

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada pasien DM tipe 2 terjadi resistensi insulin sehingga menyebabkan hiperglikemia. Kadar glukosa yang tinggi di dalam darah atau hiperglikemia akan memicu stres oksidatif dan kerusakan vascular. Stres oksidatif dapat menyebabkan disfungsi endotel dengan menurunkan bioavailabilitas NO. Penurunan kadar NO menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah terus menerus dan endotel menjadi lebih proaterogenik dan proinflamasi. Sejalan dengan proses aterosklerosis, pada arteri besar di mana nutrisi dan oksigen didapatkan dari vasa vasorum, berkurangnya aliran darah dalam tubuh ini akhirnya menghasilkan keadaan di mana konsentrasi oksigen menurun atau disebut dengan hipoksia jaringan, di mana vasa vasorum akan mengalami ruptur. Akhirnya sel merespon terhadap hipoksia jaringan dengan pembentukan ekspresi protein HIF atau *Hypoxia Inducible Factor*. Kondisi hipoksia akan menimbulkan neovaskularisasi atau pembentukan pembuluh darah baru yang tidak terkontrol sehingga menghasilkan vasa vasorum yang immature dan rapuh.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dampak dari pemberian PSP dengan dosis tertentu, yaitu 50mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB. Berikut adalah pembahasan dari hasil penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui efek pemberian PSP terhadap jumlah vasa vasorum pada tikus *Rattus Norvegicus* model Diabetes Mellitus tipe 2.

6.1. Jumlah Vasa Vasorum pada Tikus

Berikuti ini akan disajikan pembahasan yang terdiri dari jumlah vasa vasorum pada tikus kelompok normal dengan pemberian dosis yang berbeda-beda tiap kelompok yaitu 50mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB.

6.1.1. Jumlah Vasa Vasorum pada tikus Kelompok Normal

Aterosklerosis merupakan suatu mekanisme yang kompleks antara serum kolesterol dengan komponen selular pada dinding arteri. Konsentrasi serum yang tinggi kolesterol, tinggi trigliserida, tinggi LDL sebagai kontribusi utama aterogenesis melalui produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang berlebihan. ROS merubah LDL menjadi ox-LDL yang kemudian akan difagosit oleh makrofag lewat reseptor *scavenger* kemudian berakumulasi dalam *intracellular space* dan membentuk *foam cell*. Jika hal ini terjadi terus menerus maka akan menyebabkan plak aterosklerosis semakin berkembang dan dapat memicu iskemia (Orbay *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah vasa vasorum yang disajikan dalam table 5.1, jumlah vasa vasorum menunjukkan rata-rata sebesar 2 ± 1.157 sel/penampang dengan nilai minimum 1 sel/penampang dan maksimal 4 sel/penampang pada tikus kelompok tikus normal. Menurut penelitian Lee *et.al* (2014), apabila fungsi dari vasa vasorum tidak terpenuhi yaitu, memberikan nutrisi dan menyuplai oksigen ke pembuluh darah akan terjadi angiogenesis. Vasa vasorum akan bertumbuh secara pesat dan mengalami ke dalam tunika media. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah vasa vasorum pada tikus kelompok ini masih termasuk normal karena masih mampu untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan oksigen pembuluh darah. Bukti eksperimental menyatakan bahwa pentingnya peran

vasa vasorum pada gangguan proliferasi pembuluh darah karena dapat berkontribusi dalam perkembangan plak dalam beberapa cara yaitu perubahan drainase vena dari vasa vasorum hingga peran vasa vasorum sebagai saluran untuk sel-sel inflamasi sehingga menyebabkan ketidaktabilan plak.

Berdasarkan grafik 5.1. bisa diketahui bahwa rata-rata asupan makanan pada tikus kelompok normal ini adalah sebesar 26 gram setiap harinya di bulan secara konstan selama bulan pertama hingga bulan ketiga. Jumlah asupan tersebut turut mempengaruhi pada peningkatan berat badan tikus. Bila dilihat pada grafik 5.2. maka kita akan mendapatkan bahwa berat badan tikus kelompok normal pada pekan ke 12 mengalami kenaikan dengan rata-rata 156,25 gram. Rata-rata kenaikan berat badan pada tikus normal paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain.

6.1.2. Jumlah Vasa Vasorum pada tikus kelompok Diabetes Mellitus tipe 2

Pada DM tipe 2 terjadi resistensi insulin dan penurunan fungsi sel β yang mengakibatkan hiperglikemia atau kadar glukosa tinggi dalam darah yang berhubungan dengan meningkatnya FFA (*Free Fatty Acid*) sehingga akan memicu stres oksidatif dan mendukung terjadinya komplikasi aterosklerosis. Beberapa penelitian membuktikan bahwa hiperglikemia akan menyebabkan pembentukan ROS secara langsung dan beberapa studi lain menunjukkan peningkatan FFA juga termasuk hasil dari pembentukan ROS (Heriansyah *et al.*, 2017).

Berdasarkan data yang disajikan dalam table 5.1 jumlah vasa vasorum dari tikus pada kelompok kontrol negative atau DM menunjukkan rata-rata sebesar 14 ± 2.249 sel/penampang dengan jumlah minimum 11 sel/penampang dan jumlah maksimum 17 sel/penampang. Hal ini sangat meningkat dibandingkan dengan

kelompok kontrol negatif atau tikus normal yang memiliki rata-rata 2 ± 1.157 sel/penampang. Tingginya jumlah vasa vasorum pada tikus di kelompok ini diakibatkan pemberian pakan HFD yang menyebabkan hiperlipidemia yang merupakan salah satu faktor terjadinya aterosklerosis pada DM tipe 2. Seiring dengan pemberian pakan HFD, berat badan tikus juga didapatkan paling besar pada kelompok kontrol positif atau tikus DM sebesar 111,43 gram dibandingkan dengan kelompok tikus normal serta kelompok DM dengan PSP.

Berdasarkan hasil analisis uji Post Hoc dengan metode Tukey HSD menunjukkan adanya perbedaan jumlah vasa vasorum yang signifikan yaitu $p = 0,000$ ($p < 0,05$) antara kelompok tikus Diabetes mellitus tipe 2 dan tikus normal. Hal ini menunjukkan bahwa DM memang berpengaruh terhadap jumlah vasa vasorum akibat aterosklerosis dibandingkan dengan tikus normal yang diakibatkan oleh angiogenesis. Angiogenesis sangat berperan penting dalam tahapan aterosklerosis. Angiogenesis dan infiltrasi medial memberikan nutrisi untuk perkembangan dan perluasan intima sehingga mencegah terjadinya kematian sel.

Apabila hal ini terjadi pada aterosklerosis, di mana terjadi hipoksia sel yang berkelanjutan, maka pada tahap yang lebih lanjut, akan terjadi infiltrasi sel inflamator. Akibatnya secara bersamaan akan diproduksi sitokin proangiogenik dalam jumlah yang banyak yang kemudian akan memegang peran dalam induksi proliferasi mikrovessel neointima yang tidak terkontrol. Produksi neovaskuler yang imatur dan rapuh menyerupai hasil dari perkembangan tumor sehingga keadaan inilah yang dapat menyebabkan terjadinya *unstable hemorrhagic rupture* (Kawabe and Hasebe, 2014).

6.1.3. Jumlah Vasa Vasorum pada Tikus Kelompok Diabetes Mellitus tipe 2 dengan Dosis PSP 50 mg/kgBB

Stres oksidatif yang terjadi pada pasien DM membutuhkan sumber antioksidan dari luar tubuh agar dapat menghambat kerusakan sel dan memiliki pertahanan terhadap radikal bebas. Salah satu sumber antioksidan ialah Peptida Polisakarida (PSP) yang didapatkan dari ekstrak jamur *Ganoderma lucidum*. Selain sebagai antioksidan PSP juga memiliki bioaktivitas yang luas, seperti sebagai anti inflamasi, anti aterosklerosis, anti diabetes, serta anti penuaan. PSP juga memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi dengan efek samping yang minimal (Yu-Hong, 2002).

Berdasarkan data yang disajikan dalam table 5.1 jumlah vasa vasorum dari tikus pada kelompok tikus DM yang diberi dosis 50 mg/kgBB menunjukkan rata-rata sebesar 10 ± 1.886 sel/penampang dengan jumlah minimum 8 sel/penampang dan jumlah maksimum 13 sel/penampang. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok model DM tipe 2 yang diberikan PSP dengan dosis 50 mg/kgBB memiliki jumlah vasa vasorum yang berbeda dengan kontrol negative atau dengan tikus DM yang tidak diberi PSP. Penurunan jumlah vasa vasorum pada tikus di kelompok ini setelah diuji dengan Post Duncan walaupun menurun, namun tidak signifikan terhadap kontrol negative.

6.1.4. Jumlah Vasa Vasorum pada Tikus Kelompok Diabetes Mellitus tipe 2 dengan Dosis PSP 150 mg/kgBB

Antioksidan bermanfaat dapat mengurangi kerusakan oksidatif pada penderita diabetes. Hasil penelitian di Turki menunjukkan pada tiga puluh penderita

DM ditemukan adanya ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan dalam plasma penderita diabetes dibanding kontrol. Demikian juga berdasarkan hasil penelitian Centers for Disease Control and Prevention (CDC) kadar vitamin A, vitamin E lebih rendah, tidak untuk konsentrasi vitamin C pada penderita diabetes dibanding kontrol. Pemberian vitamin C dosis tinggi 2g/ hari dapat memperbaiki kesehatan penderita diabetes. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penderita diabetes memerlukan asupan antioksidan dalam jumlah besar karena peningkatan radikal bebas akibat hiperglikemia (Wahyu Widowati, 2008).

Sumber antioksidan yang dibutuhkan dari luar tubuh dapat diambil dari Peptida Polisakarida (PSP) yang didapatkan dari ekstrak jamur *Ganoderma lucidum*. Studi yang dilakukan Li *et al.* juga menunjukkan efek antihiperglikemi dan antikolesterolemia pada mencit model DM yang diinduksi dengan streptozotocin dan diberi terapi dengan ekstrak jamur *Ganoderma lucidum* (Li *et al.*, 2011). Berdasarkan data yang disajikan dalam table 5.1 jumlah vasa vasorum dari tikus pada kelompok tikus DM yang diberi dosis 150 mg/kgBB menunjukkan rata-rata sebesar 9 ± 2.395 sel/penampang dengan jumlah minimum 6 sel/penampang dan jumlah maksimum 13 sel/penampang. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok model DM tipe 2 yang diberikan PSP dengan dosis 150 mg/kgBB memiliki jumlah vasa vasorum yang berbeda dengan kontrol negative atau dengan tikus DM yang tidak diberi PSP. Penurunan jumlah vasa vasorum pada tikus di kelompok ini memiliki perbedaan yang signifikan setelah diuji dengan Post Duncan terhadap kelompok kontrol positif atau DM.

6.1.5. Jumlah Vasa Vasorum pada Tikus Kelompok Diabetes Mellitus tipe 2 dengan Dosis PSP 300 mg/kgBB

Beberapa penyakit sistemik kronis seperti dislipidemia, hipertensi dan diabetes melitus memiliki keterkaitan dengan produksi ROS berlebihan dan mengganggu keseimbangannya dengan sistem antioksidan tubuh yang disebut sebagai stress oksidatif (Singh, 2002). Diabetes melitus merupakan kondisi hiperglikemia kronis yang menimbulkan peradangan akibat *reactive oxygen species* (ROS) dengan salah satu komplikasi terbanyak adalah aterosklerosis dan infark miokard (Hanson, 2009). Pada DM, kondisi resistensi insulin menyebabkan terjadinya pembentukan *free fatty acid* (FFA) secara berlebihan dari jaringan lemak dan meningkatkan pembentukan ROS. Akibat stress oksidatif, terjadi aktivasi reseptor AGEs yang akan mengeluarkan faktor transkripsi *nuclear factor κB* (NFκB). Nf-κB akan meregulasi ekspresi genetik berbagai mediator dalam proses aterosklerosis, seperti *leucocyte cell adhesion molecules*, *leucocyte-attracting chemokines* dan sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan TNF-α yang merangsang proses inflamasi vaskuler.

Berdasarkan data yang disajikan dalam table 5.1 jumlah vasa vasorum dari tikus pada kelompok tikus DM yang diberi dosis 300 mg/kgBB menunjukkan rata-rata sebesar 4 ± 2.059 sel/penampang dengan jumlah minimum 1 sel/penampang dan jumlah maksimum 6 sel/penampang. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok model DM tipe 2 yang diberikan PSP dengan dosis 300 mg/kgBB memiliki jumlah vasa vasorum yang berbeda dengan kontrol negative atau dengan tikus DM yang tidak diberi PSP. Penurunan jumlah vasa vasorum pada tikus di kelompok ini

memiliki perbedaan yang signifikan setelah diuji dengan Post Duncan terhadap kelompok kontrol positif atau DM.

6.2. Perbedaan Jumlah Vasa Vasorum pada Setiap Kelompok

Berdasarkan penelitian terbaru, radikal bebas berikatan bukan hanya molekul lipid tetapi juga berinteraksi kuat terhadap komponen monomer apoprotein-B pada LDL dan membentuk agregat tidak larut dalam pembuluh darah. Pada DM tipe 2, terjadi disfungsi mitokondria akibat hiperglikemia kronis, meningkatnya produksi ROS serta mekanisme antioksidan tubuh yang tidak mampu mengompensasi akumulasi ROS akibat kerusakan enzim sehingga timbul keadaan yang disebut resistensi insulin.

Berdasarkan uji Post Hoc Duncan, didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap jumlah vasa vasorum pada kelompok tikus DM tipe 2 dan tikus DM tipe 2 dengan pemberian PSP berbagai dosis. Berdasarkan uji post hoc Duncan dengan tingkat kepercayaan 95% didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah vasa vasorum terhadap kontrol negatif atau sehat, dengan kelompok kontrol positif atau DM tipe 2. Jumlah vasa vasorum pada kelompok DM yang diberi PSP 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB didapatkan perbedaan yang bermakna terhadap kelompok dengan kontrol positif. Namun, yang mendekati jumlah vasa vasorum pada tikus normal ialah dengan pemberian PSP 300 mg/kgBB.

Perbedaan ini dapat disebabkan oleh faktor hiperglikemia pada tikus DM tipe 2. Salah satu faktor risiko terjadinya aterosklerosis adalah hiperglikemia. Selain itu, pengaruh hiperglikemia pada aterosklerosis bersifat multifaktorial, melibatkan

berbagai interaksi kompleks seperti hyperlipidemia dan inflamasi (Douglas, *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Heriansyah *et al.*, (2017), dengan pemberian dosis 50 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB pada PSP menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah H₂O₂ yang merupakan ROS, ketebalan PVAT, dan jumlah sel busa pada tikus dengan aterosklerosis. Peningkatan berat badan pada tikus DM tipe 2 atau kontrol positif dengan kelompok tikus DM tipe 2 yang diberi PSP juga memiliki variasi yang berbeda. Dari hasil penimbangan berat badan awal tikus dan berat badan akhir sebelum dibedah dapat diketahui peningkatan berat badan paling kecil didapatkan pada kelompok DM+PSP 300mg/kgBB dengan rata-rata sebesar 97,14 gram.

6.3 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Potensi atau manfaat PSP dalam penghambatan perkembangan aterosklerosis melalui penghambatan angiogenesis vasa vasorum dapat dibuktikan dengan hasil penelitian mengenai vasa vasorum pada DM tipe 2. Dari analisis data didapatkan hasil yang signifikan pengaruh pemberian PSP terhadap penurunan jumlah vasa vasorum pada aorta serta rata-rata penurunan lebih banyak pada pemberian PSP dengan dosis 300 mg/kgBB. Dapat ditarik kesimpulan bahwa PSP dapat menghambat angiogenesis vasa vasorum dan lebih berpengaruh pada pemberian dengan dosis yang lebih tinggi (*dose-dependent*) pada Diabetes Mellitus tipe 2. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui pengaruh PSP untuk menghambat proses rupturnya plak dari aterosklerosis dengan menurunkan jumlah vasa vasorum melalui penelitian *clinical trial*

6.4. Keterbatasan Penelitian

Terdapat beberapa faktor yang menjadi keterbatasan peneliti dalam melaksanakan penelitian mengenai pengaruh PSP terhadap jumlah vasa vasorum pada tikus *Rattus Norvegicus* dengan model DM tipe 2. Penelitian *in vivo* menggunakan hewan coba memiliki keterbatasan dalam pemilihan hewan coba yang sesuai untuk penelitian karena adanya variasi genetik dalam satu spesies hewan. Hal ini dapat menyebabkan berbedanya respon hewan terhadap perlakuan yang diberikan. Selain itu, perhitungan vasa vasorum secara manual juga menjadi keterbatasan dalam penelitian ini.