available from: PMC.
 9. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival*. Journal of Cellular Physiology. 2002; 192(1):1-15.
 10. Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. The American journal of clinical nutrition. 2006; 83(2):456S-460S.
 11. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr., Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. Arterioscler Thromb. 1993; 13(2):197-204.
 12. Rajavashist TB, Andalibi A, Territo MC, Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. Nature [10.1038/344254a0]. 1990; 344(6263):254-257.
 13. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. Journal of Clinical Investigation. 1995; 96(6):2882-2891. Available from: PMC.
 14. Boulanger CM, Tanner FC, Béa ML, Hahn AW, Werner A, Lüscher TF. Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. Circulation Research. 1992; 70(6):1191-1197.
 15. Parthasarathy S, Raghavamneni A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized Low-Density Lipoprotein. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.). 2010; 610:403-417. Available from: PMC.
 16. Lamson-Fava S, Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, DeLuca C, White CC, et al. Lipoprotein(a) levels, apo(a) isoform size, and coronary heart disease risk in the Framingham Offspring Study. Journal of Lipid Research. 2011; 52(6):1181-1187. Available from: PMC.
 17. Nicholls SJ, Tang WHW, Scoffone H, Brennan DM, Hartiala J, Allayee H, et al. Lipoprotein(a) levels and long-term cardiovascular risk in the contemporary era of statin therapy. Journal of Lipid Research. 2010; 51(10):3055-3061. Available from: PMC.
 18. Cai A, Li L, Zhang Y, Mo Y, Mai W, Zhou Y. Lipoprotein(a): A Promising Marker for Residual Cardiovascular Risk Assessment. Disease Markers. 2013; 35(5):9.

19. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*. 2005; 352(16):1685-1695.
20. Aronow WS. Osteoporosis, osteopenia, and atherosclerotic vascular disease. *Archives of Medical Science : AMS*. 2011; 7(1):21-26. Available from: PMC.
21. Vanhoutte PM, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension. *British Journal of Pharmacology*. 2005; 144(4):449-458. Available from: PMC.
22. Malik AR. Association of increased lipid peroxide levels in the aorta in comparison to the pulmonary artery with the presence of coronary artery disease. *Biomedical Reports*. 2016; 4(4):479-484. Available from: PMC.
23. Upchurch GR,Jr., Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Jr., et al. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem*. 1997; 272(27):17012-7.
24. Bonaventura A, Mach F, Roth A, Lenglet S, Burger F, Brandt KJ, et al. Intraplaque Expression of C-Reactive Protein Predicts Cardiovascular Events in Patients with Severe Atherosclerotic Carotid Artery Stenosis. *Mediators of Inflammation*. 2016; 2016:9153673. Available from: PMC.
25. Lilly LS, School HM. *Pathophysiology of Heart Disease: A Collaborative Project of Medical Students and Faculty*. Lippincott Williams and Wilkins; 2015.
26. Liu Y, Li X, Peng D, Tan Z, Liu H, Qing Y, et al. Usefulness of Serum Cathepsin L as an Independent Biomarker in Patients With Coronary Heart Disease. *The American journal of cardiology*. 2009; 103(4):476-481. Available from: PMC.
27. Tanaskovic S, Isenovic ER, Radak D. Inflammation as a Marker for the Prediction of Internal Carotid Artery Restenosis Following Eversion Endarterectomy—Evidence From Clinical Studies. *Angiology*. 2011 [cited 2017/05/09]; 62(7):535-542.
28. Zheng L-H, Sun W, Yao Y, Hou B-B, Qiao Y, Zhang S. Associations of big endothelin-1 and C-reactive protein in atrial fibrillation. *Journal of Geriatric Cardiology : JGC*. 2016; 13(5):465-470. Available from: PMC.
29. Wang J, Boerma M, Fu Q, Hauer-Jensen M. Significance of endothelial dysfunction in the pathogenesis of early and delayed radiation enteropathy. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2007; 13(22):3047-3055. Available from: PMC.
30. FrostegÅRd J. SLE, atherosclerosis and cardiovascular disease. *Journal of Internal Medicine*. 2005; 257(6):485-495.
31. Pawlinski R, Pedersen B, Schabbauer G, Tencati M, Holscher T, Boisvert W, et al. Role of tissue factor and protease-activated receptors in a mouse model of endotoxemia. *Blood*. 2004; 103(4):1342-1347. Available from: PMC.
32. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002; 90(3):251-62.
33. Villares A, Mateo-Vivaracho L, Guillamón E. Structural Features and Healthy Properties of Polysaccharides Occurring in Mushrooms. *Agriculture*. 2012; 2(4).
34. A. Ajith T, K. Janardhanan K. Indian Medicinal Mushrooms as a Source of Antioxidant and Antitumor Agents. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2007; 40(3):157-162. Available from: PMC.
35. Brower V. Nutraceuticals: poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nat Biotechnol*. 1998; 16(8):728-31.
36. Ganguly NK, Bhattacharya SK, Sesikeran B, Nair GB, Ramakrishna BS, Sachdev HPS, et al. ICMR-DBT Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food. *The Indian Journal of Medical Research*. 2011; 134(1):22-25. Available from: PMC.

37. Kang C, Wen T-C, Kang J-C, Meng Z-B, Li G-R, Hyde KD. Optimization of Large-Scale Culture Conditions for the Production of Cordycepin with *Cordyceps militaris* by Liquid Static Culture. *The Scientific World Journal*. 2014; 2014:510627. Available from: PMC.
38. Raskin I. Salicylate, A New Plant Hormone. *Plant Physiology*. 1992; 99(3):799-803. Available from: PMC.
39. Śląwińska A, Radzki W, Kalbarczyk J. Herba Polonica [In: Antioxidant activities and polyphenolics content of *Flammulina velutipes* mushroom extracts. Issue 3, 2013]
40. Wasser SP. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2011; 89(5):1323-32.
41. Papadopoulos I, Guo F, Lees S, Ridge M. An exploration of the meanings and experiences of cancer of Chinese people living and working in London. *European Journal of Cancer Care*. 2007; 16(5):424-432.
42. Paterson RR. Ganoderma - a therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*. 2006; 67(18):1985-2001.
43. Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. Novel Mycelial Components, Ganoderic Acid Mg, Mh, Mi, Mj and Mk, from the Fungus *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and Biological Chemistry*. 1987; 51(4):1149-1153.
44. Zhao S, Ye G, Fu G, Cheng JX, Yang BB, Peng C. *Ganoderma lucidum* exerts anti-tumor effects on ovarian cancer cells and enhances their sensitivity to cisplatin. *Int J Oncol*. 2011; 38(5):1319-27.
45. Yang S. *The Divine Farmer's Materia Medica: A Translation of the Shen Nong Ben Cao Jing*. Blue Poppy Press; 1998.
46. Zhou L-W, Cao Y, Wu S-H, Vlasák J, Li D-W, Li M-J, et al. Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny. *Phytochemistry*. 2015; 114:7-15. Available from: PubMed.
47. Cao Y, Wu S-H, Dai Y-C. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom "Lingzhi". *Fungal Diversity [journal article]*. 2012; 56(1):49-62.
48. Jean-Marc Moncalvo, Hwei-Fang Wang, Rvey-Shyang Hsev. Gene phylogeny of the *Ganoderma lucidum* complex based on ribosomal DNA sequences. Comparison with traditional taxonomic characters. *Mycol. Res.* 1994; 99(12):1489-1499.
49. Feng X, Kong W, Wei J, Ou-Yang Z, Yang M. HPLC fingerprint analysis combined with chemometrics for pattern recognition of ginger. *Pharm Biol*. 2014; 52(3):362-7.
50. Zhou Y, Yang X, Yang Q. Recent Advances on Triterpenes from *Ganoderma* Mushroom. *Food Reviews International*. 2006; 22(3):259-273.
51. Sanodiya BS, Thakur GS, Baghel RK, Prasad GB, Bisen PS. *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus. *Curr Pharm Biotechnol*. 2009; 10(8):717-42.
52. Chan WK, Law HKW, Lin Z-B, Lau YL, Chan GC-F. Response of human dendritic cells to different immunomodulatory polysaccharides derived from mushroom and barley. *International Immunology*. 2007; 19(7):891-899.
53. Ferreira IC, Vaz JA, Vasconcelos MH, Martins A. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anticancer Agents Med Chem*. 2010; 10(5):424-36.
54. Hsien-Yeh Hsu, Yen-Chou Kuan, Tung-Yi Lin, Shu-Ming Tsao, Jason Hsu, Li-Juan Ma, et al. Reishi Protein LZ-8 Induces FOXP3+ Treg Expansion via a CD45-Dependent Signaling Pathway and Alleviates Acute Intestinal Inflammation in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013; Volume 2013 (2013), Article ID 513542, :1-11.
55. Wong KL, Wong RNS, Zhang L, Liu WK, Ng TB, Shaw PC, et al. Bioactive proteins and peptides isolated from Chinese medicines with pharmaceutical potential. *Chinese Medicine*. 2014; 9:19-19. Available from: PMC.

56. Al-Mehdi AB, Tozawa K, Fisher AB, Shientag L, Lee A, Muschel RJ. Intravascular origin of metastasis from the proliferation of endothelium-attached tumor cells: a new model for metastasis. *Nat Med.* 2000; 6(1):100-2.
57. Hellstrand K, Hermodsson S. Interleukin-2 can induce suppression of human natural killer cell cytotoxicity. *Clinical and Experimental Immunology.* 1989; 77(3):410-416. Available from: PMC.
58. Zheng S, Jia Y, Zhao JUN, Wei QUN, Liu Y. Ganoderma lucidum polysaccharides eradicates the blocking effect of fibrinogen on NK cytotoxicity against melanoma cells. *Oncology Letters.* 2012; 3(3):613-616. Available from: PMC.
59. Berovic M, Habijanic J, Zore I, Wraber B, Hodzar D, Boh B, et al. Submerged cultivation of Ganoderma lucidum biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *J Biotechnol.* 2003; 103(1):77-86.
60. Batbayar S, Kim MJ, Kim HW. Medicinal mushroom Lingzhi or Reishi, Ganoderma lucidum (W.Curt.:Fr.) P. Karst., beta-glucan induces Toll-like receptors and fails to induce inflammatory cytokines in NF-kappAB inhibitor-treated macrophages. *Int J Med Mushrooms.* 2011; 13(3):213-25.
61. Tang Q-j, Zhang J-s, Pan Y-j, Reutter W, Fan H. [Activation of mouse macrophages by the alkali-extracted polysaccharide from spore of Ganoderma lucidum]. *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi = Chinese journal of cellular and molecular immunology.* 2004; 20(2):142-144. Available from: PubMed.
62. Hsu HY, Hua KF, Lin CC, Lin CH, Hsu J, Wong CH. Extract of Reishi polysaccharides induces cytokine expression via TLR4-modulated protein kinase signaling pathways. *J Immunol.* 2004; 173(10):5989-99.
63. You YH, Lin ZB. Protective effects of Ganoderma lucidum polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species. *Acta Pharmacol Sin.* 2002; 23(9):787-91.
64. Yu-Li Lin, Shiuh-Sheng Lee, Shin-Miao Hou, Chiang aB-L. Polysaccharide Purified from Ganoderma lucidum Induces Gene Expression Changes in Human Dendritic Cells and Promotes T Helper 1 Immune Response in BALB/c Mice. *MOLECULAR PHARMACOLOGY.* 2006; Vol. 70, No. 2.
65. Zhan L, Tang J, Lin S, Xu Y, Xu Y, Qin C. Prophylactic Use of Ganoderma lucidum Extract May Inhibit Mycobacterium tuberculosis Replication in a New Mouse Model of Spontaneous Latent Tuberculosis Infection. *Frontiers in Microbiology.* 2015; 6:1490. Available from: PMC.
66. Yoshida H, Suzuki M, Sakaguchi R, Tani I, Kotani H, Shudo N, et al. Preferential induction of Th17 cells in vitro and in vivo by Fucogalactan from Ganoderma lucidum (Reishi). *Biochemical and biophysical research communications.* 2012; 422(1):174-180. Available from: PubMed.
67. Shephard RJ. Immune changes induced by exercise in an adverse environment. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.* 1998 [cited 2017/05/15]; 76(5):539-546.
68. Levine BD, Stray-Gundersen J. "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol (1985).* 1997; 83(1):102-12.
69. Lin KI, Kao YY, Kuo HK, Yang WB, Chou A, Lin HH, et al. Reishi polysaccharides induce immunoglobulin production through the TLR4/TLR2-mediated induction of transcription factor Blimp-1. *J Biol Chem.* 2006; 281(34):24111-23.
70. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* [10.1038/nature04267]. 2005; 438(7066):364-368.
71. Byung-Mu Lee SK. *Lu's Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment*, . 2012.
72. Herman E, Knapton A, Zhang J, Estis J, Todd J, Lipschultz S. The utility of serum biomarkers to detect myocardial alterations induced by Imatinib in rats. *Pharmacology Research & Perspectives.* 2014; 2(1):e00015. Available from: PMC.

1. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. Circulation. 2003; 108(16):1917-23.
2. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. N Engl J Med. 1999; 340(2):115-26.
3. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. Circulation. 2002; 105(9):1135-1143.
4. Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. Circulation. 2004; 109(23 suppl 1):III-20-III-26.
5. Mann DL, Zipes DP, Libby P, Bonow RO. Braunwald's Heart Disease E-Book: A Textbook of Cardiovascular Medicine. Elsevier Health Sciences; 2005.
6. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature [10.1038/nature01323]. 2002; 420(6917):868-874.
7. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. Circulation. 2003; 108(17):2041-8.
8. Wang J-F, Guo Y-X, Niu J-Z, Liu J, Wang L-Q, Li P-H. Effects of Radix Puerariae flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2004; 10(13):1967-1970. Available from: PMC.
9. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival*. Journal of Cellular Physiology. 2002; 192(1):1-15.
10. Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. The American journal of clinical nutrition. 2006; 83(2):456S-460S.
11. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr., Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. Arterioscler Thromb. 1993; 13(2):197-204.
12. Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. Nature [10.1038/344254a0]. 1990; 344(6263):254-257.
13. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. Journal of Clinical Investigation. 1995; 96(6):2882-2891. Available from: PMC.
14. Boulanger CM, Tanner FC, Béa ML, Hahn AW, Werner A, Lüscher TF. Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. Circulation Research. 1992; 70(6):1191-1197.
15. Parthasarathy S, Raghavamnen A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized Low-Density Lipoprotein. Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.). 2010; 610:403-417. Available from: PMC.
16. Lamon-Fava S, Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, DeLuca C, White CC, et al. Lipoprotein(a) levels, apo(a) isoform size, and coronary heart disease risk in the Framingham Offspring Study. Journal of Lipid Research. 2011; 52(6):1181-1187. Available from: PMC.
17. Nicholls SJ, Tang WHW, Scoffone H, Brennan DM, Hartiala J, Allayee H, et al. Lipoprotein(a) levels and long-term cardiovascular risk in the contemporary era of statin therapy. Journal of Lipid Research. 2010; 51(10):3055-3061. Available from: PMC.
18. Cai A, Li L, Zhang Y, Mo Y, Mai W, Zhou Y. Lipoprotein(a): A Promising Marker for Residual Cardiovascular Risk Assessment. Disease Markers. 2013; 35(5):9.
19. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. New England Journal of Medicine. 2005; 352(16):1685-1695.
20. Aronow WS. Osteoporosis, osteopenia, and atherosclerotic vascular disease. Archives of Medical Science : AMS. 2011; 7(1):21-26. Available from: PMC.

21. Vanhoutte PM, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension. *British Journal of Pharmacology*. 2005; 144(4):449-458. Available from: PMC.
22. Malik AR. Association of increased lipid peroxide levels in the aorta in comparison to the pulmonary artery with the presence of coronary artery disease. *Biomedical Reports*. 2016; 4(4):479-484. Available from: PMC.
23. Upchurch GR, Jr., Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Jr., et al. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem*. 1997; 272(27):17012-7.
24. Bonaventura A, Mach F, Roth A, Lenglet S, Burger F, Brandt KJ, et al. Intraplaque Expression of C-Reactive Protein Predicts Cardiovascular Events in Patients with Severe Atherosclerotic Carotid Artery Stenosis. *Mediators of Inflammation*. 2016; 2016:9153673. Available from: PMC.
25. Lilly LS, School HM. *Pathophysiology of Heart Disease: A Collaborative Project of Medical Students and Faculty*. Lippincott Williams and Wilkins; 2015.
26. Liu Y, Li X, Peng D, Tan Z, Liu H, Qing Y, et al. Usefulness of Serum Cathepsin L as an Independent Biomarker in Patients With Coronary Heart Disease. *The American journal of cardiology*. 2009; 103(4):476-481. Available from: PMC.
27. Tanaskovic S, Isenovic ER, Radak D. Inflammation as a Marker for the Prediction of Internal Carotid Artery Restenosis Following Eversion Endarterectomy—Evidence From Clinical Studies. *Angiology*. 2011 [cited 2017/05/09]; 62(7):535-542.
28. Zheng L-H, Sun W, Yao Y, Hou B-B, Qiao Y, Zhang S. Associations of big endothelin-1 and C-reactive protein in atrial fibrillation. *Journal of Geriatric Cardiology : JGC*. 2016; 13(5):465-470. Available from: PMC.
29. Wang J, Boerma M, Fu Q, Hauer-Jensen M. Significance of endothelial dysfunction in the pathogenesis of early and delayed radiation enteropathy. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2007; 13(22):3047-3055. Available from: PMC.
30. FrostegÅrd J. SLE, atherosclerosis and cardiovascular disease. *Journal of Internal Medicine*. 2005; 257(6):485-495.
31. Pawlinski R, Pedersen B, Schabbauer G, Tencati M, Holscher T, Boisvert W, et al. Role of tissue factor and protease-activated receptors in a mouse model of endotoxemia. *Blood*. 2004; 103(4):1342-1347. Available from: PMC.
32. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002; 90(3):251-62.
33. Villares A, Mateo-Vivaracho L, Guillamón E. Structural Features and Healthy Properties of Polysaccharides Occurring in Mushrooms. *Agriculture*. 2012; 2(4).
34. Ajith T, K. Janardhanan K. Indian Medicinal Mushrooms as a Source of Antioxidant and Antitumor Agents. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2007; 40(3):157-162. Available from: PMC.
35. Brower V. Nutraceuticals: poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nat Biotechnol*. 1998; 16(8):728-31.
36. Ganguly NK, Bhattacharya SK, Sesikeran B, Nair GB, Ramakrishna BS, Sachdev HPS, et al. ICMR-DBT Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food. *The Indian Journal of Medical Research*. 2011; 134(1):22-25. Available from: PMC.
37. Kang C, Wen T-C, Kang J-C, Meng Z-B, Li G-R, Hyde KD. Optimization of Large-Scale Culture Conditions for the Production of Cordycepin with *Cordyceps militaris* by Liquid Static Culture. *The Scientific World Journal*. 2014; 2014:510627. Available from: PMC.
38. Raskin I. Salicylate, A New Plant Hormone. *Plant Physiology*. 1992; 99(3):799-803. Available from: PMC.

39. Sławińska A, Radzki W, Kalbarczyk J. Herba Polonica [In: Antioxidant activities and polyphenolics content of *Flammulina velutipes* mushroom extracts. Issue 3, 2013]
40. Wasser SP. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011; 89(5):1323-32.
41. Papadopoulos I, Guo F, Lees S, Ridge M. An exploration of the meanings and experiences of cancer of Chinese people living and working in London. *European Journal of Cancer Care.* 2007; 16(5):424-432.
42. Paterson RR. Ganoderma—a therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry.* 2006; 67(18):1985-2001.
43. Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. Novel Mycelial Components, Ganoderic Acid Mg, Mh, Mi, Mj and Mk, from the Fungus *Ganoderma lucidum*. *Agricultural and Biological Chemistry.* 1987; 51(4):1149-1153.
44. Zhao S, Ye G, Fu G, Cheng JX, Yang BB, Peng C. *Ganoderma lucidum* exerts anti-tumor effects on ovarian cancer cells and enhances their sensitivity to cisplatin. *Int J Oncol.* 2011; 38(5):1319-27.
45. Yang S. *The Divine Farmer's Materia Medica: A Translation of the Shen Nong Ben Cao Jing.* Blue Poppy Press; 1998.
46. Zhou L-W, Cao Y, Wu S-H, Vlasák J, Li D-W, Li M-J, et al. Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny. *Phytochemistry.* 2015; 114:7-15. Available from: PubMed.
47. Cao Y, Wu S-H, Dai Y-C. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom "Lingzhi". *Fungal Diversity [journal article].* 2012; 56(1):49-62.
48. Jean-Marc Moncalvo, Hwei-Fang Wang, Rvey-Shyang Hsev. Gene phylogeny of the *Ganoderma lucidum* complex based on ribosomal DNA sequences. Comparison with traditional taxonomic characters. *Mycol. Res.* 1994; 99(12):1489-1499.
49. Feng X, Kong W, Wei J, Ou-Yang Z, Yang M. HPLC fingerprint analysis combined with chemometrics for pattern recognition of ginger. *Pharm Biol.* 2014; 52(3):362-7.
50. Zhou Y, Yang X, Yang Q. Recent Advances on Triterpenes from *Ganoderma* Mushroom. *Food Reviews International.* 2006; 22(3):259-273.
51. Sanodiya BS, Thakur GS, Baghel RK, Prasad GB, Bisen PS. *Ganoderma lucidum*: a potent pharmacological macrofungus. *Curr Pharm Biotechnol.* 2009; 10(8):717-42.
52. Chan WK, Law HKW, Lin Z-B, Lau YL, Chan GC-F. Response of human dendritic cells to different immunomodulatory polysaccharides derived from mushroom and barley. *International Immunology.* 2007; 19(7):891-899.
53. Ferreira IC, Vaz JA, Vasconcelos MH, Martins A. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anticancer Agents Med Chem.* 2010; 10(5):424-36.
54. Hsien-Yeh Hsu, Yen-Chou Kuan, Tung-Yi Lin, Shu-Ming Tsao, Jason Hsu, Li-Juan Ma, et al. Reishi Protein LZ-8 Induces FOXP3+ Treg Expansion via a CD45-Dependent Signaling Pathway and Alleviates Acute Intestinal Inflammation in Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2013; Volume 2013 (2013), Article ID 513542, :1-11.
55. Wong KL, Wong RNS, Zhang L, Liu WK, Ng TB, Shaw PC, et al. Bioactive proteins and peptides isolated from Chinese medicines with pharmaceutical potential. *Chinese Medicine.* 2014; 9:19-19. Available from: PMC.
56. Al-Mehdi AB, Tozawa K, Fisher AB, Shientag L, Lee A, Muschel RJ. Intravascular origin of metastasis from the proliferation of endothelium-attached tumor cells: a new model for metastasis. *Nat Med.* 2000; 6(1):100-2.

57. Hellstrand K, Hermodsson S. Interleukin-2 can induce suppression of human natural killer cell cytotoxicity. *Clinical and Experimental Immunology*. 1989; 77(3):410-416. Available from: PMC.
58. Zheng S, Jia Y, Zhao JUN, Wei QUN, Liu Y. Ganoderma lucidum polysaccharides eradicates the blocking effect of fibrinogen on NK cytotoxicity against melanoma cells. *Oncology Letters*. 2012; 3(3):613-616. Available from: PMC.
59. Berovic M, Habijanic J, Zore I, Wraber B, Hodzar D, Boh B, et al. Submerged cultivation of Ganoderma lucidum biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *J Biotechnol*. 2003; 103(1):77-86.
60. Batbayar S, Kim MJ, Kim HW. Medicinal mushroom Lingzhi or Reishi, Ganoderma lucidum (W.Curt.:Fr.) P. Karst., beta-glucan induces Toll-like receptors and fails to induce inflammatory cytokines in NF-kappaB inhibitor-treated macrophages. *Int J Med Mushrooms*. 2011; 13(3):213-25.
61. Tang Q-j, Zhang J-s, Pan Y-j, Reutter W, Fan H. [Activation of mouse macrophages by the alkali-extracted polysaccharide from spore of Ganoderma lucidum]. *Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi = Chinese journal of cellular and molecular immunology*. 2004; 20(2):142-144. Available from: PubMed.
62. Hsu HY, Hua KF, Lin CC, Lin CH, Hsu J, Wong CH. Extract of Reishi polysaccharides induces cytokine expression via TLR4-modulated protein kinase signaling pathways. *J Immunol*. 2004; 173(10):5989-99.
63. You YH, Lin ZB. Protective effects of Ganoderma lucidum polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species. *Acta Pharmacol Sin*. 2002; 23(9):787-91.
64. Yu-Li Lin, Shiu-Sheng Lee, Shin-Miao Hou, Chiang a-B-L. Polysaccharide Purified from Ganoderma lucidum Induces Gene Expression Changes in Human Dendritic Cells and Promotes T Helper 1 Immune Response in BALB/c Mice. *MOLECULAR PHARMACOLOGY*. 2006; Vol. 70, No. 2.
65. Zhan L, Tang J, Lin S, Xu Y, Xu Y, Qin C. Prophylactic Use of Ganoderma lucidum Extract May Inhibit Mycobacterium tuberculosis Replication in a New Mouse Model of Spontaneous Latent Tuberculosis Infection. *Frontiers in Microbiology*. 2015; 6:1490. Available from: PMC.
66. Yoshida H, Suzuki M, Sakaguchi R, Tani I, Kotani H, Shudo N, et al. Preferential induction of Th17 cells in vitro and in vivo by Fucogalactan from Ganoderma lucidum (Reishi). *Biochemical and biophysical research communications*. 2012; 422(1):174-180. Available from: PubMed.
67. Shephard RJ. Immune changes induced by exercise in an adverse environment. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1998 [cited 2017/05/15]; 76(5):539-546.
68. Levine BD, Stray-Gundersen J. "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol* (1985). 1997; 83(1):102-12.
69. Lin KI, Kao YY, Kuo HK, Yang WB, Chou A, Lin HH, et al. Reishi polysaccharides induce immunoglobulin production through the TLR4/TLR2-mediated induction of transcription factor Blimp-1. *J Biol Chem*. 2006; 281(34):24111-23.
70. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* [10.1038/nature04267]. 2005; 438(7066):364-368.
71. Byung-Mu Lee SK. *Lu's Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment*, . 2012.
72. Herman E, Knapton A, Zhang J, Estis J, Todd J, Lipshultz S. The utility of serum biomarkers to detect myocardial alterations induced by Imatinib in rats. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2014; 2(1):e00015. Available from: PMC.
73. Chen SN, Nan FH, Chen S, Wu JF, Lu CL, Soni MG. Safety assessment of mushroom beta-glucan: subchronic toxicity in rodents and mutagenicity studies. *Food Chem Toxicol*. 2011; 49(11):2890-8.

74. Delaney B, Carlson T, Zheng GH, Hess R, Knutson N, Frazer S, et al. Repeated dose oral toxicological evaluation of concentrated barley beta-glucan in CD-1 mice including a recovery phase. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association.* 2003; 41(8):1089-1102. Available from: PubMed.
75. Babicek K, Cechova I, Simon RR, Harwood M, Cox DJ. Toxicological assessment of a particulate yeast (1,3/1,6)-beta-D-glucan in rats. *Food Chem Toxicol.* 2007; 45(9):1719-30.

Uji toksisitas subkronik menggunakan hewan uji coba tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar* sejumlah 48 ekor. Terdiri dari 24 ekor jantan dan 24 ekor betina yang masing-masing dibagi menjadi 4 kelompok. Satu kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Total kelompok ada 8 dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Dosis PSP yang digunakan untuk Kelompok Perlakuan I = 300 mg/kgbb, Kelompok Perlakuan II = 600 mg/kgbb, Kelompok Perlakuan III = 1200 mg/kgbb. Setelah hewan uji diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya, selanjutnya dilakukan pengamatan atau pengukuran terhadap gejala-gejala toksik. Setelah paparan PSP selama 90 hari, setiap tikus dari masing-masing kelompok dikorbankan dan dibedah kemudian dilakukan pengambilan sampel darah dan organ-organ yang akan diteliti. Pengambilan sampel darah dilakukan untuk memeriksa kimia darah diantaranya profil lipid (LDL, HDL, trigliserida, dan total cholesterol). Selain itu dilakukan pengambilan organ vital untuk pemeriksaan gross organ diantaranya adalah organ aorta. Pada saat hewan uji diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya, dilakukan pengamatan atau pengukuran terhadap gejala-gejala toksik selama 90 hari.

5.1 Pengamatan Fisik (Klinis) Gejala-Gejala Toksik

Masa pengamatan dilakukan dilakukan selama 90 hari. Hal ini dilakukan mengingat sampai peringkat dosis tertinggi secara teknis dapat diberikan, larutan ekstrak murni *Ganoderma lucidum*(freeze dried) tidak menyebabkan kematian hewan uji. Pengamatan fisik terhadap gejala-gejala toksik, dilakukan sesering mungkin pada masa 24 jam pertama dan paling tidak sekali sehari pada masa pengamatan hari berikutnya (antara jam 09.00-12.00 WIB).

Jenis gejala – gejala toksik yang diamati meliputi gejala toksik yang terkait dengan pengaruh sediaan uji terhadap berbagai sistem organ. Setelah perlakuan terhadap tikus, tidak didapatkan kematian pada hewan coba selama 90 hari pengamatan, tidak didapatkan perilaku yang tidak normal pada hewan coba. Tidak didapatkan gangguan secara fisik pada tikus yang diberikan dosis PsP *Ganoderma lucidum*. Tidak didapatkan gejala-gejala tremor, hipersalivasi, laktrimasi, kejang, diare, letargi, lemas, koma, maupun stres berat. Penampilan fisik mencit secara keseluruhan baik dengan bulu rata, mata jernih, telinga dan ekor tidak luka.

Tabel. 3. Pengamatan Klinis Tikus Betina sampai pada Hari ke-90 setelah pemberian larutan Ekstrak *Ganoderma lucidum*

Kelompok	Perlakuan (mg/kgBB)	No Tikus	Temuan klinis toksik dan tikus mati; Hari Ke:							
			1	14	28	42	56	70	84	90
I	Air	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-
II	GL(300 mg/kgBB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-
III	GL(600 mg/kgBB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	GL(1200 mg/kgBB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :
 GL = Ekstrak murni *Ganoderma lucidum* (freeze dried)
 (-) = negatif / tidak ada

Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
Tabel 4. Pengamatan Klinis Tikus Jantan sampai pada Hari ke-90 setelah pemberian larutan Ekstrak *Ganoderma lucidum*
 Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya

Kelompok	Perlakuan (mg/kgBB)	No Tikus	Temuan klinis toksik dan tikus mati; Hari Ke:							
			1	14	28	42	56	70	84	90
I	Air	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-
II	GL(300 mg/kgBB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-
III	GL(600 mg/kgBB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-
IV	GL(1200 mg/kgBB)	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-
		3	-	-	-	-	-	-	-	-
		4	-	-	-	-	-	-	-	-
		5	-	-	-	-	-	-	-	-
		6	-	-	-	-	-	-	-	-

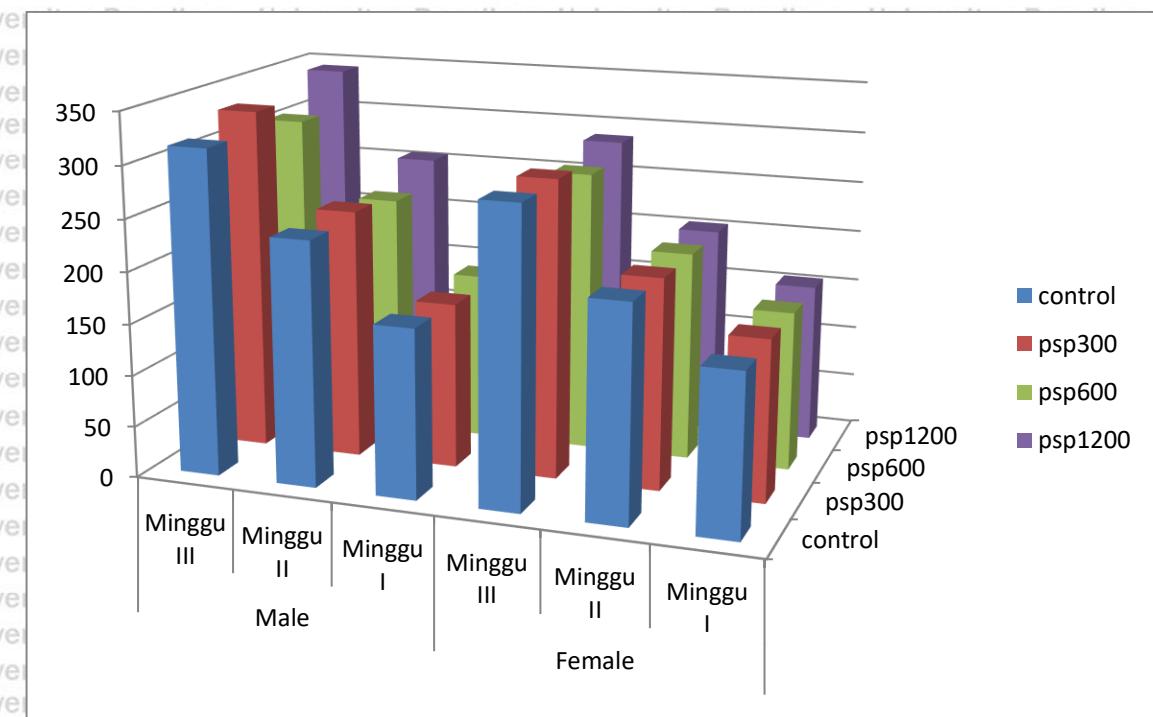
Keterangan :

GL = Ekstrak murni *Ganoderma lucidum* (freeze dried)

(-) = negatif / tidak ada

5.2 Berat Badan Tikus

Waktu pengukuran berat badan tikus dilakukan setiap 2 minggu. Hasil penelitian merupakan hasil rata-rata pengukuran berat badan tikus tiap kelompok. Berikut hasil pengukuran berat badan tikus sebelum pemberian PSP dan setelah pemberian PSP pada minggu ke-6, dan setelah pemberian PSP minggu ke-12.



Gambar 13. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus Minggu 0, 6 dan 12

Tabel 5. Rerata Berat Badan Tikus

Kelompok Jantan	Kontrol	PSP 300	PSP 600	PSP 1200
BB Awal	164.17	160.83	163.33	160.83
BB Minggu 2	175.50	177.50	185.00	181.67
BB Minggu 4	191.67	197.50	205.00	210.00
BB Minggu 6	237.17	242.50	233.00	255.83
BB Minggu 8	258.33	265.00	267.50	285.83
BB Minggu 10	292.50	299.17	295.00	317.50
BB Minggu 12	315.00	332.50	306.67	343.33
Kelompok Betina	Kontrol	PSP 300	PSP 600	PSP 1200
BB Awal	155.83	156.67	155.00	155.33
BB Minggu 2	163.50	168.67	165.00	164.17
BB Minggu 4	185.67	181.50	180.17	179.17
BB Minggu 6	207.33	204.17	203.50	203.50
BB Minggu 8	237.67	231.67	234.33	230.00
BB Minggu 10	265.83	261.67	266.67	263.33
BB Minggu 12	286.67	288.33	273.33	287.17

5.3 Patologi Organ

Semua hewan uji yang masih hidup, pada akhir hari ke 90 masa uji diberikan dengan cara dekapitasi tulang leher dengan pembiusan sebelumnya. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan gros patologi (makroskopi) adanya kelainan organ dan jaringan yang ada dalam rongga sefalik, torak dan abdomen. Selanjutnya organ aorta tikus pada masing-masing kelompok dipersiapkan untuk dibuat preparat histopatologi mengikuti metode pengecatan hematoksisilin-eosin.

5.3.1 Gross Organ

Sampai dengan hari ke-90 setelah pemberian ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried) dosis 300mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB pada tikus jantan dan betina, tidak teramati adanya gejala toksik yang berarti (terdapat pada tabel). Dari hasil pengamatan gross organ setelah tikus dilakukan pengorbanan pada hari ke 90, didapatkan organ aorta dalam keadaan baik.



A



B

Gambar 14 . Gambaran gross organ aorta betina kontrol A, Gambaran gross organ aorta betina perlakuan B



A



B

Gambar 15. Gambaran gross organ aorta jantan kontrol A, Gambaran gross organ aorta jantan perlakuan B

Kelompok	Perlakuan (mg/kgBB)	Nomor Tikus	Normal	Hipertropi	Hipotropi
I	Air	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-
II	GL (300 mg/kgBB)	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-
III	GL (600 mg/kgBB)	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-
IV	GL (1200 mg/kgBB)	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-

Keterangan :

GL = Ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried)

(N) = Normal

Tabel 7. Pengamatan temuan gross organ aorta Jantan pada hari ke 90

Kelompok	Perlakuan (mg/kgBB)	Nomor Tikus	Normal	Hipertropi	Hipotropi
I	Air	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-
II	GL (300 mg/kgBB)	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-
III	GL (600 mg/kgBB)	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-
IV	GL (1200 mg/kgBB)	1	N	-	-
		2	N	-	-
		3	N	-	-
		4	N	-	-
		5	N	-	-
		6	N	-	-

Keterangan :
GL = Ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried)
(N) = Normal

5.3.2 Pemeriksaan Histopatologi Organ Aorta

Organ aorta yang telah dibuat slide histopatologi dilakukan pemeriksaan dengan menggunakan Dot Scan dari hasil pemeriksaan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Dengan menggunakan program pembaca dot scan yaitu OlyVia™ dilakukan pembacaan dengan cara pembacaan masing-masing slide dibaca dari 10 Lapang pandang secara sistematis mengikuti metode zigzag.

Parameter yang diukur dalam uji toksitas subkronik ini adalah perubahan histopatologi anatomi organ aorta Rattus Novergicus Strain Wistar, yang diklasifikasikan sesuai dengan pengelompokan gambaran histopatologi oleh Biswas et.al, seperti tercantum pada tabel 10 dan 11.

Hasil pemeriksaan patologi terhadap organ-organ penting tikus jantan

maupun betina setelah pemberian ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried) sampai dengan dosis 1200 mg/kgBB tidak didapatkan perubahan yang berarti. Temuan ini didukung dengan hasil pemeriksaan histopatologi terhadap sel-sel organ penting yang tidak menunjukkan adanya perubahan morfologi dan gambaran histopatologi. Temuan di atas menunjukkan bahwa sampai dengan dosis 1200 mg/kgBB larutan ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried) tidak menunjukkan spectrum efek toksik khas yang berarti.

Tabel 8. Pengamatan Histopatologi Organ aorta Betina setelah Pemberian larutan Ekstrak *Ganoderma lucidum* selama 90 hari

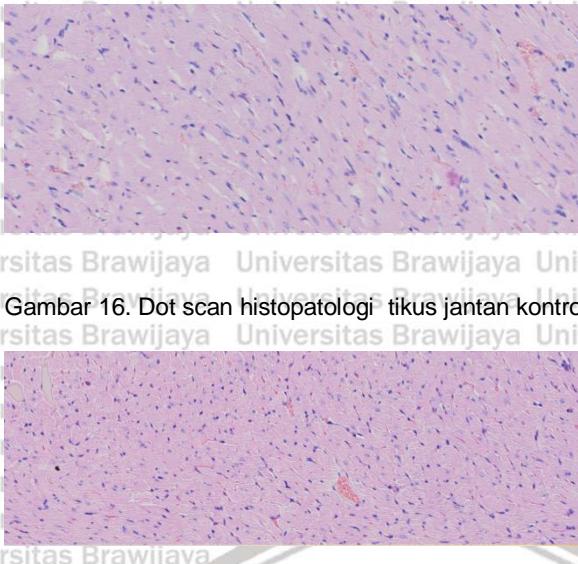
Histopathological Changes	Rat number	Control group	GL group (300 mg/hr)	GL group (600 mg/hr)	GL group (1200 mg/hr)
Vasculitis	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-
Focal hemorrhage	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-

Keterangan: GL = *Ganoderma lucidum* (freeze dried) pure extract
 (+) = ditemukan
 (-) = tidak ditemukan

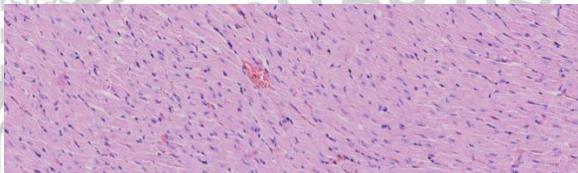
Tabel 9. Pengamatan Histopatologi Organ Jantung jantan setelah Pemberian larutan Ekstrak *Ganoderma lucidum* selama 90 hari

Histopathological changes	Number	Control group	GL group (300 mg/hr)	GL group (600 mg/hr)	GL group (1200 mg/hr)
vasculitis	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-
Focal hemorrhage	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
	4	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	6	-	-	-	-

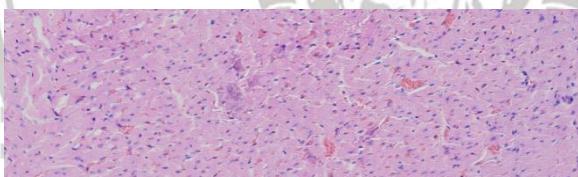
Keterangan: GL = *Ganoderma lucidum* (freeze dried) pure extract
 (+) = ditemukan
 (-) = tidak ditemukan



Gambar 16. Dot scan histopatologi tikus jantan kontrol.



A. B. Histopatologi tikus jantan organ aorta tikus jantan kelompok perlakuan 300 mg psp tidak ditemukan gambaran vasculitis dan focal hemorrhage

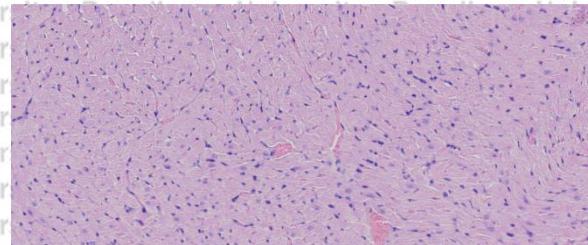


B. Histopatologi tikus jantan organ aorta tikus jantan kelompok perlakuan 600 mg psp tidak ditemukan gambaran vasculitis dan focal hemorrhage

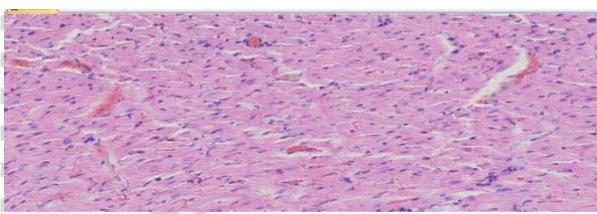


C. Histopatologi tikus jantan organ aorta tikus jantan kelompok perlakuan 1200 mg psp tidak ditemukan gambaran vasculitis dan focal hemorrhage

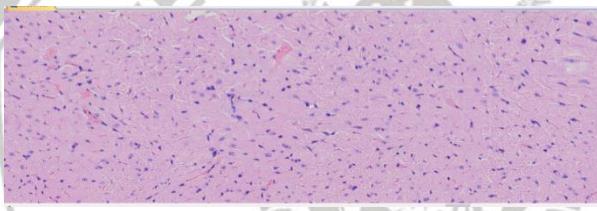
Gambar 17. Histopatologi tikus jantan, perlakuan A: 300 mg psp. B: 600mg psp C: 1200mg psp.



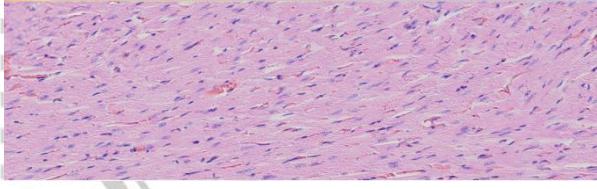
Gambar 18. Dot scan histopatologi organ aorta tikus betina kelompok kontrol.



- A. Histopatologi tikus betina organ aorta tikus betina kelompok perlakuan 300 mg psp tidak ditemukan gambaran vasculitis dan focal hemorrhage



- B. Histopatologi tikus betina organ aorta tikus betina kelompok perlakuan 600 mg psp tidak ditemukan gambaran vasculitis dan focal hemorrhage



- C. Histopatologi tikus betina organ aorta tikus betina kelompok perlakuan 1200 mg psp tidak ditemukan gambaran vasculitis dan focal hemorrhage

Gambar 19. . Histopatologi tikus betina, perlakuan A: 300 mg psp. B: 600mg psp C: 1200mg psp.

BAB VI

PEMBAHASAN

Jamur yang berkhasiat obat telah lama digunakan selama berabad-abad sebagai obat untuk meningkatkan kesehatan dan untuk mengobati berbagai penyakit kronis dan menular. Salah satunya adalah jamur *Ganoderma lucidum*, umumnya dikenal sebagai *Lingzhi*, suatu spesies jamur yang dikenal sebagai jamur yang berkhasiat obat untuk mengobati berbagai macam penyakit dan memperpanjang usia. Saat ini popularitas *Lingzhi* telah meningkat di seluruh dunia, dengan skala industri multi-miliar dolar dimana *Lingzhi* dibudidayakan atau dikumpulkan dari alam liar dan dikonsumsi sebagai teh, minuman beralkohol, dengan tujuan untuk memberikan manfaat kesehatan. Konsumsi *nutraceutical* berkembang pesat, dan menjadi kebutuhan penting bahwa bahan aktif yang terkandung haruslah dapat diidentifikasi, dan bahwa klaim tentang manfaat kesehatan serta keamanan produk yang dipasok dari produsen haruslah dapat dibuktikan.⁹

Obat-obatan herbal secara luas dirasakan oleh masyarakat sebagai zat alami, sehat dan bebas dari efek samping. Kebanyakan orang percaya bahwa obat-obatan herbal memiliki efek samping atau potensi risiko karena asal-usul mereka dari alam dan sering dianggap hanya sebagai suplemen makanan dan bukan merupakan suatu obat-obatan. Jamu-jamuannya biasanya diresepkan sendiri oleh konsumen dan ada kalanya menjadikan kurang kontrol didalam dosis, cara, dan frekuensi minumannya. Bahan kimia yang terkandung dalam obat herbal adalah merupakan suatu zat alami didalam tanaman, tetapi mungkin zat tersebut menjadi tidak alami untuk tubuh manusia.(Arsad, Esa et al. 2014)

Tahun pertama penelitian ini berhasil membuktikan kemampuan peptida polisakarida dalam menurunkan secara signifikan kadar MDA, hs-CRP, H₂O₂, total colesterol dan foam cell serta meningkatkan kadar HDL pada hewan coba *Rattus novergicus strain wistar* yang diberikan diet tinggi lemak. Peptida polisakarida juga menurunkan kadar LDL, trigliserida, TNF α dan IL-6. PSP memiliki kandungan bioaktif β -D-glucan sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang efektif dalam menurunkan proses inflamasi kronis dan stres oksidatif yang terjadi pada patogenesis penyakit kardiovaskuler. Berdasarkan hasil pada tahun pertama tersebut, maka pada tahun kedua penelitian ini bertujuan untuk menguji toksitas baik akut maupun subkronis peptida polisakarida.

Dalam penelitian ini, evaluasi pengaruh pemberian ekstrak *Ganoderma lucidum* (freeze dried) dosis 300mg/kgBB, 600 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB pada tikus jantan dan betina selama 90 hari pada organ aorta *Rattus novergicus strain wistar*, mengindikasikan tidak didapatkan spektrum efek yang khas.

Pada pengamatan klinis tikus kelompok kontrol diberikan diet standar dan minum air murni. Dibandingkan dengan kelompok perlakuan satu yang diberikan diet standar minum air murni serta pemberian ekstrak *Ganoderma lucidum* dosis 300mg, kelompok perlakuan dua yang diberikan diet standar minum air murni serta pemberian ekstrak *Ganoderma lucidum* dosis 600mg dan kelompok perlakuan tiga yang diberikan diet standar minum air murni serta pemberian ekstrak *Ganoderma lucidum* dosis 1200mg. Secara klinis tidak didapatkan perbedaan berarti, tikus terlihat aktif tumbuh dan bertambah besar sampai pengamatan hari ke 90.

Sedang pada pengamatan histopatologi, hasil pemeriksaan patologi terhadap organ-organ aorta tikus jantan maupun betina setelah pemberian ekstrak murni *Ganoderma lucidum* (freeze dried) sampai dengan dosis 1200 mg/kgbb tidak

didapatkan perubahan yang berarti. Temuan ini didukung dengan hasil pemeriksaan histopatologi terhadap sel-sel organ penting yang tidak menunjukkan adanya perubahan morfologi dan gambaran histopatologi. Temuan di atas menunjukkan bahwa sampai dengan dosis 1200 mg/kgBB larutan ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried) tidak menunjukkan spectrum efek toksik khas.

Temuan dalam studi ini dapat dibandingkan dengan hasil penelitian oleh Chen, et al. yang menggunakan jamur β -glucan (gavage) pada dosis 0, 500, 1000 dan 2000 mg/kgBB yang diberikan pada Sprague Dawley rats selama 90 hari, dimana hasilnya tidak didapatkan toksitas yang signifikan terkait perubahan pada observasi klinik, pemeriksaan ophtalmik, berat badan, konsumsi makanan dan perubahan berat organ. Serta tidak didapatkan efek samping β -glukan pada sistem hematologi, parameter kimia klinik, urinalisis, gross organ maupun histopatologi.(Chen, Nan et al. 2011)

Temuan yang serupa didapatkan dari Babicek, et.al. Penelitian ini menyelidiki toksitas WGP® 3-6, suatu bahan ragi yang didapatkan dari β -Glukan, studi toksitas dosis tunggal akut dan sub kronis pada tikus. Monitoring studi penuh toksikologi dan investigasi endpoint dilakukan selama dan setelah studi selesai. Dari studi tersebut tidak didapatkan efek negatif pada berat hewan coba maupun konsumsi makanan yang disebabkan oleh WGP® 3-6 pada setiap dosis yang diberikan. Selain itu, didalam penelitian tersebut tidak didapatkan kematian hewan coba, Patologi klinik, fungsional/perilaku, pengamatan mikroskopis maupun gross organ yang menunjukkan adanya suatu toksitas yang teramat.(Babicek, Cechova et al. 2007)

Suatu studi preklinik membuktikan bahwa Ganoderma lucidum memiliki aktivitas antitumor yang potensial. Studi klinis akhir-akhir ini membuktikan bahwa

polisakarida G. lucidum meningkatkan fungsi imun inang (meningkatkan aktivitas sel natural killer (NK)) pada pasien dengan tumor solid stadium lanjut, meskipun suatu respon obyektif tidak diobservasi(Gao, Tang et al. 2005)

Berdasarkan pada hasil histopatologi jaringan aorta, peranan β -glukan nampaknya mungkin memiliki suatu peranan protektif. Triterpenoid yang disebut dengan Ganoderic Acid di dalam Ganoderma Lucidum bermanfaat untuk memperbaiki sistem sirkulasi darah. Ganoderma lucidum bila dikonsumsi secara teratur dapat mencegah terjadinya perlekatan platelet (Trombosit), mengurangi pembentukan cholesterol jahat (LDL) & Trigliserida, serta menurunkan tekanan darah. E Aarsæther et.al telah meneliti efek kardioprotektif pretreatment menggunakan β -1,3/1,6-glucan pada CABG, disebutkan bahwa pretreatment menggunakan β -1,3/1,6-glucan aman pada pasien yang menjalani CABG dan dapat melindungi terhadap iskemia reperfusi cedera setelah CABG(Aarsæther, Rydningen et al. 2006)

Studi yang dilakukan oleh Hamzah et al tentang toksitas subkronik campuran Ganoderma lucidum dengan mycelium (ratio 220:450) pada tikus albino wistar setelah 90hari perlakuan,didapatkan bahwa tidak ada efek toksik pada hepar (subvariable: skor perubahan histologikal hepar, SGPT,SGOT), pada ginjal (subvariable: skor perubahan histopalogikal ginjal, serum kreatinin), gula darah, kolesterol, kolesterol LDL, hemoglobin, jumlah eritrosit, jumlah leukosit, perbedaan jumlah eosinofil, basofil, badan neutrofil, segmen neutrofil, limfosit dan monosit: skor perubahan histopatologikal limpa, skor perubahan histopatologikal jantung, dan kenaikan berat badan. Serta perubahan histopatologikal aorta (Hamzah, Endang Isbandiati et al. 2000).

Dari hasil pengamatan histopatologi, terhadap organ aorta tikus jantan maupun betina setelah pemberian ekstrak murni Ganoderma lucidum (freeze dried) sampai dengan dosis 1200 mg/kgbb tidak didapatkan perubahan dalam sel-sel organ aorta, dengan tidak didapatkan adanya gambaran vasculitis dan focal hemorrhage yang ditemukan dengan pemeriksaan DOT scan .
Dengan tingginya tingkat stres oksidan dalam darah yang memasuki sirkulasi akan memiliki konsekuensi paling buruk pada segmen paling proksimal dari aliran sistemik. Terutama, lesi aterosklerotik diketahui lebih banyak terletak di dalam arteri sistemik proksimal, seperti aorta dan arteri koroner. Namun, pada penelitian ini tidak ditemukan adanya perubahan pada organ yang diteliti dalam hal ini organ aorta dengan tidak ditemukannya perubahan pada gambaran selnya, tidak ditemukannya gambaran vasculitis dan focal hemorrhage.(Malik AR. Biomedical 2016).

Potensi imunomodulasi β -glukan telah dikaitkan dengan kemampuan mengaktifkan leukosit. Beberapa reseptor, yang diekspresikan baik oleh sel kekebalan dan non-imun, telah terlibat dalam pengenalan β -glucans, termasuk reseptor pelengkap tipe 3, laktocylceramide dan dectin-1. Beberapa laporan menunjukkan bahwa β -glukan oral tidak dapat memberikan efek biologis. (Hamzah, Endang Isbandiati et al. 2000).

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian peroral peptida polisakarida (*Ganoderma lucidum*) pada *Rattus norvegicus* strain Wistar sampai dosis 1200mg/kgbb/hari tidak didapatkan tanda-tanda toksitas pada organ aorta.

7.2 Saran

Mengingat potensi dan manfaat yang besar pada pengembangan Peptida Polisakarida (*Ganoderma Lucidum*) dan penggunaan secara subkronik PSP *Ganoderma lucidum* sampai dosis tertinggi 1.200 mg/kgbb/hari tidak didapatkan tanda-tanda toksitas pada organ aorta *Rattus novergicus* strain Wistar, maka perlu ditindaklanjuti dengan penelitian berikutnya yang melibatkan subyek manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Szmithko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. Circulation. 2003; 108(16):1917-23.
2. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. N Engl J Med. 1999; 340(2):115-26.
3. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. Circulation. 2002; 105(9):1135-1143.
4. Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. Circulation. 2004; 109(23 suppl 1):III-20-III-26.
5. Mann DL, Zipes DP, Libby P, Bonow RO. *Braunwald's Heart Disease* E-Book: A Textbook of Cardiovascular Medicine. Elsevier Health Sciences; 2005.
6. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. Nature [10.1038/nature01323]. 2002; 420(6917):868-874.
7. Szmithko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. Circulation. 2003; 108(17):2041-8.
8. Wang J-F, Guo Y-X, Niu J-Z, Liu J, Wang L-Q, Li P-H. Effects of Radix Puerariae flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2004; 10(13):1967-1970.

Available from: PMC.

9. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: Signaling for suicide and survival*. *Journal of Cellular Physiology*. 2002; 192(1):1-15.
10. Libby P. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *The American journal of clinical nutrition*. 2006; 83(2):456S-460S.
11. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Jr., Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb*. 1993; 13(2):197-204.
12. Rajavashist TB, Andalibi A, Territo MC, Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, et al. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. *Nature* [10.1038/344254a0]. 1990; 344(6263):254-257.
13. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, et al. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *Journal of Clinical Investigation*. 1995; 96(6):2882-2891.
- Available from: PMC.
14. Boulanger CM, Tanner FC, Béa ML, Hahn AW, Werner A, Lüscher TF. Oxidized low density lipoproteins induce mRNA expression and release of endothelin from human and porcine endothelium. *Circulation Research*. 1992; 70(6):1191-1197.

15. Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, Santanam N. Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.). 2010; 610:403-417. Available from: PMC.
16. Lamon-Fava S, Marcovina SM, Albers JJ, Kennedy H, DeLuca C, White CC, et al. Lipoprotein(a) levels, apo(a) isoform size, and coronary heart disease risk in the Framingham Offspring Study. *Journal of Lipid Research*. 2011; 52(6):1181-1187. Available from: PMC.
17. Nicholls SJ, Tang WHW, Scoffone H, Brennan DM, Hartiala J, Allayee H, et al. Lipoprotein(a) levels and long-term cardiovascular risk in the contemporary era of statin therapy. *Journal of Lipid Research*. 2010; 51(10):3055-3061. Available from: PMC.
18. Cai A, Li L, Zhang Y, Mo Y, Mai W, Zhou Y. Lipoprotein(a): A Promising Marker for Residual Cardiovascular Risk Assessment. *Disease Markers*. 2013; 35(5):9.
19. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*. 2005; 352(16):1685-1695.
20. Aronow WS. Osteoporosis, osteopenia, and atherosclerotic vascular disease. *Archives of Medical Science : AMS*. 2011; 7(1):21-26. Available from: PMC.
21. Vanhoutte PM, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension. *British Journal of Pharmacology*. 2005; 144(4):449-458. Available from: PMC.

22. Malik AR. Association of increased lipid peroxide levels in the aorta in comparison to the pulmonary artery with the presence of coronary artery disease. *Biomedical Reports*. 2016; 4(4):479-484. Available from: PMC.
23. Upchurch GR, Jr., Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Jr., et al. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem*. 1997; 272(27):17012-7.
24. Bonaventura A, Mach F, Roth A, Lenglet S, Burger F, Brandt KJ, et al. Intraplaque Expression of C-Reactive Protein Predicts Cardiovascular Events in Patients with Severe Atherosclerotic Carotid Artery Stenosis. *Mediators of Inflammation*. 2016; 2016:9153673. Available from: PMC.
25. Lilly LS, School HM. Pathophysiology of Heart Disease: A Collaborative Project of Medical Students and Faculty. Lippincott Williams and Wilkins; 2015.
26. Liu Y, Li X, Peng D, Tan Z, Liu H, Qing Y, et al. Usefulness of Serum Cathepsin L as an Independent Biomarker in Patients With Coronary Heart Disease. *The American journal of cardiology*. 2009; 103(4):476-481. Available from: PMC.
27. Tanaskovic S, Isenovic ER, Radak D. Inflammation as a Marker for the Prediction of Internal Carotid Artery Restenosis Following Eversion Endarterectomy—Evidence From Clinical Studies. *Angiology*. 2011 [cited 2017/05/09]; 62(7):535-542.

28. Zheng L-H, Sun W, Yao Y, Hou B-B, Qiao Y, Zhang S. Associations of big endothelin-1 and C-reactive protein in atrial fibrillation. *Journal of Geriatric Cardiology : JGC*. 2016; 13(5):465-470. Available from: PMC.
29. Wang J, Boerma M, Fu Q, Hauer-Jensen M. Significance of endothelial dysfunction in the pathogenesis of early and delayed radiation enteropathy. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2007; 13(22):3047-3055. Available from: PMC.
30. FrostegÅrd J. SLE, atherosclerosis and cardiovascular disease. *Journal of Internal Medicine*. 2005; 257(6):485-495.
31. Pawlinski R, Pedersen B, Schabbauer G, Tencati M, Holscher T, Boisvert W, et al. Role of tissue factor and protease-activated receptors in a mouse model of endotoxemia. *Blood*. 2004; 103(4):1342-1347. Available from: PMC.
32. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002; 90(3):251-62.
33. Villares A, Mateo-Vivaracho L, Guillamón E. Structural Features and Healthy Properties of Polysaccharides Occurring in Mushrooms. *Agriculture*. 2012; 2(4).
34. Ajith T, K. Janardhanan K. Indian Medicinal Mushrooms as a Source of Antioxidant and Antitumor Agents. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2007; 40(3):157-162. Available from: PMC.
35. Brower V. Nutraceuticals: poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nat Biotechnol*. 1998; 16(8):728-31.

36. Ganguly NK, Bhattacharya SK, Sesikeran B, Nair GB, Ramakrishna BS, Sachdev HPS, et al. ICMR-DBT Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food. *The Indian Journal of Medical Research.* 2011; 134(1):22-25. Available from: PMC.
37. Kang C, Wen T-C, Kang J-C, Meng Z-B, Li G-R, Hyde KD. Optimization of Large-Scale Culture Conditions for the Production of Cordycepin with Cordyceps militaris by Liquid Static Culture. *The Scientific World Journal.* 2014; 2014:510627. Available from: PMC.
38. Raskin I. Salicylate, A New Plant Hormone. *Plant Physiology.* 1992; 99(3):799-803. Available from: PMC.
39. Sławińska A, Radzki W, Kalbarczyk J. Herba Polonica [In: Antioxidant activities and polyphenolics content of Flammulina velutipes mushroom extracts. Issue 3, 2013]
40. Wasser SP. Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011; 89(5):1323-32.
41. Papadopoulos I, Guo F, Lees S, Ridge M. An exploration of the meanings and experiences of cancer of Chinese people living and working in London. *European Journal of Cancer Care.* 2007; 16(5):424-432.
42. Paterson IR. Ganoderma - a therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry.* 2006; 67(18):1985-2001.
43. Nishitoba T, Sato H, Sakamura S. Novel Mycelial Components, Ganoderic Acid Mg, Mh, Mi, Mj and Mk, from the Fungus Ganoderma lucidum. *Agricultural and Biological Chemistry.* 1987; 51(4):1149-1153.

44. Zhao S, Ye G, Fu G, Cheng JX, Yang BB, Peng C. Ganoderma lucidum exerts anti-tumor effects on ovarian cancer cells and enhances their sensitivity to cisplatin. *Int J Oncol.* 2011; 38(5):1319-27.
45. Yang S. *The Divine Farmer's Materia Medica: A Translation of the Shen Nong Ben Cao Jing.* Blue Poppy Press; 1998.
46. Zhou L-W, Cao Y, Wu S-H, Vlasák J, Li D-W, Li M-J, et al. Global diversity of the *Ganoderma lucidum* complex (Ganodermataceae, Polyporales) inferred from morphology and multilocus phylogeny. *Phytochemistry.* 2015; 114:7-15. Available from: PubMed.
47. Cao Y, Wu S-H, Dai Y-C. Species clarification of the prize medicinal *Ganoderma* mushroom "Lingzhi". *Fungal Diversity [journal article].* 2012; 56(1):49-62.
48. Jean-Marc Moncalvo, Hwei-Fang Wang, Rvey-Shyang Hsev. Gene phylogeny of the *Ganoderma lucidum* complex based on ribosomal DNA sequences. Comparison with traditional taxonomic characters. *Mycol. Res.* 1994; 99(12):1489-1499.
49. Feng X, Kong W, Wei J, Ou-Yang Z, Yang M. HPLC fingerprint analysis combined with chemometrics for pattern recognitions of ginger. *Pharm Biol.* 2014; 52(3):362-7.
50. Zhou Y, Yang X, Yang Q. Recent Advances on Triterpenes from *Ganoderma* Mushroom. *Food Reviews International.* 2006; 22(3):259-273.
51. Sanodiya BS, Thakur GS, Baghel RK, Prasad GB, Bisen PS. *Ganoderma lucidum:* a potent pharmacological macrofungus. *Curr Pharm Biotechnol.* 2009; 10(8):717-42.

52. Chan WK, Law HKW, Lin Z-B, Lau YL, Chan GC-F. Response of human dendritic cells to different immunomodulatory polysaccharides derived from mushroom and barley. *International Immunology*. 2007; 19(7):891-899.
53. Ferreira IC, Vaz JA, Vasconcelos MH, Martins A. Compounds from wild mushrooms with antitumor potential. *Anticancer Agents Med Chem*. 2010; 10(5):424-36.
54. Hsien-Yeh Hsu, Yen-Chou Kuan, Tung-Yi Lin, Shu-Ming Tsao, Jason Hsu, Li-Juan Ma, et al. Reishi Protein LZ-8 Induces FOXP3+ Treg Expansion via a CD45-Dependent Signaling Pathway and Alleviates Acute Intestinal Inflammation in Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013; Volume 2013 (2013), Article ID 513542, :1-11.
55. Wong KL, Wong RNS, Zhang L, Liu WK, Ng TB, Shaw PC, et al. Bioactive proteins and peptides isolated from Chinese medicines with pharmaceutical potential. *Chinese Medicine*. 2014; 9:19-19. Available from: PMC.
56. Al-Mehdi AB, Tozawa K, Fisher AB, Shientag L, Lee A, Muschel RJ. Intravascular origin of metastasis from the proliferation of endothelium-attached tumor cells: a new model for metastasis. *Nat Med*. 2000; 6(1):100-2.
57. Hellstrand K, Hermodsson S. Interleukin-2 can induce suppression of human natural killer cell cytotoxicity. *Clinical and Experimental Immunology*. 1989; 77(3):410-416. Available from: PMC.

58. Zheng S, Jia Y, Zhao JUN, Wei QUN, Liu Y. Ganoderma lucidum polysaccharides eradicates the blocking effect of fibrinogen on NK cytotoxicity against melanoma cells. *Oncology Letters*. 2012; 3(3):613-616. Available from: PMC.
59. Berovic M, Habijanic J, Zore I, Wraber B, Hodzar D, Boh B, et al. Submerged cultivation of Ganoderma lucidum biomass and immunostimulatory effects of fungal polysaccharides. *J Biotechnol*. 2003; 103(1):77-86.
60. Batbayar S, Kim MJ, Kim HW. Medicinal mushroom Lingzhi or Reishi, Ganoderma lucidum (W.Curt.:Fr.) P. Karst., beta-glucan induces Toll-like receptors and fails to induce inflammatory cytokines in NF-kappaB inhibitor-treated macrophages. *Int J Med Mushrooms*. 2011; 13(3):213-25.
61. Tang Q-j, Zhang J-s, Pan Y-j, Reutter W, Fan H. [Activation of mouse macrophages by the alkali-extracted polysaccharide from spore of Ganoderma lucidum]. Xi bao yu fen zi mian yi xue za zhi = Chinese journal of cellular and molecular immunology. 2004; 20(2):142-144. Available from: PubMed.
62. Hsu HY, Hua KF, Lin CC, Lin CH, Hsu J, Wong CH. Extract of Reishiya polysaccharides induces cytokine expression via TLR4-modulated protein kinase signaling pathways. *J Immunol*. 2004; 173(10):5989-99.
63. You YH, Lin ZB. Protective effects of Ganoderma lucidum polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species. *Acta Pharmacol Sin*. 2002; 23(9):787-91.

64. Yu-Li Lin, Shiu-Sheng Lee, Shin-Miao Hou, Chiang ab-L. Polysaccharide Purified from Ganoderma lucidum Induces Gene Expression Changes in Human Dendritic Cells and Promotes T Helper 1 Immune Response in BALB/c Mice. *MOLECULAR PHARMACOLOGY*. 2006; Vol. 70, No. 2.
65. Zhan L, Tang J, Lin S, Xu Y, Xu Y, Qin C. Prophylactic Use of Ganoderma lucidum Extract May Inhibit Mycobacterium tuberculosis Replication in a New Mouse Model of Spontaneous Latent Tuberculosis Infection. *Frontiers in Microbiology*. 2015; 6:1490. Available from: PMC.
66. Yoshida H, Suzuki M, Sakaguchi R, Tani I, Kotani H, Shudo N, et al. Preferential induction of Th17 cells in vitro and in vivo by Fucogalactan from Ganoderma lucidum (Reishi). *Biochemical and biophysical research communications*. 2012; 422(1):174-180. Available from: PubMed.
67. Shephard RJ. Immune changes induced by exercise in an adverse environment. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 1998 [cited 2017/05/15]; 76(5):539-546.
68. Levine BD, Stray-Gundersen J. "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol (1985)*. 1997; 83(1):102-12.
69. Lin KI, Kao YY, Kuo HK, Yang WB, Chou A, Lin HH, et al. Reishiya polysaccharides induce immunoglobulin production through the TLR4/TLR2-mediated induction of transcription factor Blimp-1. *J Biol Chem*. 2006; 281(34):24111-23.

70. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* [10.1038/nature04267]. 2005; 438(7066):364-368.
71. Byung-Mu Lee SK. Lu's Basic Toxicology: Fundamentals, Target Organs, and Risk Assessment, . 2012.
72. Herman E, Knapton A, Zhang J, Estis J, Todd J, Lipshultz S. The utility of serum biomarkers to detect myocardial alterations induced by Imatinib in rats. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2014; 2(1):e00015. Available from: PMC.
73. Chen SN, Nan FH, Chen S, Wu JF, Lu CL, Soni MG. Safety assessment of mushroom beta-glucan: subchronic toxicity in rodents and mutagenicity studies. *Food Chem Toxicol*. 2011; 49(11):2890-8.
74. Delaney B, Carlson T, Zheng GH, Hess R, Knutson N, Frazer S, et al. Repeated dose oral toxicological evaluation of concentrated barley beta-glucan in CD-1 mice including a recovery phase. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. 2003; 41(8):1089-1102. Available from: PubMed.
75. Babicek K, Cechova I, Simon RR, Harwood M, Cox DJ. Toxicological assessment of a particulate yeast (1,3/1,6)-beta-D-glucan in rats. *Food Chem Toxicol*. 2007; 45(9):1719-30.
76. Arsal S, Esa N, Hamzah H. Histopathologic Changes in Liver and Kidney Tissues from Male Sprague Dawley Rats Treated with Rhaphidophora Decursiva (Roxb.) Schott Extract. *J Cytol Histol* S. 2014; 4: 81.

77. Gao Y, Tang W, Dai X, Gao H, Chen G, Ye J, et al. Effects of water-soluble Ganoderma lucidum polysaccharides on the immune functions of patients with advanced lung cancer. *J Med Food.* 2005; 8(2):159-68.
78. Aarsæther E, Rydningen M, Einar Engstad R, Busund R. Cardioprotective effect of pretreatment with β -glucan in coronary artery bypass grafting. *Scandinavian Cardiovascular Journal.* 2006; 40(5):298-304.
79. Hamzah, Endang Isbandiati, Dripa Sjabana, Widayat Sastrowardoyo, Sri Agus Soedjarwo, Rahardjo, et al. Subchronic Toxicity Studies of A Mixture of Ganoderma Lucidum Fruit Body and Mycelium Powder on Wistar Albino Rats. *Folia Medica Indonesiana.* 2000; XXXVI(January - March):34-37.
80. Watts R et al; Rheumatology Volume 53, Issue suppl 1Pp. i187, 2016.
81. Yates M, Graham K, Watts RA, et al; The prevalence of giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica in a UK primary care population. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016 Jul 15;17:285. doi: 10.1186/s12891-016-1127-3.
82. Cutaneous Vasculitis; National Association for Rare Diseases, 2005.
83. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, et al; 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013 Jan;65(1):1-11. doi: 10.1002/art.37715.
84. McKinney EF, Willcocks LC, Broecker V, et al; The immunopathology of ANCA-associated vasculitis. *Semin Immunopathol.* 2014 Jul;36(4):461-78. doi: 10.1007/s00281-014-0436-6. Epub 2014 Jul 24.

85. Kluger N, Frances C; Cutaneous vasculitis and their differential diagnoses. *Clin Exp Rheumatol*. 2009 Jan-Feb;27(1 Suppl 52):S124-38.
86. EULAR/ERA-EDTA recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis; European League Against Rheumatism (2016)
87. Miller A, Chan M, Wiik A, et al; An approach to the diagnosis and management of systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol*. 2010 May;160(2):143-60. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.04078.x. Epub 2010 Jan 12.
88. Chen KR, Carlson JA; Clinical approach to cutaneous vasculitis. *Am J Clin Dermatol*. 2008;9(2):71-92.

