

**PENGARUH LAMA STRES DAN DIET ATHEROGENIK TERHADAP  
PEMBENTUKAN FOAM CELL ARTERI CEREBRAL OTAK TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**DIANA IFRINA ERNAWATI  
NIM. 05520031**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2009**

**PENGARUH LAMA STRES DAN DIET ATHEROGENIK TERHADAP  
PEMBENTUKAN FOAM CELL ARTERI CEREBRAL OTAK TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:**

**Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN)  
Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:**

**DIANA IFRINA ERNAWATI  
NIM. 05520031**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2009**

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Diana Ifrina Ernawati  
NIM : 05520031  
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik Terhadap  
Pembentukan *Foam Cell* Arteri Cerebral Otak Tikus  
(*Rattus nervogicus*) Jantan Galur Sprague Dawley

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan beserta daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 10 Oktober 2009

Penulis,

Diana Ifrina Ernawati  
NIM. 05520031

**PENGARUH LAMA STRES DAN DIET ATHEROGENIK TERHADAP  
PEMBENTUKAN FOAM CELL ARTERI CEREBRAL OTAK TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY**

**SKRIPSI**

Oleh:

**DIANA IFRINA ERNAWATI  
NIM. 05520031**

Telah disetujui oleh:

**Dosen Pembimbing I**

**Dosen Pembimbing II**

**Dra. Retno Susilowati, M.Si  
NIP. 19671113 199402 2 001**

**Ahmad Barizi, M.A  
NIP. 19731212 199804 1 001**

**Tanggal, 17 Oktober 2009**

**Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi**

**Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd  
NIP. 19630114 199903 1 001**

**PENGARUH LAMA STRES DAN DIET ATHEROGENIK TERHADAP  
PEMBENTUKAN FOAM CELL ARTERI CEREBRAL OTAK TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR SPRAGUE DAWLEY**

**SKRIPSI**

Oleh:

**DIANA IFRINA ERNAWATI  
NIM. 05520031**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan  
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Tanggal, 17 Oktober 2009**

| <b>Susunan Dewan Penguji :</b>   | <b>Tanda Tangan</b> |
|--|---------------------|
| <b>1. Penguji Utama : <u>Kiptiyah, M.Si</u><br/>NIP. 19731005 200212 2 003</b>           | <b>( )</b>          |
| <b>2. Ketua : <u>Dr.drh.Bayyinatul M., M.Si</u><br/>NIP. 19710919 200003 2 001</b>       | <b>( )</b>          |
| <b>3. Sekretaris : <u>Dra. Retno Susilowati, M.Si</u><br/>NIP. 19671113 199402 2 001</b> | <b>( )</b>          |
| <b>4. Penguji Agama : <u>Ahmad Barizi, M.A</u><br/>NIP. 19731212 199804 1 001</b>        | <b>( )</b>          |

**Mengetahui dan Mengesahkan  
Ketua Jurusan Biologi**

**Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd  
NIP. 19630114 199903 1 001**



## MOTTO

من كثر همه سقم بدنه

“Barang siapa yang banyak bersedih maka fisiknya akan mengalami sakit” (HR. Ahmad)



# PERSEMBAHAN

Kupersembahkan hasil karya ini untuk:

- ✦ Ayah dan Ibuku yang telah memberikan kasih sayang, pengorbanan, kesabaran serta doanya yang tiada henti sejak aku lahir hingga kini dewasa, anakmu ini tak dapat membalas semuanya.....
- ✦ Keluarga kecilQ: Kakak ita, Mz Luthfi, Agung, Abel, Bima n AdekQ tersayang OCHA yang selalu tulus memberikan kasih sayang serta motivasi sehingga Q tetap semangat dalam menjalani hidup.
- ✦ Kakek n NenekQ yang telah ikhlas dan sabar dalam mendo'akan cucumu
- ✦ Para Guru dan Dosen yang selalu mengajarkan ilmu dan menuntun arah hidupku.
- ✦ Tante Arie sahabatku dalam berjuang menjalani penelitian tugas akhir n selalu memberi support untukQ, thanks banget atas semuanya n semoga QTa tetap menjadi sahabat dalam perjuangan selanjutnya.....
- ✦ Sahabatku ima, zoro, elvi, izza n nida' makasih banget udah jadi sahabatQ yang paling setia baik suka maupun duka.
- ✦ Buat teman sekaligus keluarga baruQ Te2h Siti, Te2h Susi, Te2h Sri, Te2h Ifnaini, Te2h Dew2, Bunda, Papi, m' Liel, Mz Smail, Mz Basyar, Pak Hury, Pak Tatok, Pak Joko n Mz Oky yang telah banyak membantu dalam proses penelitian....

- 
- ✦ Ucapan banyak terimakasih kepada Bpk. Farid (UNISMA), Bpk. Hadi (RSI), n Mz Didin (Poliklinik) yang selalu membantu proses penelitian ini n memberikan kekuatan untuk melawan segala cobaan yang QT hadapi.
  - ✦ Sahabat2-Q Rayon 'Pencerahan' Galileo n Teater Galileo (TEGAL) PMII yang selalu kompak n te2p semangat untuk berjuang, makasih atas support n do'a yang diberikan.
  - ✦ Teman-teman curhatQ Shyta, Iva (Po'o), n "The Gank" Biologi '05 yang kompak abiz Thanks banget atas semua bantuannya serta semangat yang kalian berikan selama ini.
  - ✦ Semua adek-adek tingkatQ Biologi '06 yang selalu mendukung n memberi support untuk menjalani semua tantangan dengan penuh kesabaran, Trim's banget n selamat berjuang juga.
  - ✦ Teman-teman BIOLOGI angkatan 2005 yang caem-caem n selalu kompak, banyak kenangan indah yang tersimpan bersama kalian semua.....
  - ✦ My Lovely yang akan menemani sejarah hidupQ selamanya.....
  - ✦ Semua pihak yang membantu kelancaran dalam penyusunan skripso ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga ALLAH SWT memberikan balasan yang terbaik untuk semuanya Amin.....
- 



# Persembahan

Karya ini saya dedikasikan untuk:

- ✚ Ayah, Ibunda, dan semua keluargaku tercinta
- ✚ Calon Suamiku yang akan menemani sejarah hidupku
- ✚ Semua orang yang mencintai ilmu pengetahuan



## KATA PENGANTAR



*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Segala puji bagi Allah SWT karena atas rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Drs. H. Sutiman Bambang Sumitro, SU., DSc. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dra. Retno Susilowati, M.Si. yang telah memberikan arahan bimbingan kepada penulis sehingga dapat terselesaikan skripsi ini.
5. Ahmad Barizi, M.A, selaku Dosen pembimbing integrasi Sains dan Islam yang selalu memberikan bimbingan kepada penulis.
6. Kiptiyah, M.Si. selaku Dosen wali yang telah memberikan banyak saran serta nasehat yang sangat berguna.
7. Segenap Dosen Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Seluruh Dosen Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Ayah dan Ibunda tercinta yang dengan sepenuh hati memberikan dukungan moril maupun spirituil serta ketulusan do'anya sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.

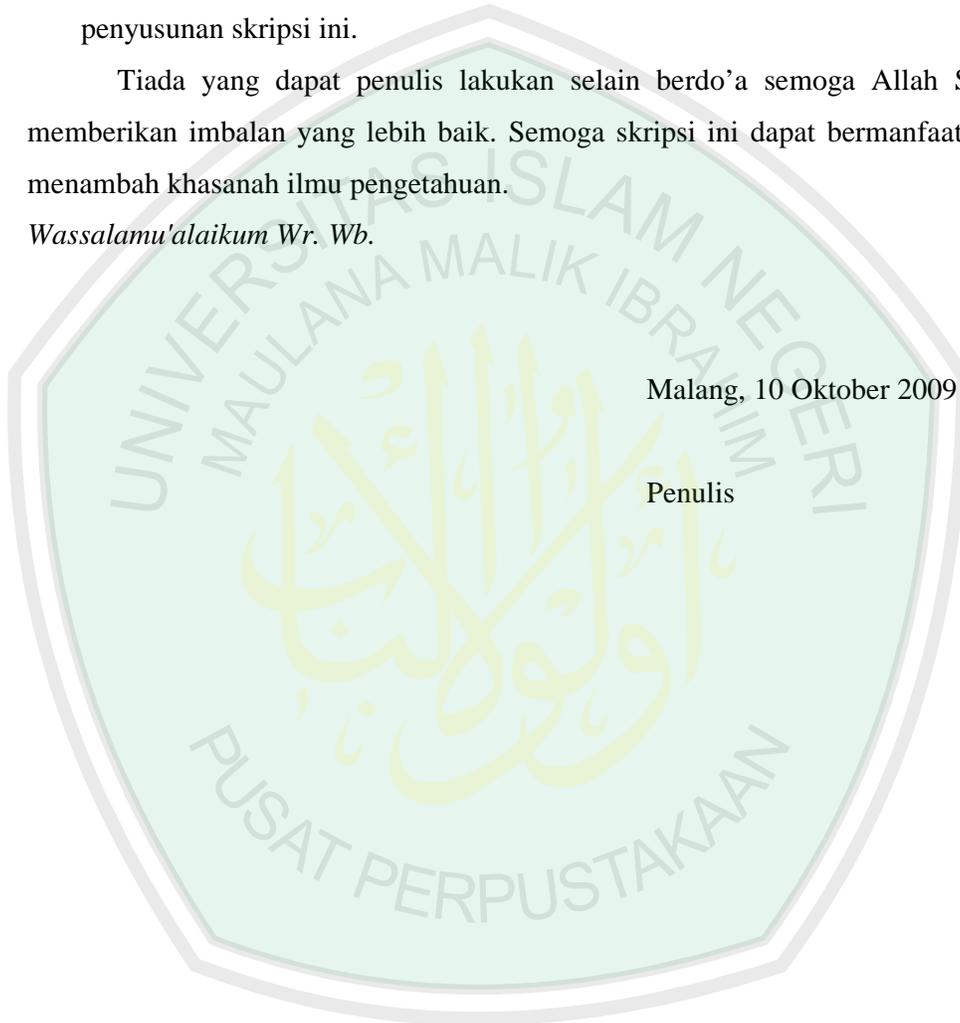
10. Teman-teman yang kami banggakan angkatan 2005 Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
11. Serta semua pihak yang telah bersedia membantu demi terselesainya penyusunan skripsi ini.

Tiada yang dapat penulis lakukan selain berdo'a semoga Allah SWT memberikan imbalan yang lebih baik. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, 10 Oktober 2009

Penulis



## DAFTAR ISI

|   |      |
|---|------|
| <b>KATA PENGANTAR</b> .....   | i    |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....   | iii  |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....   | v    |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....  | vi   |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....  | vii  |
| <b>ABSTRAK</b> .....  | viii |
| <br>  |      |
| <b>BAB I PENDAHULUAN</b>  |      |
| 1.1 Latar Belakang .....  | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah .....   | 5    |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....   | 6    |
| 1.4 Hipotesis.....  | 6    |
| 1.5 Manfaat Penelitian .....  | 6    |
| 1.6 Batasan Masalah .....   | 7    |
| <br>  |      |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>  |      |
| 2.1 Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) .....  | 9    |
| 2.2 Atherosklerosis .....   | 11   |
| 2.3 Stres.....  | 14   |
| 2.4 Diet Atherogenik.....   | 17   |
| 2.5 Stres Oksidatif .....   | 24   |
| 2.6 Patogenesis Atherosklerosis .....   | 27   |
| 2.7 Mekanisme sel imunokompeten dalam proses pembentukan plak.....                                      | 28   |
| 2.8 Anatomi dan Histologi Pembuluh Darah Otak Tikus .....   | 30   |
| <br>  |      |
| <b>BAB III METODE PENELITIAN</b>  |      |
| 3.1 Rancangan Penelitian .....  | 32   |
| 3.2 Variabel Penelitian.....  | 34   |
| 3.3 Waktu dan Tempat.....   | 34   |
| 3.4 Populasi dan Sampel .....   | 34   |
| 3.5 Estimasi Besar Sampel.....  | 35   |
| 3.6 Alat dan Bahan .....  | 35   |
| 3.7 Cara kerja .....  | 38   |
| 3.8 Diagram Alur Penelitian .....   | 45   |
| <br>  |      |
| <b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>  |      |
| 4.1 Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik terhadap Kadar Kolesterol<br>Total Serum Darah Tikus ..... | 46   |
| 4.2 Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik terhadap Trigliserida<br>Serum Darah Tikus .....           | 52   |
| 4.3 Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik terhadap Pembentukan<br><i>foam cell</i> (sel busa) .....  | 57   |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b> |    |
| 5.1 Kesimpulan.....               | 62 |
| 5.2 Saran.....                    | 62 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....       | 63 |
| <b>LAMPIRAN</b> .....             | 69 |



## DAFTAR TABEL

| No  | Judul   | Halaman |
|-----|---|---------|
| 1.  | Data biologi tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....  | 10      |
| 2.  | Kombinasi perlakuan antara stres dan diet hiperkolesterol.....  | 34      |
| 3.  | Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total serum selama 4 minggu..... | 46      |
| 4.  | Ringkasan uji BNT 5% pengaruh diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total serum selama 4 minggu .....          | 47      |
| 5.  | Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total serum selama 8 minggu..... | 48      |
| 6.  | Ringkasan uji BNT 5% pengaruh diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total serum selama 8 minggu .....          | 49      |
| 7.  | Berat badan tikus selama penelitian .....   | 50      |
| 8.  | Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida serum selama 4 minggu .....    | 53      |
| 9.  | Ringkasan uji BNT 5% pengaruh diet atherogenik terhadap kadar trigliserida serum selama 4 minggu .....              | 53      |
| 10. | Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida serum selama 8 minggu .....    | 54      |
| 11. | Ringkasan ANOVA pengaruh diet atherogenik terhadap jumlah <i>foam cell</i> arteri cerebral selama 8 minggu .....    | 57      |

## DAFTAR GAMBAR

| No  | Gambar   | Halaman |
|-----|--|---------|
| 1.  | Gambar histologi arteri.....   | 14      |
| 2.  | Struktur kimia kolesterol.....   | 18      |
| 3.  | Mekanisme ox-LDL yang diinternalisasi oleh makrofag.....   | 26      |
| 4.  | Aktivasi sel imunokompeten pada tahap awal aterogenesis .....  | 29      |
| 5.  | Anatomi otak tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....   | 31      |
| 6.  | Diagram alur pemeriksaan kadar kolesterol total .....  | 40      |
| 7.  | Diagram alur pemeriksaan kadar trigliserida .....  | 41      |
| 8.  | Diagram alur pengecatan arteri dengan Oil red O .....  | 41      |
| 9.  | Diagram alur pengecatan arteri dengan HE .....   | 43      |
| 10. | Diagram alur Penelitian.....   | 45      |
| 11. | .Diagram nilai rerata perubahan kadar kolesterol total serum darah tikus dengan perlakuan hiperkolesterol 4 minggu ..... | 48      |
| 12. | .Diagram nilai rerata perubahan kadar kolesterol total serum darah tikus dengan perlakuan hiperkolesterol 8 minggu ..... | 49      |
| 13. | .Diagram nilai rerata perubahan kadar trigliserida serum darah tikus dengan perlakuan hiperkolesterol 4 minggu .....     | 54      |
| 14. | .Diagram rerata jumlah <i>foam cell</i> arteri cerebral otak tikus lama 8 minggu ..                                      | 58      |

## DAFTAR LAMPIRAN

|   |    |
|---|----|
| Lampiran 1. Data uji Kolesterol serum darah Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dengan berbagai perlakuan .....                            | 69 |
| Lampiran 2. Data uji Trigliserida serum darah Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dengan berbagai perlakuan .....                          | 77 |
| Lampiran 3. Analisis jumlah sel busa ( <i>foam cell</i> ) pada arteri cerebral otak Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) lama 8 minggu..... | 84 |
| Lampiran 4. Histologi Arteri Cerebral Otak Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Lama 4 minggu dengan perbesaran 400 kali .....              | 87 |
| Lampiran 5. Histologi Pembentukan <i>Foam Cell</i> Arteri Cerebral.....   | 88 |
| Lampiran 6. Perhitungan pakan diet hiperkolesterol.....   | 91 |
| Lampiran 7. Gambar Alat dan Bahan Penelitian.....   | 92 |
| Lampiran 8. Gambar Alat dan Bahan Pembedahan Tikus.....   | 95 |

## ABSTRAK

Ifrina, Diana. 2009. **Pengaruh Lama Stres Dan Diet Atherogenik Terhadap Pembentukan Foam Cell Arteri Cerebral Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dra. Retno Susilowati, M.Si.

Kanta Kunci: Stres, Diet Atherogenik, Foam Cell, Arteri Cerebral

Atherosklerosis dapat timbul akibat stres dan konsumsi makanan tinggi kolesterol (hiperkolesterol). Akibat dari stres berat dan hiperkolesterol menyebabkan timbulnya plak dalam lapisan endotel pada arteri yang nantinya berkembang menjadi sel busa (*foam cell*) dan dapat menyumbat pembuluh darah arteri cerebral otak atau disebut juga dengan penyakit stroke (*Cerebro Vascular Accident*). Kelebihan kadar kolesterol juga berakibat pada tingginya kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak dan profil lipid serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 (tiga) faktor. Faktor pertama adalah paparan stres predator. Faktor kedua adalah pemberian diet atherogenik (hiperkolesterol). Faktor ketiga adalah lama 4 minggu dan 8 minggu. Data dengan perhitungan Analisis Varians jika menunjukkan beda nyata maka diuji lanjut dengan uji BNT 5%, dan jika ingin mengetahui perbedaan lama pemberian paparan stres dan diet atherogenik maka diuji lanjut dengan uji t tidak berpasangan.

Hasil uji BNT 5% kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah tikus berbeda nyata antara perlakuan pakan normal dan pakan diet, tetapi tidak terdapat beda nyata pada interaksi perlakuan stres dan diet atherogenik. Uji t tidak berpasangan pada kadar kolesterol total dan trigliserida serum darah menunjukkan  $t_{hitung} > t_{tabel(0.05)}$  yaitu selisih antara lama 4 minggu > selisih lama 8 minggu. Pada uji BNT 5% pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus menunjukkan beda nyata interaksi antara perlakuan lama stres dan diet atherogenik. Hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa lama stres dan diet atherogenik merupakan salah satu faktor proses pertumbuhan penyakit atherosclerosis, dan untuk mendapatkan pengaruh yang nyata perlu peningkatan lama pemberian paparan stres dan diet hiperkolesterol.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an yang berbunyi:

يٰۤاَيُّهَا الَّذِيْنَ ءَامَنُوْا لَا تُحْرِمُوْا طَيِّبٰتِ مَآ اَحَلَّ اللّٰهُ لَكُمْ وَلَا تَعْتَدُوْا ۗ اِنَّ اللّٰهَ لَا يُحِبُّ  
الْمُعْتَدِيْنَ ﴿٨٧﴾ وَكُلُوْا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللّٰهُ حَلٰلًا طَيِّبًا ۗ وَاتَّقُوا اللّٰهَ الَّذِيْۤ اَنْتُمْ بِهٖ مُّؤْمِنُوْنَ ﴿٨٨﴾

Artinya: “Hai orang-orang yang beriman, janganlah kamu haramkan apa-apa yang baik yang Telah Allah halalkan bagi kamu, dan janganlah kamu melampaui batas. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang melampaui batas. Dan makanlah makanan yang halal lagi baik dari apa yang Allah Telah rezekikan kepadamu, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya”(QS. Al-Maaidah: 87-88).

Ghoffer (2004) mengatakan bahwa dalam firman Allah tersebut dijelaskan bahwa *walaa ta'tadhu* yang artinya “dan janganlah kamu melampaui batas” mempunyai pengertian janganlah kalian berlebih-lebihan dalam menyempitkan diri kalian sendiri dengan mengharamkan berbagai hal yang halal, tetapi ambillah sesuai dengan kebutuhan dan jangan melampaui batas. Allah menetapkan keseimbangan antara sikap berlebih dan berpaling darinya, tidak melampaui batas juga tidak melalaikan.

Guyton (1996), menyatakan bahwa Kasus kematian akibat kelainan pembuluh darah yaitu *atherosclerosis* masih cukup banyak di dunia. Berdasarkan penelitian terakhir yang dilakukan oleh WHO pada tahun 1995 didapatkan suatu data yang menyatakan 20% dari kematian di seluruh dunia diakibatkan oleh penyakit-penyakit yang didasari oleh *atherosclerosis* seperti stroke (CVA=

*Cerebro Vascular Accident*), serangan jantung (*Myokard Infark*). Hacke (1997) menambahkan bahwa laporan khusus WHO tentang stroke tahun 2000 diperkirakan meningkat 50%. Stroke merupakan penyebab kematian nomor 3 pada usia 45-65 tahun dan penyebab kematian nomor 2 pada usia lebih dari 65 tahun, sesudah penyakit jantung, tetapi stroke sebagai penyebab nomor 1 cacat tubuh.

Di Indonesia, seiring dengan kemajuan pembangunan fisik yang dicapai, terjadi pula pergeseran pola hidup disertai semakin meningkatnya usia harapan hidup. Akibat perubahan tersebut, terjadi pula pergeseran pola penyakit. Stroke yang insidennya cenderung terus meningkat, telah terjadi salah satu masalah kesehatan di Indonesia (Rambe, 2003).

Penyakit stroke di Indonesia merupakan urutan ketiga penyebab kematian, melampaui penyakit yang selama ini mendominasi angka kematian terbesar di Indonesia seperti jantung dan kanker. Hal ini sebagai akibat perubahan gaya hidup serta stres berat yang dihadapi masyarakat karena beban hidup yang semakin berat (Anna, 2006).

Stres terjadi ketika terdapat ketidaksesuaian antara keinginan dan harapan seseorang dengan kenyataan yang dihadapinya. Dalam menghadapi stres reaksi setiap individu berbeda-beda. Hal tersebut dapat disebabkan adanya faktor genetik, tingkah laku, lingkungan sekitarnya dan pengalaman (Rahmawati, 2007).

Stres dapat mempengaruhi kesehatan secara langsung ataupun tidak langsung. Secara langsung, stres mempunyai pengaruh yang kuat keseluruhan sistem tubuh melalui pengaruh dari sistem saraf dan sistem endokrin. Seluruh fungsi

gastrointestinal dipengaruhi oleh impuls saraf dan sinyal hormon di dalam tubuh. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa tingkat stres psikologis pada tubuh dapat mempengaruhi pergerakan dari gastrointestinal. Tingginya tingkat stres memberi pengaruh nyata pada persoalan kesehatan misalnya, bermacam-macam depresi, insomnia, penyakit jantung, gangguan kulit, sakit kepala dan gangguan saluran pencernaan (Intelihealth, 2004 dan Medical Editorial, 2005).

Perubahan pola penyakit diduga ada hubungannya dengan pola hidup yang berubah. Perubahan pola makan di kota-kota telah berubah dari pola makan tradisional yang mengandung banyak karbohidrat dan serat dari sayuran, ke pola makan kebarat-baratan dengan komposisi makanan yang terlalu banyak mengandung protein, lemak, gula, garam dan mengandung sedikit serat. Komposisi makanan seperti ini terutama terdapat pada makanan siap santap yang akhir-akhir ini sangat digemari (Suyono, 1996).

Adanya pola makan yang terlalu banyak mengandung protein, lemak, gula, garam dan mengandung sedikit serat, tentunya akan dapat membawa suatu pengaruh terhadap metabolisme di dalam tubuh itu sendiri. Diet yang mengandung lemak jenuh dan kolesterol akan dapat meningkatkan kadar kolesterol serum. Diet lemak jenuh dapat meningkatkan konsentrasi kolesteol darah sebesar 15-25%. Hal ini disebabkan peningkatan jumlah Asetil-KoA dalam sel hati untuk menghasilkan kolesterol. Jika keadaan ini sampai melampaui batas mekanisme kompensasi tubuh dalam metabolisme lemak, tentunya akan dapat menyebabkan kondisi yang disebut hiperkolesterolemia. Dengan demikian, untuk

mengurangi konsentrasi kolesterol darah, sama pentingnya untuk mempertahankan diet rendah lemak jenuh dan rendah kolesterol (Guyton, 1994).

Konsep asupan makanan diperlukan adanya keseimbangan untuk mempertahankan suatu keadaan yang fisiologis pada sistem metabolisme untuk mencapai kondisi tubuh yang sehat. Adanya perubahan pola konsumsi makanan yang banyak mengandung lemak jenuh dan kolesterol merupakan pemicu untuk terjadinya ketidakseimbangan sistem metabolisme. Hiperkolesterolemia merupakan salah satu contoh ketidakseimbangan sistem metabolisme yang pada akhirnya dapat mengganggu kesehatan itu sendiri. Perubahan ini tentunya tidak akan secara langsung menimbulkan gejala yang nyata tapi akan menyebabkan muncul penyakit degeneratif yang mungkin membutuhkan waktu yang lama sampai menimbulkan gejala yang nyata (Gurr, 1992).

Hiperkolesterolemia terjadi jika kadar kolesterol melebihi batas normal, dan hal ini dapat menyebabkan aterosklerosis, yaitu penyumbatan pembuluh darah arteri akibat penumpukan di dinding arteri. Jika aterosklerosis ini terjadi di pembuluh darah arteri yang memasok oksigen ke jantung, maka hal ini dapat menyebabkan penyakit jantung koroner, dan jika pada pembuluh darah yang ke otak akan menyebabkan stroke. Hiperkolesterolemia ini dapat juga terjadi karena beberapa faktor lain, seperti bobot badan, usia, kurang olahraga, stres emosional, gangguan metabolisme, kelainan genetik dan pola makan yang tinggi kadar kolesterol dan lemak jenuh (Kasim, 2006).

Kolesterol dapat menyebabkan pengaruh buruk yaitu apabila kadarnya yang tinggi dalam darah memicu terjadinya proses *atherosclerosis* yang diawali

terbentuknya *plaque* dalam lapisan endotel pembuluh darah arteri. Kolesterol yang terdapat dalam *plaque* telah dibuktikan berasal dari peningkatan dalam jumlah besar kadar kolesterol yang beredar dalam sirkulasi terutama dalam bentuk *Low Density Lipoprotein* (LDL) (Gurr, 1992). Peningkatan kadar LDL dalam plasma diluar batas kemampuan reseptor akan meningkatkan LDL berada lebih lama dalam sirkulasi sehingga kemungkinan teroksidasi akan lebih besar. *Low Density Lipoprotein* teroksidasi inilah yang bersifat atherogenik (Suyono, 1996).

Hiperkolesterolemia dapat menyebabkan adanya produksi ROS yang tinggi pada stres oksidatif yang berakibat cedera pada struktur membran, protein dan DNA. Stres oksidatif merupakan implikasi utama dalam proses atherosclerosis dengan merusak lipid, sehingga terjadi oksidasi LDL yang menjadi kontribusi dalam disfungsi endotelial yaitu dengan mengurangi endothelial NO yang akhirnya terjadi adhesi molekul. ROS dapat mengakibatkan pembentukan *plaque* atherosclerotic karena oksidasi dari lipid, disfungsi endotelium, peningkatan proliferasi selular dan induksi proinflammatory dari gen (Bourassa, 2006 dan Mehta, 2001).

Proses aterosclerosis terutama mengenai arteri-arteri berukuran sedang, yaitu arteri koronaria, karotis, basilar, cerebral, iliaka, dan femoralis (Pratanu, 1995). Pemeriksaan perkembangan *foam cell* (sel busa) pada penelitian ini dilakukan di arteri cerebral otak tikus, karena pada arteri cerebral ini merupakan percabangan pembuluh darah yang mudah terkena atherosclerosis. Heimer (1995) menyatakan lesi aterosklerotik mudah terjadi pada tempat percabangan dan belokan pembuluh darah, karena pada daerah-daerah tersebut aliran darah

mengalami peningkatan turbulensi dan penurunan *shear stress* sehingga endotel yang ada mudah terkoyak.

Menurut Kusumawati (2004) penggunaan tikus dalam penelitian disebabkan karena tikus mudah di adaptasikan dalam lingkungan laboratorium. Tikus berbeda dengan mencit sebagai hewan coba untuk pengukuran kadar kolesterol dan pemeriksaan *foam cell* arteri cerebral otak, karena dari ukuran tubuh dan bentuk otak lebih besar untuk mempermudah pengamatan arteri, darahnya lebih banyak untuk diambil sebagai sampel penelitian, dan lebih resisten terhadap penyakit. Penggunaan tikus jantan dalam penelitian ini karena memiliki hormon estrogen dalam jumlah yang sedikit. Telah diketahui bahwa hormon estrogen berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah (Ganong, 1983). Tikus jantan mempunyai kadar kolesterol yang tidak terpengaruh variasi hormon (Sitepoe, 1992).

Pengaruh paparan stres dan hiperkolesterolemia merupakan penyebab aterosklerosis. Efek stres menyebabkan tekanan darah yang tinggi secara kronis sehingga menimbulkan gaya regang/ potong yang merobek lapisan endotel arteri dan arteriol (Corwin, 1997 dan Davison 2006). Oleh karena itu perlu adanya suatu kajian mengenai mekanisme lama paparan stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* (sel busa).

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley?
2. Apakah ada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap profil lipid serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley.
2. Untuk mengetahui pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap profil lipid serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley.

## 1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley.
2. Ada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap profil lipid serum darah tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai, di dapatkan manfaat penelitian sebagai berikut:

1. Hasil penelitian yang diperoleh, diharapkan memiliki nilai guna atau manfaat baik dari aspek pengembangan ilmu maupun aspek aplikasinya dimasyarakat. Berkaitan dengan aspek pengembangan ilmu, studi ini berguna untuk mengetahui prinsip dasar profil lipid serum darah dan pembentukan *foam cell* (sel busa) pada arteri cerebral otak tikus (*Rattus norvegicus*) akibat paparan stress dan diet atherogenik.
2. Aspek aplikasi di masyarakat hasil studi ini diharapkan berguna untuk membantu masyarakat dalam upaya menjaga pola hidup yang sehat dan tidak mudah stres.

### 1.6 Batasan Masalah

Penelitian ini mempunyai batasan masalah sebagai berikut:

1. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan Galur Sprague Dawley yang berumur 4-5 bulan dengan berat badan sekitar 250-300 gram.
2. Paparan stres yang digunakan adalah stres psikologis berupa predator.
3. Diet atherogenik yang digunakan yaitu diet hiperkolesterol.
4. Parameter yang digunakan untuk mengetahui atherosklerosis yaitu pembentukan *foam cell* (sel busa) dan profil lipid pada arteri cerebral otak Tikus (*Rattus norvegicus*).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Allah telah berfirman dalam surat An-Nuur ayat 45 tentang penciptaan hewan, sebagai berikut:

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى بَطْنِهِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَى أَرْبَعٍ خَلَقَ اللَّهُ مَا يَشَاءُ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

*Artinya* :”Dan Allah Telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu” (QS. An-Nuur: 45)

Rossidy (2008) menjelaskan bahwa ayat tersebut menggambarkan tentang sebagian dari hewan berjalan. Ada yang berjalan dengan perutnya, ada yang berjalan dengan kakinya seperti hewan yang berkaki dua atau berkaki empat. Fenomena keanekaragaman ini menampakkan keunikan dari segi perbedaan antar spesies dan antar kelompok atau kelas.

Penjelasan dari surat An-Nuur ayat 45 tersebut tentang macam-macam hewan yang meliputi:

- a. Hewan melata dengan perutnya, yaitu: belut, ular, cacing, bekicot, lele.
- b. Hewan melata dengan 2 kaki, yaitu: ayam, burung dara, merpati, puyuh, bebek.

- c. Hewan melata dengan 4 kaki, yaitu: tikus putih, mencit, hamster, cicak, beruang, kambing, sapi, domba, anjing, unta, singa, gajah, jerapah.

Tikus merupakan salah satu hewan darat yang berkaki empat yang telah diciptakan oleh Allah dan telah membawa manfaat yang banyak, salah satunya dalam proses penelitian sebagai hewan coba. Menurut Kusumawati (2004) penggunaan tikus berbeda dengan mencit sebagai hewan coba untuk pengukuran kadar kolesterol, karena dari ukuran tubuhnya lebih besar, darahnya lebih banyak untuk diambil sebagai sampel penelitian, dan lebih resisten terhadap penyakit. Pada umur 2 bulan berat badannya dapat mencapai 200-300 gram. Data biologi tikus dapat dilihat pada tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1 Data Biologi Tikus

|  |             |
|--|-------------|
| a. Jantan (gram)                           | : 300-400   |
| b. Lama hidup (tahun)                      | : 2.5-3     |
| c. Temperatur tubuh ( $^{\circ}\text{C}$ ) | : 37.5      |
| d. Kebutuhan air (ml/100g BB)              | : 8-11      |
| e. Kebutuhan makanan (g/100g BB)           | : 5         |
| f. Kolesterol (mg/dL)                      | : 10.0-54.0 |

Az-Zabidi (1997) menyatakan bahwa Nabi Muhammad saw bersabda:

عن أبي هريرة قال : قال رسول الله صلى الله عليه وسلم فقدت أمة من بنى إسرائيل لا يدري ما فعلت ولا أراها إلا الفار ألا ترونها إذا وضع لها ألبان الإبل لم تشربه وإذا وضع لها البان الشاء شربته

*Artinya : Satu kaum dari Bani Israil telah hilang lenyap tanpa diketahui sebab apa yang dikerjakan dan tidak terlihat kecuali (dalam bentuk) tikus. Tidaklah kamu lihat jika (tikus itu) diberi susu unta ia tidak meminumnya, tetapi jika diberi susu kambing ia meminumnya (HR. Bukhari & Muslim)*

Hadist tersebut menyatakan bahwa “*jika (tikus itu) diberi susu unta ia tidak meminumnya, tetapi jika diberi susu kambing ia meminumnya*”, hal tersebut mengisyaratkan tentang sifat dari seekor tikus yang bisa memilih makanan yang lebih disukai. Pakan hiperkolesterol dengan penambahan kadar lemak tinggi berupa *butter* dan bungkil kelapa lebih meningkatkan nafsu makan tikus dibandingkan dengan pakan biasa.

## 2.2 Atherosklerosis

Atherosklerosis berasal dari bahasa Yunani, *athere*: akumulasi lipid dan *sclerosis*: penebalan. Atherosklerosis secara umum berarti penebalan tunika intima pada arteri yang disebabkan oleh endapan lemak sehingga menyebabkan penyempitan pembuluh darah (Libby, 1998). Atherosklerosis dapat menyebabkan infark pada daerah distal dikarenakan penurunan suplai oksigen dan nutrisi (Price dan Wilson, 1995).

Menurut Corwin (1997), atherosklerosis adalah suatu keadaan pada arteri besar dan kecil yang ditandai oleh penimbunan endapan lemak, trombosit, makrofag, dan sel-sel darah putih diseluruh kedalaman tunika intima (lapisan sel endotel) dan akhirnya ke tunika media (lapisan otot polos). Arteri yang sering terkena adalah arteri koroner, aorta, dan arteri cerebrum.

Atherogenesis atau produk *plaque* aterosklerotik, ditunjukkan sebagai proses terkumpulnya kolesterol dalam sirkulasi lipoprotein dengan waktu bertahun-tahun sehingga menghambat aliran darah di lumen. Bekuan darah kemudian terjadi, dan thrombus yang mengalami obliterasi berkembang di lumen.

Ketika proses ini terjadi di arteri koroner, hasilnya yaitu nekrosis jaringan *myocardial distal* dari arteri. Jika terjadi disirkulasi otak, hasilnya yaitu terjadi *stroke* (LaRosa, 2002).

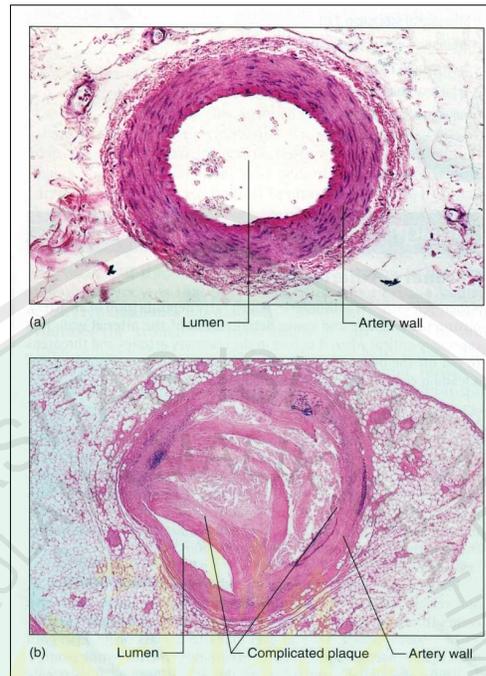
Peripheral Arterial Disease (PAD) hasil dari aterosklerosis yang berubah secara progresif dalam sirkulasi pada ekstremitas bawah. Di ekstremitas bawah, bagian utama dari *plaque* aterosklerotik berkembang pada posterior arteri besar dan yang predominan termasuk arteri bagian proksimal, percabangan arteri atau daerah spesifik yang mudah terjadi aterogenesis (Levy, 2002).

Proses terjadinya *plaque* aterosklerosis tidak hanya melalui reaksi inflamasi non spesifik melalui *T cell-mediated immune response*. Oksidasi LDL digolongkan dengan berbagai bentuk sitotoksik seperti *oxysterols*, *peroxides*, *lysophospholipids*, dan *aldehydes* yang menyebabkan rusaknya sel melalui respon inflamasi non spesifik. *T lymphocytes* diaktivasi oleh LDL teroksidasi. Proses inflamasi tidak hanya untuk membersihkan LDL teroksidasi tetapi juga membatasi efek inflamasi non spesifik (Ameli *et all*, 1996).

Langkah pertama dalam pembentukan aterosklerosis adalah cedera pada sel-sel endotel yang melapisi lumen arteri. Akibat cedera, integritas sel endotel terganggu dan permeabilitas sel-sel endotel terhadap berbagai bahan di dalam plasma meningkat sehingga bahan-bahan tersebut memiliki akses ke dalam arteri. Cedera pada sel-sel endotel mencetuskan reaksi peradangan dan imun, sehingga terjadi pelepasan peptida-peptida vasoaktif, penimbunan makrofag, penimbunan trombosit di luar dan di dalam arteri. Banyak produk peradangan yang merangsang proliferasi sel otot polos sehingga sel-sel otot polos tumbuh ke dalam

tunika intima. Kolesterol dan lemak plasma mendapat akses ke tunika intima karena permeabilitas lapisan endotel meningkat. Apabila cedera dan peradangan terus berlanjut, maka agregasi trombosit meningkat dan mulai terbentuk bekuan darah (trombus). Sebagian dinding pembuluh diganti oleh jaringan parut sehingga struktur dinding berubah. Hasil akhirnya adalah penimbunan kolesterol, penimbunan lemak, pembentukan jaringan parut, pembentukan bekuan yang berasal dari trombosit, dan proliferasi sel otot polos. Semua faktor ini menyebabkan berkurangnya garis tengah arteri dan peningkatan kekakuan arteri (Corwin, 1997).

Oksidasi kolesterol dan trigliserida menyebabkan pembentukan radikal bebas yang diketahui merusak sel-sel endotel (Corwin, 1997). Kolesterol oksida mampu menyebabkan timbulnya luka pada lapisan endothelium dan mendorong terbentuknya *plaque*. Kolesterol oksida juga diketahui bersifat atherogenik, angiotoksik, mutagenik dan menghambat biosintesa kolesterol. Kerusakan atau luka pada sel-sel endothelium ini menstimulasi timbulnya *plaque*, penebalan dinding pembuluh darah dan penyempitan penampang pembuluh darah (Ross, 1986).



Gambar 1.1 Histologi arteri: a. arteri normal, b. arteri terkena atherosclerosis (Saladin, 2004)

Faktor resiko aterosklerosis dapat dibagi dua yaitu faktor resiko yang dapat diubah dan yang tidak dapat diubah. Faktor resiko yang tidak dapat diubah yaitu jenis kelamin pria, riwayat keluarga, dan usia. Faktor resiko yang dapat diubah meliputi hiperkolesterolemia, level HDL rendah, hipertensi, merokok, inaktifitas fisik, obesitas, stres psikologis, diet tinggi lemak jenuh, oksidasi kolesterol, dan kalori (Libby, 1998).

## 2.3 Stres

### 2.3.1 Pengertian Stres dan Stresor

Taylor (1995) dalam Gunawan (2007: 13) mendeskripsikan stres sebagai pengalaman emosional negatif disertai perubahan reaksi biokimiawi, fisiologis,

kognitif dan perilaku yang bertujuan untuk mengubah atau menyesuaikan diri terhadap situasi yang menyebabkan stres. Stres didefinisikan sebagai ancaman akut terhadap homeostasis dari suatu organisme, dapat berupa fisik ataupun psikologis, yang menimbulkan respon adaptif untuk mempertahankan stabilitas kondisi internal dan keberlangsungan suatu organisme.

Dampak stres secara fisik dapat mengganggu homeostasis fisiologis seseorang. Tingginya tingkat stres berdampak pada berbagai gangguan kesehatan misalnya, depresi, insomnia, penyakit jantung, gangguan kulit, sakit kepala, dan gangguan saluran pencernaan (Medical Editorial, 2005).

Stres disebabkan oleh beberapa stresor, baik stresor fisik maupun stresor psikologis. Stresor adalah segala kejadian dan situasi yang membutuhkan perubahan tingkah laku dan adaptasi yang berbeda dari biasanya. Stresor fisik, merupakan stresor yang berpengaruh langsung terhadap tubuh, dapat berupa tuntutan kondisi lingkungan eksternal maupun internal fisiologis dari tubuh (Claris, 1998). Stresor fisik meliputi panas, dingin, radiasi ion, senyawa kimiawi, racun, api, listrik (Wilken, 2005). Meskipun stresor fisik bukan merupakan ancaman terhadap kehidupan dan kesehatan, tetapi ketidaknyamanan dan kebingungan dapat menyebabkan perubahan emosi yang akhirnya dapat mengganggu fungsi otak dan memperburuk kondisi stres (Claris, 1998).

Stresor psikologis hanya berupa informasi yang disampaikan ke otak tanpa ada kontak fisik secara langsung pada tubuh (Claris, 1998). Stresor psikologis menyebabkan terjadinya stres psikologis. Stresor psikologis ialah segala masalah yang menyebabkan perubahan kimiawi di dalam tubuh. Jika tidak dapat

mengatasinya dengan baik, dapat menyebabkan efek negatif baik pada kesehatan fisik maupun kesehatan mental. Stres psikologis bersumber kepada keadaan frustrasi, konflik, tekanan atau krisis yang diketahui dapat berpengaruh terhadap sistem imun tubuh (Maramis, 1986).

Dalam penelitian Rahmawati (2007), perlakuan yang diberikan antara stres fisik dengan renjatan listrik dan stres psikologis dengan paparan predator menunjukkan beda yang nyata. Stres psikologis dengan paparan predator terbukti lebih efektif terhadap distribusi tumour necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) pada gaster tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

### **2.3.2 Hubungan Stres dengan Atherosklerosis**

Ibnu Abbas dalam Mahmud (2007) mengatakan bahwa perasaan marah dan sedih memiliki potensi bahaya yang sama karena keduanya mengalir pada saluran yang sama. Sains membuktikan bahwa baik perasaan marah ataupun perasaan sedih, keduanya meningkatkan hormon yang diproduksi anak ginjal (*adrenalin*), dan keduanya menyebabkan tekanan darah naik (hipertensi).

Stres dapat merangsang hypothalamus dan hipofise untuk meningkatkan sekresi hormon kortikoid (aktifitas simpatis meningkat), yang dapat mempercepat proses aterosklerosis dan meningkatkan tekanan darah sehingga terjadi stroke perdarahan. Stress kronik dapat meningkatkan denyut jantung dan tekanan darah serta berperan dalam kerusakan dinding arteri (Thomas, 1995).

Tekanan darah yang tinggi diduga sebagai penyebab pembentukan aterosklerosis. Tekanan darah yang tinggi secara kronis menimbulkan gaya regang/ potong yang merobek lapisan endotel arteri dan arteriol. Gaya regang

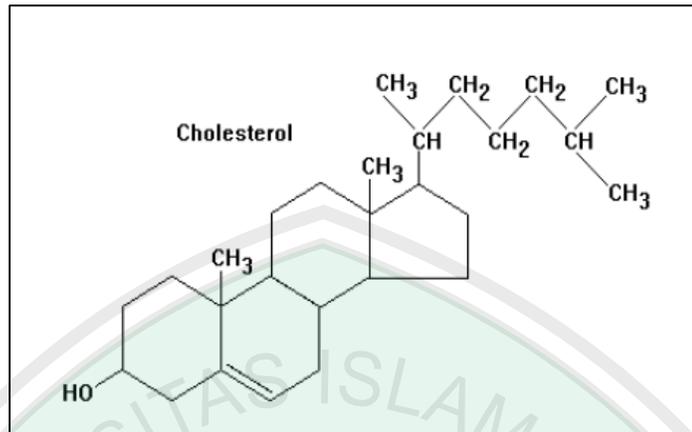
terutama timbul di tempat-tempat arteri bercabang (bifurkasi) atau membelok yaitu pada arteri koroner, aorta, dan arteri-arteri serebrum. Dengan robeknya lapisan endotel, maka timbul kerusakan yang berulang-ulang sehingga terjadi siklus peradangan, penimbunan sel darah putih dan trombosit, serta pembentukan bekuan. Setiap trombus yang terbentuk dapat terlepas dari arteri sehingga terjadi embolus di bagian hilir (Corwing, 1997).

## **2.4 Diet Atherogenik**

### **2.4.1 Kolesterol**

Kolesterol merupakan senyawa yang terdiri dari 27 atom karbon dan semua atom karbon pada kolesterol berasal dari asetil KoA. Pembentukan kolesterol melalui suatu proses yang terdiri dari beberapa langkah, antar lain: kondensasi dari 3 grup asetil memproduksi mevalonat, yaitu suatu senyawa yang terdiri dari 6 karbon, kemudian dekarboksilasi dari mevalonat mensintesis isoprenoid, dan enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk diubah menjadi kolesterol yang terdiri dari 27 atom karbon (Guyton, 1996).

Kolesterol adalah lemak berwarna kekuningan berbentuk seperti lilin yang diproduksi oleh tubuh, terutama di dalam hati (Heslet, 1996). Molekul kolesterol memiliki gugus polar pada bagian kepalanya yaitu gugus hidroksil pada posisi 3. Bagian yang lain merupakan struktur non polar yang relatif kaku. Struktur kimia kolesterol dapat dilihat pada Gambar 1.2.



Gambar 1.2 Struktur Kimia Kolesterol (Lehninger, 1990)

Kolesterol terdapat dalam diet semua orang dan diabsorpsi dengan lambat dari saluran cerna ke dalam limfe usus. Kolesterol larut dalam lemak tetapi sedikit larut dalam air, dan mampu membentuk ester dalam asam lemak. Hampir 70% kolesterol dalam lipoprotein plasma adalah dalam bentuk ester kolesterol (Guyton, 1994).

Murray (1997) menyatakan bahwa kolesterol disintesis dalam banyak jaringan dari asetil-KoA dan akhirnya dikeluarkan dari tubuh lewat empedu sebagai garam-garam kolesterol atau empedu. Kolesterol merupakan pra zat semua senyawa steroid dalam tubuh, seperti kortikosteroid, hormon seks, asam empedu, dan vitamin D. Kolesterol adalah hasil khas metabolisme hewan dan terdapat dalam makanan yang berasal dari hewan seperti telur, daging, hati dan otak. Kolesterol eksogen merupakan kolesterol yang diabsorpsi setiap hari dari saluran pencernaan, jumlah yang lebih besar dibentuk dalam sel tubuh yang disebut kolesterol endogen. Kolesterol endogen yang beredar dalam lipoprotein plasma dibentuk oleh hati, tetapi semua sel tubuh lain setidaknya membentuk

sedikit kolesterol yang sesuai dengan kenyataan bahwa banyak struktur membran dari seluruh sel sebagian disusun dari zat ini.

Kolesterol dan turunan esternya, dengan lemak berantai panjang adalah komponen penting dari lipoprotein plasma dan membran sel. Selain itu lipoprotein mengangkut kolesterol bebas dalam darah dimana unsur ini akan segera mengimbangi unsur kolesterol dalam lipoprotein lainnya dalam membran sel (Lehninger, 1990).

Menurut Muchtadi *et al.*, (1993), kolesterol diangkut oleh darah dalam bentuk terikat dalam lipoprotein plasma. Lipoprotein plasma meliputi :

1. Kilomikron

Pada jenis lipoprotein ini kandungan lemaknya tinggi, densitas rendah komposisi trigliserida tinggi, dan membawa sedikit protein. Kilomikron dibentuk dari triasilgliserol, kolesterol, protein dan berbagai lipid yang berasal dari makanan yang masuk usus halus. Pada peredaran kilomikron, triasilgliserol dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase menghasilkan residu yang kaya kolesterol disebut sisa kilomikron dan dibawa ke hati.

2. *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL)

VLDL merupakan senyawa lipoprotein yang berat jenisnya sangat rendah. Jenis lipoprotein ini memiliki kandungan lipid tinggi. Kira-kira 20% kolesterol terbuat dari lemak *endogenous* di hati. Di dalam tubuh senyawa ini difungsikan sebagai pengangkut trigliserida dari hati ke seluruh jaringan tubuh. Wirahadikusumah (1985), menjelaskan bahwa sisa kolesterol yang tidak diekskresikan dalam empedu akan bersatu dengan VLDL sehingga

menjadi LDL . Dengan bantuan enzim lipoprotein lipase, VLDL diubah menjadi IDL dan selanjutnya menjadi LDL.

### 3. *Low Density Lipoprotein (LDL)*

LDL merupakan senyawa lipoprotein yang berat jenisnya rendah. Lipoprotein ini membawa lemak dan mengandung kolesterol yang sangat tinggi, dibuat dari lemak endogenus di hati. LDL ini diperlukan tubuh untuk mengangkut kolesterol dari hati ke seluruh jaringan tubuh. LDL berinteraksi dengan reseptor pada membran sel membentuk kompleks LDL-reseptor. Kompleks LDL-reseptor masuk ke dalam sel melalui proses yang khas, yaitu dengan pengangkutan aktif atau dengan endositosis.

LDL merupakan kolesterol jahat karena memiliki sifat aterogenik (mudah melekat pada dinding sebelah dalam pembuluh darah dan mengurangi pembentukan reseptor LDL). Hal ini akan menyebabkan terjadinya kenaikan kadar kolesterol-LDL. Kelebihan kolesterol dalam pembuluh darah akan dikembalikan oleh HDL ke hati dan mengeluarkannya bersama empedu (Heslet, 1996).

4. *Intermediate density lipoprotein (IDL)* merupakan lipoprotein berdensitas antara.

### 5. *High density lipoprotein (HDL)*

HDL merupakan senyawa lipoprotein yang berat jenisnya tinggi. Membawa lemak total rendah, protein tinggi, dan dibuat dari lemak endogenus di hati. Kandungan kolesterol HDL lebih rendah dari LDL dan fungsinya sebagai pembuangan kolesterol maka HDL ini sering disebut kolesterol baik.

HDL ini digunakan untuk mengangkut kolesterol berlebihan dari seluruh jaringan tubuh untuk dibawa ke hati. Dengan demikian, HDL merupakan lipoprotein pembersih kelebihan kolesterol dalam jaringan. Kalau kadar HDL dalam darah cukup tinggi, terjadinya proses pengendapan lemak pada dinding pembuluh darah pun dapat dicegah. Kolesterol yang diangkut ke hati terutama berupa kolesterol yang akan dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan empedu dan hormon. Kandungan HDL dikatakan rendah jika kurang dari 35 mg% pada pria dan kurang dari 42 mg% pada wanita.

HDL dalam plasma darah akan mengikat kolesterol bebas maupun ester kolesterol dan mengangkutnya kembali ke hati. Selanjutnya, kolesterol yang terikat akan mengalami perombakan menjadi cadangan kolesterol untuk sintesis VLDL. Tingginya kadar HDL dalam darah akan mempercepat proses pengangkutan kolesterol ke hati, sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya penimbunan kolesterol dalam pembuluh darah (Wirahadikusumah, 1985).

#### **2.4.2 Hiperkolesterolemia**

Hiperkolesterolemia adalah suatu kondisi di mana jumlah koesterol dalam darah melebihi batas normalnya. Hiperkolesterolemia merupakan hasil dari meningkatnya produksi dan meningkatnya penggunaan LDL yang diketahui disebabkan oleh hiperkolesterolemia familial dan konsumsi diet tinggi kolesterol (Guyton, 1996).

Hiperkolesterolemia familial adalah suatu keadaan yang diakibatkan oleh kelainan genetik, LDL reseptor di hati kurang atau tidak ada. Familial

hiperkolesterolemia homozigot yang kekurangan fungsional reseptor LDL, memiliki LDL kolesterol plasma 3 sampai 5 kali lebih dari rata-rata. Sedangkan FH heterozigot adalah suatu yang lebih jarang dijumpai daripada FH homozigot yang memiliki fungsional LDL setengah dari normal dan plasma LDL kolesterol dua kali lipat dari rata-rata (Campbell, 2002).

Diet tinggi kolesterol memiliki efek yang serupa dengan hiperkolesterolemia familial, namun efeknya lebih lunak. Diet kolesterol yang melebihi batas memasuki sel-sel hati pada sisa-sisa kilomikron. Konsentrasi kolesterol intraseluler yang tinggi menekan pembentukan protein reseptor LDL. Kekurangan reseptor LDL pada permukaan sel hati mengakibatkan LDL di sirkulasi tinggi (Campbell, 2002).

Murray (1993) menyatakan hiperkolesterolemia, terutama fraksi LDL (*Low Density Lipoprotein*), disebut LDL adalah faktor resiko yang penting untuk terbentuknya atherosklerosis, dan secara luas dipercayai oleh ahli gizi jika diet tinggi lemak dapat meningkatkan level kolesterol plasma. Beberapa penelitian menerapkan prinsip ini untuk mendapatkan binatang coba yang hiperkolesterol.

Kolesterol dari diet diangkut ke jaringan oleh kilomikron sedangkan kolesterol yang sintesia sendiri oleh jaringan tubuh, khususnya oleh hepar diedarkan keseluruh tubuh melalui VLDL. Penumpukan kolesterol di jaringan dapat disebabkan oleh karena kolesterol yang dikirim oleh VLDL atau kolesterol eksogen melalui kilomikron (Guyton, 1996).

Hiperkolesterolemia merupakan faktor resiko penting terjadinya atherosklerosis. Diet yang berakibat peningkatan kadar kolestrol serum

merupakan cara klasik untuk menciptakan atherosclerosis pada sejumlah hewan (Murray, 1993).

#### 2.4.3 Hubungan Kolesterol dengan Atherosklerosis

Atherosklerosis sendiri merupakan pemicu dari berbagai penyakit mematikan seperti *myokard infark* dan stroke (CVD= *Cerebro Vascular Disease*). Kondisi hiperkolesterolemia merupakan faktor resiko secara tidak langsung terhadap beberapa macam penyakit mematikan (Godfrey, 1990).

Proses terjadinya atherosklerosis membutuhkan banyak faktor, salah satunya adalah kolesterol. Kolesterol merupakan salah satu hasil metabolisme lemak yang bisa berada dalam bentuk bebas maupun kolesterol terikat bersama trigliserida, fosfolipid, protein dalam bentuk LDL (*Low Density Lipoprotein*), VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), maupun HDL (*High Density Lipoprotein*). LDL merupakan sumber kolesterol terbesar bagi jaringan tubuh (Murray, 1993).

Pada pengidap atherosklerosis, pengendapan lemak yang disebut sel-sel buih ditemukan diseluruh kedalaman tunika intima meluas ke dalam tunika media. Kolesterol dan trigliserida dibawa di dalam darah terbungkus dalam protein pengangkut lemak yang disebut lipoprotein. Lipoprotein berdensitas tinggi (HDL) membawa lemak keluar sel untuk diuraikan dan diketahui bersifat protektif melawan atherosklerosis, sedangkan lipoprotein berdensitas rendah (LDL) dan lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL) membawa lemak keseluruhan tubuh termasuk sel endotel arteri. Lipoprotein merembes ke dalam sel akibatnya kolesterol dan trigliserida dilepaskan di dalam sel. Di dinding arteri, oksidasi

kolesterol dan trigliserida menyebabkan pembentukan radikal bebas yang diketahui merusak sel-sel endotel (Corwin, 1997).

Proses pembentukan *plaque* pada pembuluh darah adalah kerusakan endotel pembuluh darah karena berbagai hal yang sampai sekarang masih banyak dipertanyakan. Setelah beberapa waktu akan terjadi penumpukan kolesterol pada daerah tersebut membentuk *plaque* yang semakin lama semakin tebal dan akhirnya terjadi penyempitan pembuluh darah. Kondisi hiperkolesterolemia akan meningkatkan adhesi monosit pada endotel kemudian bermigrasi ke subendotel. Di subendotel monosit ini bersifat aktif seperti makrofag, sel-sel ini akan mengambil lemak hasil oksidasi LDL dan terjadilah penimbunan lemak yang menimbulkan atherosklerosis (Braunwald, 1992).

## **2.5 Stres Oksidatif**

### **2.5.1 Pengertian Stres Oksidatif**

Oksigen dapat menghilangkan elektron dari molekul lain dalam sel dan membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS). Substansi ini merupakan faktor yang berpengaruh dalam berbagai penyakit. ROS diatur oleh sistem pertahanan yang bergantung pada aktivitas enzim dan non zat non enzim. Ketidakseimbangan antara ROS dan sistem pertahanan tubuh dikenal dengan stres oksidatif (Anggraini, 2007).

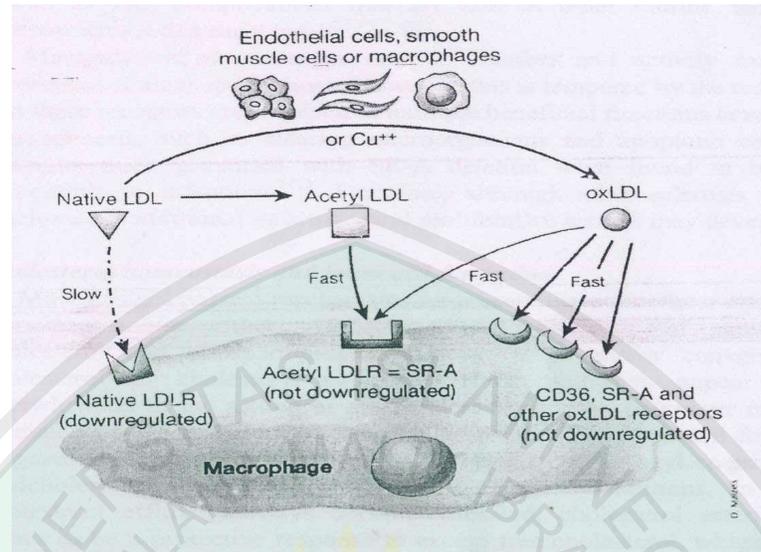
Menurut Indriyanti (2005), selain memproduksi energi mitokondria juga merupakan penghasil utama ROS yang berasal dari respirasi mitokondrial adalah terbentuknya elektron yang tidak berpasangan (radikal bebas). Interaksi antara

elektron yang tidak berpasangan dengan oksigen ( $O_2$ ) akan menghasilkan radikal peroksida ( $O_2^*$ ) yang merupakan ROS yang sangat reaktif. ROS bereaksi cepat dengan DNA, protein, dan lipid sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif.

### 2.5.2 Hubungan Stres Oksidatif dengan Aterosklerosis

Kemampuan produk oksidasi kolesterol dapat menimbulkan luka pada sel endotelium sebagai tahap awal pada proses aterosklerosis. Akumulasi kolesterol di dalam makrofag tidak akan terjadi bila kolesterol pada LDL masih dalam kondisi tidak teroksidasi. Banyaknya reseptor LDL pada makrofag dikendalikan oleh banyaknya LDL kolesterol. Bila kadar LDL kolesterol tinggi maka jumlah reseptor LDL pada *macrophage* akan berkurang dengan sendirinya (*down regulated*), sehingga tidak memungkinkan terjadinya akumulasi kolesterol dalam makrofag dan *foam cell* tidak terbentuk (Heinecke, 1987; Stenberg et al., 1989).

*Low Density Lipoprotein* (LDL) yang mengandung kolesterol yang sudah teroksidasi disebut *modified-Low Density Lipoprotein* (mLDL). Bila kolesterol dalam LDL sudah teroksidasi maka akan diinternalisasi oleh makrofag melalui reseptor yang jumlahnya tidak *down regulated*. Dengan demikian berapapun banyaknya mLDL semua akan diinternalisasi oleh makrofag, sehingga terjadilah penimbunan kolesterol yang sudah teroksidasi yang selanjutnya membentuk *foam cell* (Addis, 1990).



Gambar 1.3 Mekanisme ox-LDL yang diinternalisasi oleh makrofag (Bourassa dan Tardif, 2006)

Chait *et al* (1986) telah membuktikan bahwa proses perubahan LDL menjadi mLDL karena adanya keterlibatan radikal bebas ataupun superoksida. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa mLDL yang dihasilkan secara *in vitro* ternyata mengandung senyawa yang merupakan produk oksidasi kolesterol dalam jumlah yang tinggi. Bila mLDL yang dihasilkan secara *in vivo* juga mengandung produk oksidasi kolesterol dalam jumlah tinggi, maka kehadiran kolesterol oksidasi dapat digunakan untuk menjelaskan mengapa mLDL bersifat lebih toksik dari pada LDL biasa. Disamping itu mLDL bersifat juga memiliki kemampuan kemotaktik yang lebih besar dari pada LDL biasa. Salah satu sifat penting dari mLDL adalah kemampuannya untuk menarik monosit. Melekatnya beberapa monosit pada lapisan endothelium pembuluh darah akan membentuk plak (Steinberg *et al.*, 1989).

## 2.6 Patogenesis Atherosklerosis

Atherosklerosis merupakan penyakit yang kronis. Atherosklerosis timbul secara discontinue atau seperti bercak-bercak (*plaque*). Secara singkat, patogenesis terjadinya atherosklerosis dapat dijelaskan menurut Libby (1998) sebagai berikut:

1. Terjadi akumulasi partikel lipoprotein pada tunika intima. Hal ini dapat disebabkan oleh tingginya konsentrasi lipoprotein dalam darah terutama pada keadaan hiperkolesterolemia. Lipoprotein akan berikatan dengan matrik ekstraseluler, proteoglikan, dan terjadi oksidasi. LDL merupakan salah satu atherogenik lipoprotein.
2. Adesi lekosit. Pada hiperkolesterolemia, terjadi adhesi lekosit pada lumen pembuluh darah. Lekosit yang banyak ditemukan adalah monosit dan limfosit.
3. Sebagian lekosit bermigrasi ke tunika intima yang mungkin terjadi oleh adanya *chemoattractant factors*, termasuk endapan lipoprotein yang mengalami modifikasi.
4. Lekosit yang bermigrasi akan berdiferensiasi menjadi makrofag. Makrofag yang terbentuk akan melakukan endositosis partikel lipoprotein dan berubah menjadi lipid-laden *foam cells*.
5. Sebagian lipid-laden *foam cells* akan meninggalkan arteri sehingga berfungsi untuk membersihkan endapan lipoprotein. Tetapi sebagian makrofag akan mengalami apoptosis sehingga akan memperluas lesi tunika intima.

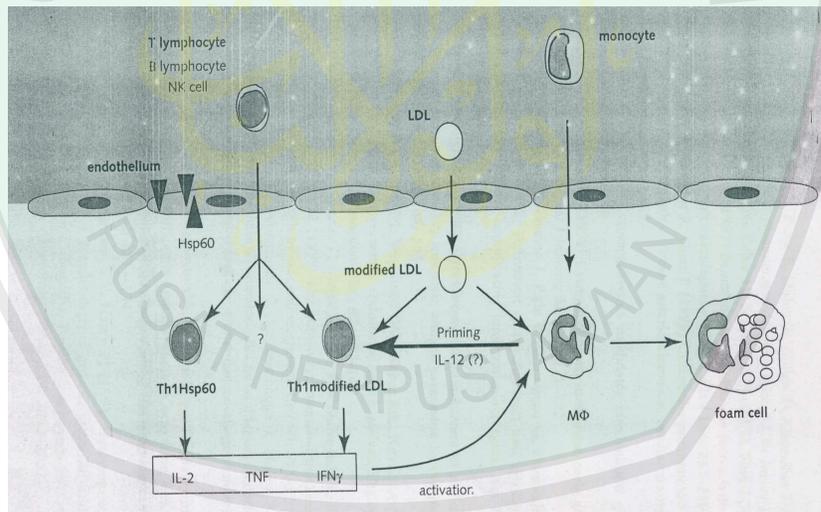
6. Tunika intima akan menebal dan diliputi oleh jaringan fibrosa dan menimbulkan *plaque* fibrosa.
7. Timbul ateroma atau kompleks *plaque* aterosklerotik yang terdiri atas lemak, jaringan fibrosa, kolagen, sel radang, debris seluler, kalsium, dan kapiler.
8. Terjadi perubahan degeneratif dinding kapiler.

### **2.7 Mekanisme sel imunokompeten dalam proses pembentukan plaque aterosklerosis**

Makrofag bekerja sebagai scavenger sel yang menangkap LDL teroksidasi melalui reseptor scavenger. Proses fagositosis LDL teroksidasi oleh inti, selanjutnya akan diikuti oleh serangkaian proses inflamasi yang melibatkan makrofag lain, dan T *lymphocytes*, B *lymphocytes* dan sel otot polos. Bila proses ini terjadi secara terus menerus pada akhirnya makrofag akan mengandung banyak lipid dan berubah menjadi *foam cell*. Secara lengkap mekanisme aktivasi sel imunokompeten pada tahap awal aterogenesis dapat dilihat pada gambar 3 (Nursamsu dan Kalim, 2000).

Pada tahap awal lesi atherosklerosis, T *lymphocytes* muncul untuk menguasai sel helper. Namun, tahap awal dalam pembentukan atherosclerosis selalu melibatkan infiltrasi dari arterial intima dengan sel Th1 untuk bereaktif dengan Hsp 65/60, sel endotelial dengan cepat meningkatkan pengeluaran darah dan sel Th1 segera merespon ox-LDL dengan proliferasi dan sekresi cytokine. Dalam perkembangan lesi atherosclerosis, makrofag mengalahkan sel T dan CD4<sup>+</sup>

sel T frekuensinya dua kali lebih banyak dibandingkan sel CD8<sup>+</sup>. Sel CD4<sup>+</sup> tampaknya melawan/ mengikat percepatan pembentukan lesi dengan peran serta dari sel atherogenik yaitu cytokine interferon- $\gamma$  (INF $\gamma$ ), yang merupakan produk dari Th1. Dengan demikian, ekspresi dari cytokine menyebabkan pembentukan plaque atherosklerotik yang diawali dengan kehadiran pro-inflamasi, dan sel T dengan bentuk Th1. Pada penderita hiperkolesterolemia yang sangat tinggi menimbulkan pembentukan atherosclerosis dimana terjadi penurunan sel T yang berakibat terjadi indikasi dalam adhesi inflamasi, system imun akan menjadi penengah yang merespon sel T dalam perkembangan lesi (Mehta, 2001).



Gambar 1.4 Aktivasi sel immunokompeten pada tahap awal aterogenesis (Mehta, 2001)

Sel T lymphocyte, sel B lymphocyte, dan sel NK menjadi pelaku utama dalam pembentukan lesi atherosklerotik. Pembentukan fatty streak dan pengembangan *plaque atherosclerosis* akibat hiperkolesterolemik apolipoprotein

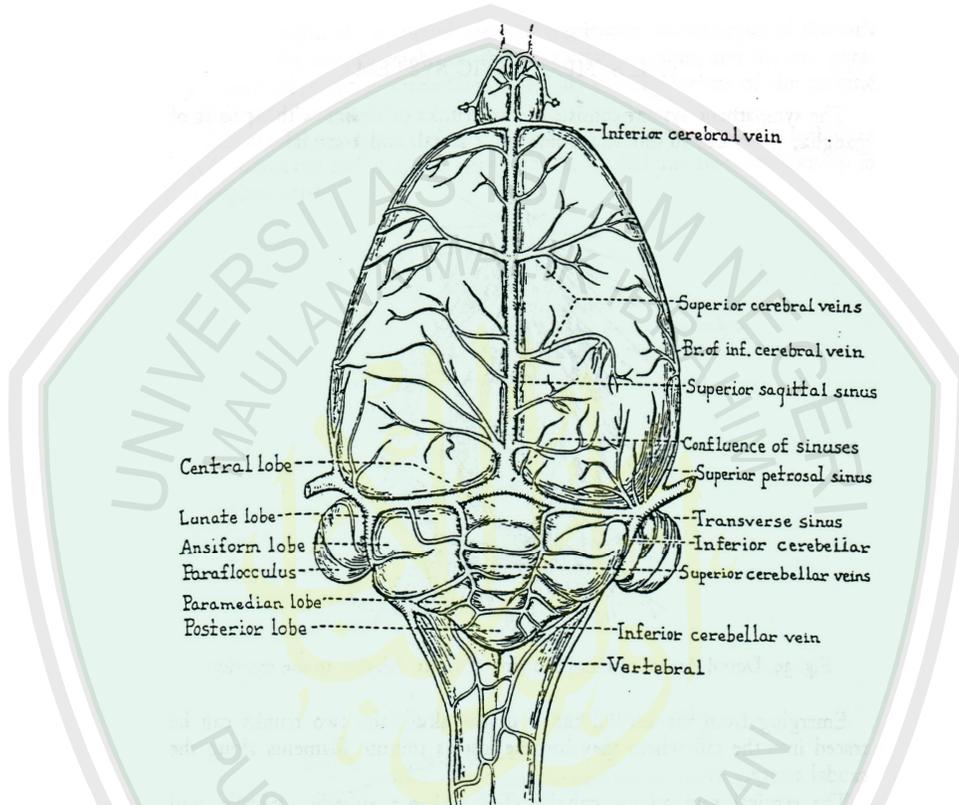
E dalam bentuk CD22<sup>+</sup> sel B, system imun tidak mampu merespon keterlibatan sel B dalam pembentukan plaque atherosclerosis. Antibodi sebagai pendeteksi dalam melawan lipid dan lipoprotein yang menekan plasma pada proses atherogenesis. Pada jaringan aorta, terjadi infiltrasi sel oleh sel NK menyebabkan luka pada sel injury dan perpecahan oleh pembengkakan pembuluh darah pada atherosklerotik dan akhirnya nampak lubang-lubang (Mehta, 2001).

## **2.8 Anatomi dan Histologi Pembuluh Darah Otak Tikus**

Otak diperdarahi oleh 4 pembuluh darah besar yang sepasang A. carotis interna dan A. Vertobralis yang di daerah basis cranii akan membentuk circulus Wallisi. A. carotis interna masuk ke dalam rongga tengkorak melalui canalis caroticus dan setinggi chiasma opticus akan bercabang menjadi A. cerebri media dan anterior, dan biasa disebut sistem anterior atau sistem karotis. Sistem karotis akan memperdarahi 2/3 bagian depan serebrum termasuk sebagian besar ganglia basalis dan capsula interna. Sedangkan a. vertebralis memasuki rongga tengkorak melalui foramen megnum dan bersatu di bagian ventral batang otak membentuk A. basilaris. Sistem ini biasa disebut sistem vertebrobasiler. Sistem ini memperdarahi cerebellum, batang otak, sebagian besar thalamus dan 1/3 bagian belakang cerebrum (Heimer, 1995).

Bentuk dan posisi anatomis pembuluh darah dalam rongga kranium berpengaruh dalam terjadinya proses aterombotik pada pembuluh darah tersebut. Lesi aterosklerotik mudah terjadi pada tempat percabangan dan belokan pembuluh darah, karena pada daerah-daerah tersebut aliran darah mengalami peningkatan

turbulensi dan penurunan shear stress sehingga endotel yang ada mudah terkoyak (Heimer, 1995).



Gambar 1.5 Anatomi Otak Tikus (*Rattus Norvegicus*) (Addison, 1942)

Secara histologis, dinding pembuluh darah terdiri dari 3 lapis yang berturut-turut dari dalam ke luar disebut tunika intima, media dan adventisia. Bagian tunika intima yang berhubungan dengan lumen pembuluh darah adalah sel endotel. Pada pembuluh darah yang lebih besar, sel-sel endotel ini dilapisi oleh jaringan ikat longgar yang disebut jaringan subendotel. Tunika media terdiri dari sel-sel otot polos dan jaringan ikat yang tersusun konsentris dikelilingi oleh

serabut kolagen dan elastik. Tunika media dipisahkan dari tunika intima oleh suatu membran elastis yang disebut lamina elastica interna, dan dari tunika adventitia oleh lamina elastica externa. Kedua lamina ini tersusun dari serabut elastis dimana celah antara serabut-serabut tersebut dapat dilewati oleh zat-zat kimia dan sel darah. Tunika adventisia terdiri dari jaringan ikat yang tersusun longitudinal dan mengandung sel-sel lemak, serabut saraf dan pembuluh darah kecil yang memperdarahi dinding pembuluh darah (disebut vasa vasorum). Sel-sel otot polos pembuluh darah tersusun melingkar konsentris di dalam tunika media dan masing-masing sel dikelilingi oleh membrana basalis, serat-serat kolagen dan proteoglikan (Heimer, 1995).

Arteri mempunyai dinding yang lebih tebal dibandingkan dengan vena yang setingkat karena mengandung tunika media yang lebih tebal, namun diameter vena pada umumnya lebih besar. Arteri pada susunan saraf pusat menyerupai vena dalam hal ketebalan dindingnya, namun mempunyai lamina elastica interna yang lebih tebal (Schlant, 1994).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang termasuk ke dalam penelitian deskriptif kuantitatif. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial atau *Completely Random Design* pola faktorial dengan 3 faktor dan 4 kali ulangan. Faktor pertama adalah paparan stres menggunakan predator yang terdiri dari 2 taraf perlakuan. Faktor kedua adalah pakan diet atherogenik (hiperkolesterol) yang terdiri dari 2 taraf perlakuan. Faktor ketiga adalah lama pemberian perlakuan yang terdiri dari 2 taraf perlakuan. Perlakuan dalam penelitian adalah hasil kombinasi antar faktor dari seluruh taraf perlakuan.

Faktor I adalah paparan stres predator, diantaranya:

St = paparan stres predator

Sh = tanpa paparan stres predator

Faktor II adalah pakan diet atherogenik (hiperkolesterol), diantaranya:

B = pakan normal

D = pakan diet atherogenik (hiperkolesterol)

Faktor III adalah lama perlakuan

L<sub>1</sub> = 4 minggu

L<sub>2</sub> = 8 minggu

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan antara stres predator dan diet hiperkolesterol

| Predator   | Pakan     | Lama              |                   |
|------------|-----------|-------------------|-------------------|
|            |           | 4 minggu          | 8 minggu          |
| St (Stres) | B (Biasa) | StBL <sub>1</sub> | StBL <sub>2</sub> |
|            | D (Diet)  | StDL <sub>1</sub> | StDL <sub>2</sub> |
| Sh (Sehat) | B (Biasa) | ShBL <sub>1</sub> | ShBL <sub>2</sub> |
|            | D (Diet)  | ShDL <sub>1</sub> | ShDL <sub>2</sub> |

### 3.2 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Pemberian paparan stres predator dan diet atherogenik selama 4 minggu dan 8 minggu.
2. Variabel Terikat : Jumlah *foam cell* (sel busa) pada arteri cerebral otak dan profil lipid serum darah.
3. Variabel Kendali : Jenis Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dari Galur Sprague Dawley, yang diberi pakan normal dan diberi minum PDAM.

### 3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan September 2009 di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

### 3.4 Populasi dan Sampel

Tikus (*Rattus norvegicus*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan Galur Sprague Dawley yang berumur 3 bulan dengan berat rata-rata 250-300 gram, dengan jumlah 32 ekor.

### 3.5 Estimasi Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan 8 macam perlakuan, maka jumlah binatang coba tikus (*Rattus norvegicus*) untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan rumus  $[(np-1)-(p-1)] \geq 16$  dengan  $n$  = jumlah sampel tiap perlakuan,  $p$  = jumlah perlakuan. Dari sejumlah sampel ini akan diuji dengan level signifikansi 80%.

$$[(8n-1)-(8-1)] \geq 16$$

$$(8n-1)-7 \geq 16$$

$$8n-1 \geq 23$$

$$8n \geq 24$$

$$n \geq 3$$

Dari rumus tersebut diperoleh jumlah binatang coba untuk masing-masing perlakuan adalah lebih dari sama dengan 3. Penelitian ini menggunakan 4 binatang coba untuk masing-masing perlakuan sampel.

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat dan Bahan Untuk Paparan Predator

- a. Kandang kucing
- b. Kucing jantan (2 ekor) dan kucing betina (2 ekor)

#### 3.6.2 Alat dan Bahan Untuk Pembuatan Bahan Diet

- a. Tempat pengaduk dan pengaduk
- b. Mortar
- c. Beaker glass 100 mL

- d. Pemanas
- e. Timbangan digital
- f. Konsentrat pakan ayam (Merk BR-2) produksi PT. Java Comfeed Indonesia, dengan komposisi hasil analisis oleh Anggorodi (1995) terinci sebagai berikut:

|                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| 1. Energi metabolit (Kkal/ kg) | : 3268,28 |
| 2. Bahan kering (%)            | : 87,62   |
| 3. Serat kasar (%)             | : 4,62    |
| 4. Protein (%)                 | : 19      |
| 5. Lemak (%)                   | : 7,46    |
| 6. Abu (%)                     | : 13,55   |
| 7. Kalsium /Ca (%)             | : 1,09    |
| 8. Fosfor /P (%)               | : 0,63    |

- g. *Pure Dutch Butter* merk Wijsman Brand, dengan komposisi sebagai berikut:

|   |               |
|---|---------------|
| 1. Lemak mentega (butterfat)                      | : 82,0% Min   |
| 2. Air (moisture)                                 | : 16% Max     |
| 3. Padatan susu tanpa lemak (non-fat milk solids) | : 2% Max      |
| 4. Garam (salt)                                   | : 1,1% Approx |

- h. Cholic Acid
- i. Air secukupnya

### 3.6.3 Alat dan Bahan Untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Kandang tikus

- b. Penutup kandang dari anyaman kawat
- c. Botol air
- d. Timbangan

#### **3.6.4 Alat dan Bahan Untuk Pengambilan Sampel Darah**

- a. Spluit Disposable 5 ml (Steril)
- b. Tempat penyimpanan sampel (Ependorf 1,5 ml)
- c. Kuvet
- d. Tabung reaksi
- e. Pipet tetes
- f. Mikropipet dan Tip
- g. Stiker dan alat tulis
- h. Ependorf
- i. Freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  untuk penyimpanan serum

#### **3.6.5 Alat dan Bahan Untuk Pemeriksaan Profil Lemak**

- a. Pipet mikro
- b. Sentrifuge
- c. Waterbath suhu  $37^{\circ}\text{C}$  untuk inkubasi serum selama 5-15 menit
- d. Blood analyzer
- e. Kit dan bahan pemeriksaan kadar Kolesterol total (DiaSys)
- f. Kit dan bahan pemeriksaan Trigliserida (DiaSys)

#### **3.6.6 Alat dan Bahan Untuk Hitung Sel Busa (*Foam Cell*)**

- a. Spluit Disposable 1 cc (Terumo)
- b. Kapas

- c. Kloroform 90%
- d. Alat bedah untuk pengambilan otak dan arteri cerebral
- e. Wadah tertutup untuk penyimpanan organ
- f. Alat pemotong arteri cerebral
- g. Gelas Obyek dan *Cover Slip*
- h. Pengecatan Oil red O (Propilen glikol, Oil red O, Mayer Hematoxylin, Aquades, Air pencuci, dan Glatin jelly)
- i. Pengecatan HE (*Haris Hematoxyline*, alkohol, amonium air, counter staining)

### **3.7 Cara Kerja**

#### **3.7.1 Persiapan Penelitian**

- a. Alat dan bahan penelitian dipersiapkan
- b. Bahan diet, kandang, dan alat untuk pemeliharaan hewan coba disiapkan
- c. Hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 2 minggu, pada ruangan bersuhu kamar (sekitar 22-25°C), bersiklus gelap terang  $\pm$  12 jam sebelum perlakuan dimulai.

#### **3.7.2 Paparan Stres Psikologis**

Perlakuan dilakukan dengan paparan predator kucing selama 4 minggu dan 8 minggu. Satu kelompok tikus yang terdiri dari 4 ekor tikus, dimasukkan ke dalam kandang kawat berukuran 90 x 50 x 50 cm. Kandang kawat yang telah berisi tikus, dimasukkan ke kandang kucing yang lebih besar untuk mendapatkan paparan predator. Paparan dilakukan pada malam hari selama 2 jam setiap hari.

### 3.7.3 Pembuatan Bahan Diet

Diet yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah diet atherogenik (hiperkolesterol). Kebutuhan pakan diet atherogenik untuk 16 ekor tikus (per ekor 5 gram) adalah sebagai berikut:

- a. Jagung Kuning : 79,944%
- b. Pure Dutch Butter : 48%
- c. BR-2 : 7,416%
- d. Cholic Acid : 0,48%
- e. Bungkil Kelapa : 104,16%

Cara pembuatan pakan diet atherogenik adalah:

- a. Timbang semua bahan sesuai dengan kebutuhan
- b. Panaskan *Pure Dutch Butter* sehigga menjadi minyak
- c. Campurkan Jagung kuning (lembut), BR-2, Cholic Acid, dan Bungkil kelapa (serbuk)
- d. Tuang *Pure Dutch Butter* yang sudah berupa minyak ke dalam campuran bahan dan aduk hingga rata.

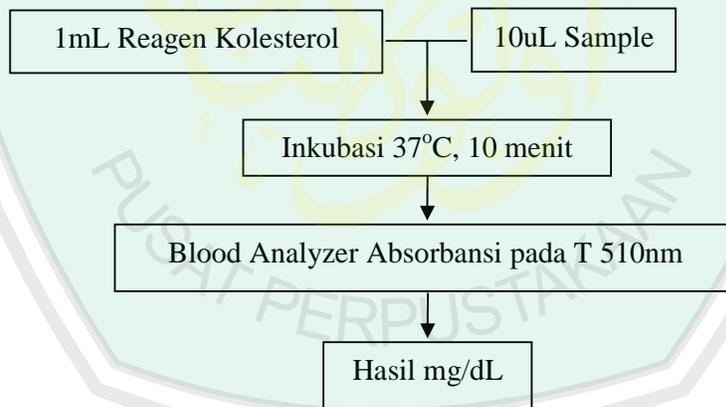
### 3.7.4 Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah diambil pada akhir percobaan dengan pembunuhan hewan coba setelah dibius dengan kloroform 90%. Pengambilan darah tikus dilakukan dengan menggunakan spuit melalui aorta. Sampel darah dimasukkan kedalam tabung reaksi tanpa antikoagulan untuk mendapatkan serumnya. Tabung reaksi yang berisi darah tanpa antikoagulan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1500-2000 rpm selama 15 menit.

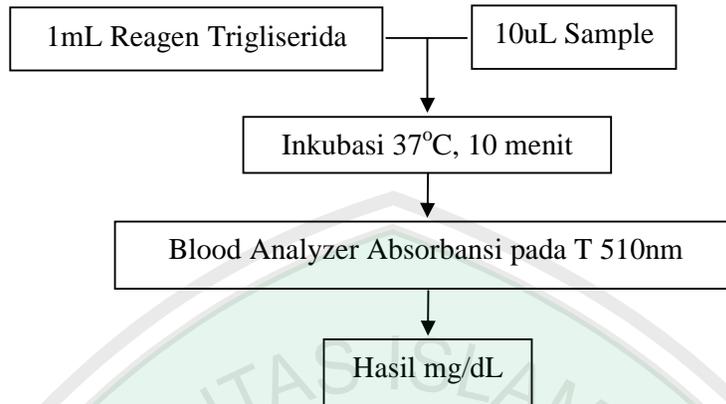
Cairan bening (serum) di atas sel-sel darah yang menggumpal selanjutnya diambil dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung ependorf. Kemudian dilakukan pengukuran kadar Kolesterol Total dan Triglicerida dengan menggunakan reagen (kit).

### 3.7.5 Pemeriksaan Profil Lemak

Profil lemak yang diperiksa adalah kadar Kolesterol Total, dan Triglicerida,. Kolesterol Total dan Triglicerida diperiksa secara langsung menggunakan metode Blood Analyzer dengan kit komersial (DiaSys). Metode pemeriksaan profil lemak terdeskripsi sebagai berikut sesuai keterangan dalam label kit pemeriksaan (DiaSys):



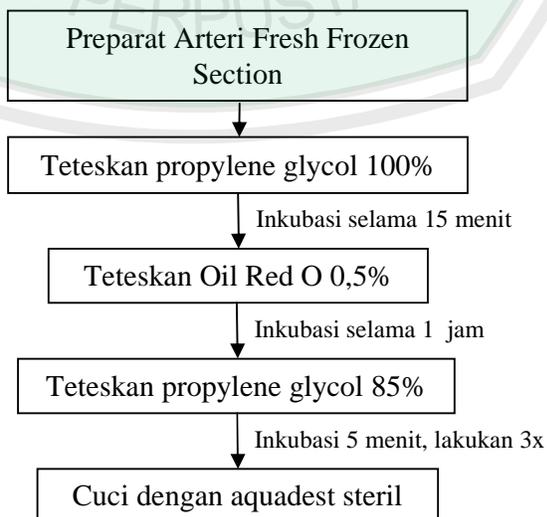
Gambar 3.1 Diagram alur pemeriksaan Kadar Kolesterol Total  
Kadar kolesterol total diperiksa dengan blood analyzer ( $\lambda$  510nm) setelah inkubasi (10 menit suhu 37°C) 1 mL reagen kolesterol dan 10 $\mu$ L sampel

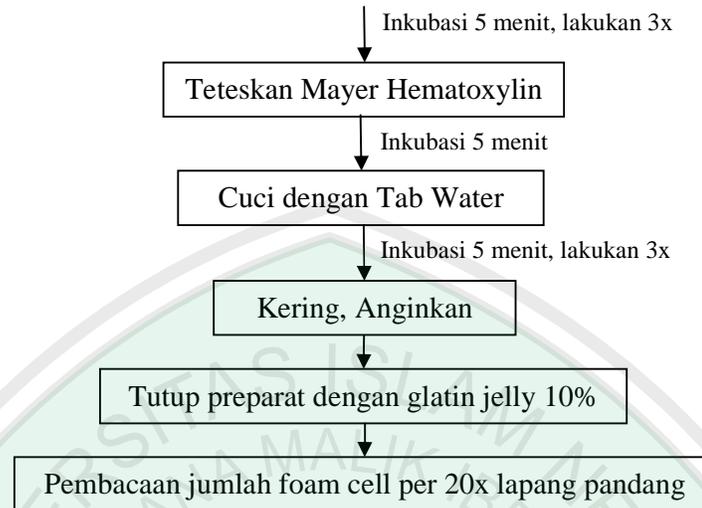


Gambar 3.2 Diagram alur pemeriksaan Kadar Triglicerida  
Kadar triglicerida diperiksa dengan Blood Analyzer ( $\lambda$  510nm) setelah inkubasi (10 menit suhu 37°C) 1 mL reagen triglicerida dan 10 $\mu$ L sampel.

### 3.7.6 Pemeriksaan pembentukan sel Busa/ *Foam Cell*

Arteri cerebral hewan coba diambil dan dipotong menjadi potongan jaringan setebal 5 $\mu$ m menggunakan mikrotom di Labolatorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi. Potongan kemudian ditempel pada kaca obyek dan disimpan dalam box preparat di almari es suhu -4°C sebelum dicat dengan Oil Red O dan HE. Diagram alur pengecatan jaringan arteri cerebral tergambar sebagai berikut:





Gambar 3.3 Diagram Alur Pengecatan Arteri dengan Oil Red O

Bahan yang perlu dipersiapkan untuk pengecatan dengan Oil Red O adalah sebagai berikut:

1. Propylene glycol 85%

Encerkan 85 mL propylene glycol 100% dalam 15 mL Disilat Water/ aquadest steril

2. Oil Red O 0,5%

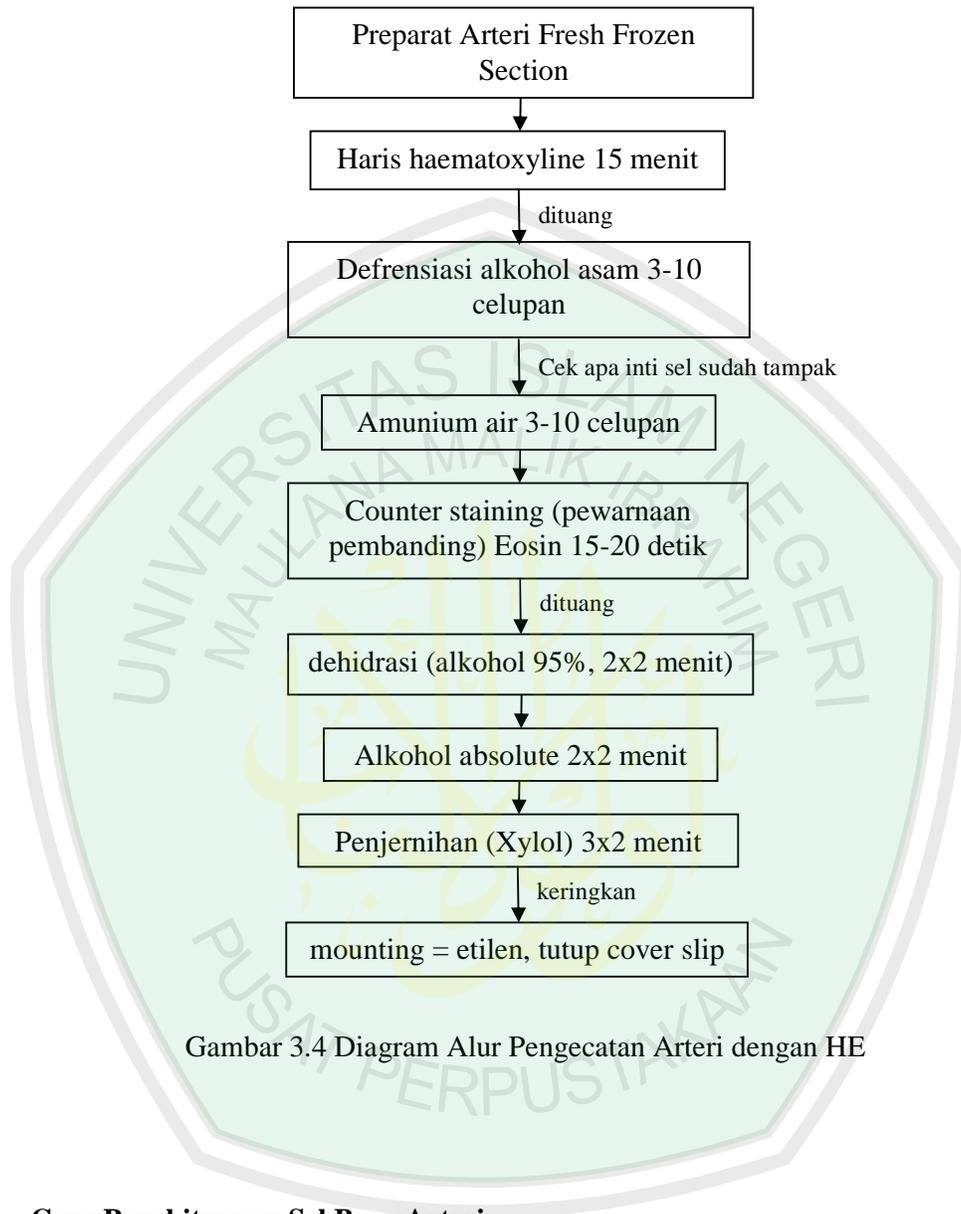
Larutkan 0,5 gram Oil Red O (padat) ke dalam 100 mL propylene glycol 100%

3. Mayer Hematoxyline

Encerkan 50  $\mu$ L Mayer Hematoxyline dalam 500 mL Tab Water/ Air biasa

4. Glatin jelly 10%

Larutkan 10 gram glatin (padat) ke dalam 100 mL Disilat Water/ aquadest steril sambil dipanaskan dalam air mendidih.



Gambar 3.4 Diagram Alur Pengecatan Arteri dengan HE

### Cara Penghitungan Sel Busa Arteri

Preparat yang sudah diwarnai dengan Oil red O dan HE diperiksa di bawah mikroskop cahaya pembesaran 100x, 400x, dan 1000x untuk mendapatkan arteri yang jelas. Perhitungan dilakukan oleh peneliti sendiri dengan pengulangan 4 kali setiap preparat.

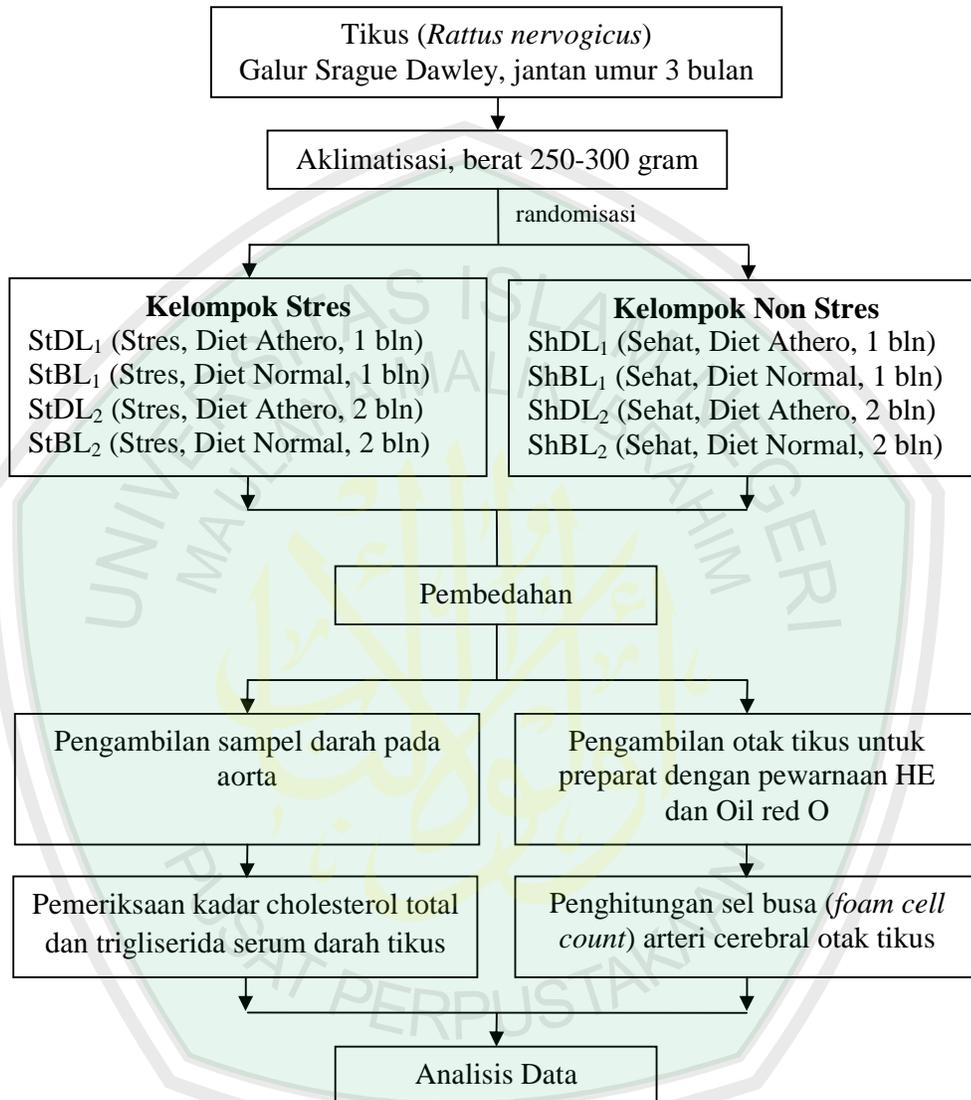
Sel busa arteri cerebral dengan pewarnaan Oil Red O akan nampak sebagai sel yang lebih besar dari sel di sekitarnya dengan inti sel berwarna gelap dan sitoplasma berwarna kemerahan karena lemak akan tercat merah dengan Oil Red O. Sel busa dengan pewarnaan HE akan nampak sebagai sel yang besar dengan inti berwarna biru dan tepi yang kosong karena lemak akan luntur/ lepas dengan pewarnaan HE sehingga nampak sebagai ruangan yang kosong diantara inti dengan membran sel pada masa yang berbeda (Triliana, 2005).

### 3.7.7 Analisis Data

Data dari pengukuran kadar kolesterol serum antara kelompok kontrol negatif, kelompok I, kelompok II, kelompok III, dan kelompok IV dianalisis dengan ANOVA (*Analysis Of Variance*) One Way. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan  $H_0$  ditolak maka akan di uji lanjut menggunakan uji BNT dengan taraf signifikansi 5 %. Untuk membandingkan antar perlakuan maka harus diuji dengan uji t tidak berpasangan, sehingga bisa terlihat masing-masing pengaruhnya terhadap

Data profil histopatologi ditentukan dengan pengamatan dibawah mikroskop dan diamati adanya pembentukan *foam cell* (sel busa) pada arteri cerebral di otak. Pengamatan ini dilakukan dengan menggunakan perbesaran 100 x, 400 x, dan 1000 x untuk mendapatkan gambaran arteri yang lebih jelas.

### 3.8 Diagram Alur Penelitian



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus (*Rattus nervogicus*)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan data yang diperoleh dari hasil perhitungan kadar Kolesterol serum darah tikus selama 4 minggu dan 8 minggu yang diberi perlakuan paparan stres menggunakan predator dan diet hiperkolesterol dapat dilihat pada lampiran 1. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf 5%. Berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA pada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol.

Tabel 4.1.1 Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total selama 4 minggu

| SK                            | db        | JK               | KT        | F Hitung | F 5%  |
|-------------------------------|-----------|------------------|-----------|----------|-------|
| Ulangan                       | 3         | 2412, 19         | 804, 06   |          | 0, 45 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (35852, 19)      | 11950, 73 | 6, 78    | 3, 86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 1701, 56         | 1701, 56  | 0, 96    | 5, 12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 32490, 06        | 32490, 06 | 18, 43*  | 5, 12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 1660, 57         | 1660, 57  | 0, 94    | 5, 12 |
| Galat                         | 9         | 15859, 06        | 1762, 11  |          |       |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>54123, 44</b> |           |          |       |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

Hasil tabel 4.1.1 diatas dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel (0.05)}$  pada perlakuan Pakan (P<sub>2</sub>) yaitu  $18,43 > 5,12$ , sehingga Hipotesis 0 (H<sub>0</sub>) ditolak dan Hipotesis 1 (H<sub>1</sub>) diterima yang artinya terdapat pengaruh pemberian diet

atherogenik (hiperkolesterol) terhadap kadar kolesterol serum darah tikus selama 4 minggu.

Perlakuan yang lebih efektif dalam pemberian diet etherogenik dapat dilihat menggunakan uji lanjut dengan Uji BNT 5% disajikan pada tabel 4.2.2 :

Tabel 4.1.2 Ringkasan uji BNT 5% pengaruh diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total selama 4 minggu

| Perlakuan Pakan   | Rata-Rata (mg/ dL) | Notasi |
|-------------------|--------------------|--------|
| <b>B (Normal)</b> | 162,5              | a      |
| <b>D (Diet)</b>   | 523                | b      |
| <b>BNT 5%</b>     | <b>67,07</b>       |        |

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Berdasarkan uji lanjut dengan BNT 5% pada tabel 4.2.2 menunjukkan bahwa perlakuan pakan normal (B) berbeda nyata dengan perlakuan pakan diet (D), dengan demikian pemberian pakan hiperkolesterol berpengaruh terhadap kadar kolesterol total serum darah selama 4 minggu. Terlihat bahwa pemberian pakan normal rata-rata 162,5 mg/dL lebih baik dari pada pakan hiperkolesterol yang dapat menaikkan kadar kolesterol total serum darah tikus rata-rata sebesar 523 mg/dL. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.1.1 berikut:



Gambar 4.1.1 Diagram nilai rerata perubahan kadar kolesterol total serum darah tikus dengan perlakuan hiperkolesterol 4 minggu

Tabel 4.1.3 Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total selama 8 minggu

| SK                            | db        | JK           | KT      | F Hitung | F 5% |
|-------------------------------|-----------|--------------|---------|----------|------|
| Ulangan                       | 3         | 10877,5      | 3625,83 |          | 0,45 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (48757,5)    | 16252,5 | 4,29     | 3,86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 2256,25      | 2256,25 | 0,59     | 5,12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 44521        | 44521   | 11,76*   | 5,12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 1980,25      | 1980,25 | 0,52     | 5,12 |
| Galat                         | 9         | 34075        | 3786,11 |          |      |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>93710</b> |         |          |      |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

Hasil tabel 4.1.1 diatas dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel (0,05)}$  pada perlakuan Pakan (P<sub>2</sub>) yaitu  $11,76 > 5,12$ , sehingga Hipotesis 0 (H<sub>0</sub>) ditolak dan Hipotesis 1 (H<sub>1</sub>) diterima yang artinya terdapat pengaruh pemberian diet atherogenik (hiperkolesterol) terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus selama 8 minggu.

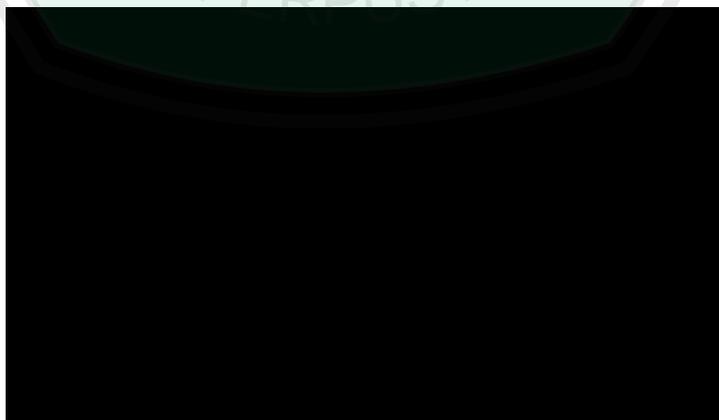
Perlakuan yang lebih efektif dalam pemberian diet etherogenik dapat dilihat menggunakan uji lanjut dengan Uji BNT 5% disajikan pada tabel 4.2.2 :

Tabel 4.1.4 Ringkasan uji BNT 5% pengaruh diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total selama 8 minggu

| Perlakuan Pakan   | Rata-Rata (mg/ dL) | Notasi |
|-------------------|--------------------|--------|
| <b>B (Normal)</b> | 239                | a      |
| <b>D (Diet)</b>   | 661                | b      |
| <b>BNT 5%</b>     | <b>98,33</b>       |        |

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Berdasarkan uji lanjut dengan BNT 5% pada tabel 4.2.2 menunjukkan bahwa perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan D, dengan demikian pemberian pakan hiperkolesterol berpengaruh terhadap kadar kolesterol total serum darah selama 8 minggu. Terlihat bahwa pemberian pakan normal rata-rata 239 mg/dL lebih baik dari pada pakan hiperkolesterol yang dapat menaikkan kadar kolesterol total serum darah tikus rata-rata sebesar 661 mg/dL. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.1.2 berikut:



Gambar 4.1.2 Diagram nilai rerata perubahan kadar kolesterol total serum darah tikus dengan perlakuan hiperkolesterol 8 minggu

Perlakuan lama 4 minggu dan 8 minggu dibandingkan dengan uji t tidak berpasangan untuk melihat perbandingan perlakuan lama pemberian diet hiperkolesterol terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus. Hasil perhitungan uji t secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 1. Dari hasil uji t tersebut menunjukkan bahwa  $t_{hitung} > t_{table (0,05)}$  yaitu  $2,94 > 1,697$ , sehingga  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti selisih rata-rata diet 4 minggu < selisih rata-rata diet 8 minggu.

Pada penelitian tentang pengaruh lama stres dan diet atherogenik ini menggunakan hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) jantan, Galur Sprague Dawley, umur 4-5 bulan, berat rata-rata 250-300 gram, karena memiliki hormon estrogen dalam jumlah yang sedikit. Telah diketahui bahwa hormon estrogen berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah (Ganong, 1983). Tikus jantan mempunyai kadar kolesterol yang tidak terpengaruh variasi hormon (Sitepoe, 1992). Selama penelitian, tikus putih mengalami kenaikan berat badan (Tabel 4.1.5), hal ini menunjukkan bahwa tikus masih dalam masa pertumbuhan dan perkembangan yang aktif.

Tabel 4.1.5 Berat Badan Tikus selama penelitian

| Perlakuan | Berat badan (gram) | Ulangan |     |     |     | Rerata |
|-----------|--------------------|---------|-----|-----|-----|--------|
|           |                    | I       | II  | III | IV  |        |
| StBL      | 4 minggu           | 280     | 260 | 250 | 240 | 257,5  |
|           | 8 minggu           | 350     | 300 | 320 | 320 | 322,5  |
| StDL      | 4 minggu           | 320     | 300 | 290 | 250 | 290    |
|           | 8 minggu           | 350     | 330 | 380 | 300 | 340    |
| ShBL      | 4 minggu           | 270     | 260 | 250 | 240 | 255    |
|           | 8 minggu           | 300     | 290 | 320 | 330 | 310    |
| ShDL      | 4 minggu           | 300     | 290 | 280 | 240 | 277,5  |
|           | 8 minggu           | 300     | 330 | 300 | 330 | 315    |

Naiknya kadar kolesterol total serum pada perlakuan DL<sub>1</sub> dan DL<sub>2</sub> dapat disebabkan oleh pemberian pakan kolesterol. Hasil penelitian Hardiningsih *et al.*, (2004) menyatakan bahwa pemberian pakan hiperkolesterol dapat meningkatkan bobot badan tikus Wistar dan kadar kolesterol serum darah. Kebutuhan pakan kolesterol yang diberikan pada penelitian ini adalah *butter* sebesar 20% dan *cholic acid* 0,2% (lampiran 6) selama 4 dan 8 minggu, dapat meningkatkan kadar kolesterol serum darah tikus. Penelitian ini menunjukkan kadar kolesterol serum darah pada perlakuan BL<sub>1</sub>, BL<sub>2</sub>, DL<sub>1</sub> dan DL<sub>2</sub> berturut-turut adalah 162,5, 293, 523, dan 661 mg/dL. Pada penelitian Setiawati (2000), pemberian *cholic acid* 0,2 %, kolesterol 2 %, dan minyak babi 5 % dapat meningkatkan kadar kolesterol serum darah tikus. Hal tersebut telah dibuktikan pada mencit oleh penelitian Dachriyanus *et al* (2007) bahwa mencit yang diberi diet lemak jenuh (MDLT) meningkatkan kadar kolesterol, trigliserida, dan LDLnya dibandingkan tikus yang hanya diberi pakan normal.

Jumlah energi metabolisme pada pakan hiperkolesterol nilainya sama dengan pakan normal (lampiran 6), karena energi berpengaruh terhadap kadar kolesterol serum darah. Konsumsi energi yang lebih rendah menyebabkan asetil-KoA yang diperoleh untuk pembentukan kolesterol sedikit dan berakibat pula pada menurunnya LDL, total kolesterol pada serum. Kenyataan ini sejalan dengan Sitepoe (1993) yang menyatakan bahwa penurunan kolesterol darah dapat dilakukan dengan pengurangan jumlah energi yang dikonsumsi. Penelitian ini lebih ditekankan pada kenaikan kadar kolesterol hanya dipengaruhi oleh diet hiperkolesterol bukan karena tingginya energi pada pakan diet.

Diet yang mengandung lemak jenuh dan kolesterol akan dapat meningkatkan kadar kolesterol serum. Diet lemak jenuh dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol darah sebesar 15-25%. Hal ini disebabkan peningkatan penimbunan lemak, yang menimbulkan peningkatan jumlah asetil-KoA dalam sel hati untuk menghasilkan kolesterol (Guyton, 1994).

Sintesis kolesterol berlangsung dalam sitoplasma dan mikrosom yang berasal dari dua grup karbon asetat asetil Ko-A (King, 2001). Peningkatan konsentrasi kolesterol menghambat salah satu enzim penting untuk pembentukan kolesterol endogen, dengan demikian menimbulkan sistem pengaturan umpan balik intrinsik untuk mengatur konsentrasi plasma. Akibatnya konsentrasi kolesterol plasma biasanya tidak berubah naik atau turun lebih dari 15% dengan mengubah jumlah kolesterol dalam diet, walaupun kolesterol yang ekstrim dalam diet mungkin dapat mempengaruhi kadarnya kurang lebih 30% (Guyton, 1994).

#### **4.2 Pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida serum darah tikus (*Rattus nervogicus*)**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan data yang diperoleh dari hasil perhitungan kadar Trigliserida serum darah tikus selama 4 minggu dan 8 minggu yang diberi perlakuan paparan stres predator dan diet hiperkolesterol dapat dilihat pada lampiran 1. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf 5%. Berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA pada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida.

Tabel 4.2.1 Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida 4 minggu

| SK                            | db        | JK              | KT      | F Hitung | F 5% |
|-------------------------------|-----------|-----------------|---------|----------|------|
| Ulangan                       | 3         | 5836,25         | 1945,42 |          | 0,61 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (22175,25)      | 7391,75 | 2,32     | 3,86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 3906,25         | 3906,25 | 1,22     | 5,12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 16900           | 16900   | 5,29*    | 5,12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 1369            | 1369    | 0,43     | 5,12 |
| Galat                         | 9         | 28728,25        | 3192,03 |          |      |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>56739,75</b> |         |          |      |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

Hasil tabel 4.1.1 diatas dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel (0,05)}$  pada perlakuan Pakan (P<sub>2</sub>) yaitu  $5,29 > 5,12$ , sehingga Hipotesis 0 (H<sub>0</sub>) ditolak dan Hipotesis 1 (H<sub>1</sub>) diterima yang artinya terdapat pengaruh pemberian diet atherogenik (hiperkolesterol) terhadap kadar trigliserida serum darah tikus selama 4 minggu.

Perlakuan yang lebih efektif dalam pemberian diet etherogenik dapat dilihat menggunakan uji lanjut dengan Uji BNT 5% disajikan pada tabel 4.2.2 :

Tabel 4.2.2 Ringkasan uji BNT 5% pengaruh diet atherogenik terhadap kadar trigliserida selama 4 minggu

| Perlakuan Pakan   | Rata-Rata (mg/ dL) | Notasi |
|-------------------|--------------------|--------|
| <b>B (Normal)</b> | 650,5              | a      |
| <b>D (Diet)</b>   | 910,5              | b      |
| <b>BNT 5%</b>     | <b>67,07</b>       |        |

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT 5%.

Berdasarkan uji lanjut dengan BNT 5% pada tabel 4.2.2 menunjukkan bahwa perlakuan pakan normal (B) berbeda nyata dengan perlakuan pakan diet

(D), dengan demikian pemberian pakan hiperkolesterol berpengaruh terhadap trigliserida serum darah selama 4 minggu. Terlihat bahwa pemberian pakan normal rata-rata 650,5 mg/dL lebih baik dari pada pakan hiperkolesterol yang dapat menaikkan kadar kolesterol serum darah tikus rata-rata sebesar 910,5 mg/dL. Hal ini dapat dilihat pada gambar 4.2.1 berikut:



Gambar 4.2.1 Diagram nilai rerata perubahan kadar trigliserida serum darah tikus dengan perlakuan hiperkolesterol 4 minggu

Tabel 4.2.3 Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida 8 minggu

| SK                            | db        | JK            | KT       | F Hitung | F 5%  |
|-------------------------------|-----------|---------------|----------|----------|-------|
| Ulangan                       | 3         | 6364,5        | 2121,5   |          | 0, 18 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (47126,5)     | 15708,83 | 1,41     | 3, 86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 21170,25      | 21170,25 | 1,89     | 5, 12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 25760,25      | 25760,25 | 2,31     | 5, 12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 196           | 196      | 0,02     | 5, 12 |
| Galat                         | 9         | 100525        | 11169,44 |          |       |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>154016</b> |          |          |       |

Hasil tabel 4.1.1 diatas dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} < F_{tabel (0.05)}$  pada semua perlakuan, sehingga Hipotesis 0 ( $H_0$ ) diterima dan Hipotesis 1 ( $H_1$ ) ditolak yang artinya tidak ada pengaruh pemberian diet atherogenik (hiperkolesterol) terhadap kadar trigliserida serum darah tikus selama 8 minggu, akan tetapi kadarnya cenderung naik dari perlakuan 4 minggu.

Perlakuan lama 4 minggu dan 8 minggu dibandingkan dengan uji t tidak berpasangan untuk melihat perbandingan perlakuan lama pemberian diet hiperkolesterol terhadap kadar trigliserida serum darah tikus. Hasil perhitungan uji t secara lengkap dapat dilihat pada lampiran 1. Dari hasil uji t tersebut menunjukkan bahwa  $t_{hitung} > t_{tabel (0.05)}$  yaitu  $1,96 > 1,69$ , sehingga  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti selisih rata-rata diet 4 minggu  $<$  selisih rata-rata diet 8 minggu.

Boorman *et al.*, (1992) dan Xiccato (1998) dalam Susandari (2004) menyatakan bahwa trigliserida di dalam tubuh dapat berasal dari makanan (trigliserida eksogen) dan sintesis didalam tubuh (trigliserida endogen). Trigliserida eksogen bersumber dari konsumsi lemak. Semakin tinggi konsumsi lemak, kadar trigliserida darah semakin tinggi. Analisis varians pada penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh stres dan diet atherogenik berpengaruh terhadap kadar trigliserida darah pada lama 4 minggu, yaitu dengan jumlah pada perlakuan pakan normal (B) sebesar 650,5 mg/dL dan pada perlakuan pakan diet (D) sebesar 910,5 mg/dL.

Pada hasil perhitungan Analisis varians kadar trigliserida serum darah lama 8 minggu tidak terdapat pengaruh nyata, akan tetapi kadar trigliseridanya

cenderung lebih tinggi dibandingkan pada lama 4 minggu. Susandari (2004) menyatakan kadar trigliserida darah juga dipengaruhi oleh kecukupan energi. Apabila konsumsi energi tidak mencukupi, ternak akan membongkar cadangan energi (dalam bentuk trigliserida). Pada penelitian ini lemak yang digunakan untuk pakan diet hiperkolesterol adalah lemak hewani yang bertujuan untuk mengoptimalkan kadar kolesterol serum darah tikus. Dachriyanus *et al.* (2007) menjelaskan lemak sapi mengandung lemak jenuh sterol yang kaya kandungan kolesterol, sedangkan lemak nabati (minyak kelapa sawit) mengandung trigliserida. Trigliserida yang masuk dalam makanan diemulsikan oleh asam empedu terlebih dahulu, kemudian diserap oleh usus halus. Di pankreas terdapat dua enzim yaitu enzim lipase dan fosfolipase A<sub>2</sub>, enzim lipase menghidrolisis trigliserida menjadi 1,2-digliserida dan 2-gliserida, sedangkan enzim fosfolipase A<sub>2</sub> menghidrolisis fosfolipid menjadi asam lemak dan lysosofosfolipid.

Semua produk yang dihasilkan dipindahkan ke sel epitelial usus dimana di tempat ini trigliserida disintesis kembali. Trigliserida ini bersama dengan protein, fosfolipid, dan kolesterol ester bergabung membentuk kilomikron. Trigliserida yang terdapat dalam kilomikron ini akan dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase menjadi asam lemak dan gliserol dimana asam lemak akan memasuki sel-sel jaringan, sebagian akan diubah menjadi energi dan sebagian lagi akan dioksidasi menjadi asetil-CoA yang merupakan prekursor pembentuk kolesterol (Dachriyanus *et al.*, 2007).

#### 4.3 Pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus (*Rattus nervogicus*)

Pada perlakuan stres dan diet hiperkolesterol dengan lama 4 minggu terhadap pembentukan sel busa (*foam cell*) pada arteri cerebral masih belum terbentuk dikarenakan pembentukan *foam cell* terjadi pada tahap kronis. Penelitian terdahulu Wahyudi (2002), menunjukkan bahwa pemberian diet atherogenik berpengaruh terhadap perubahan morfologi pada sel-sel di otak berupa degenerasi lemak pada minggu ke-10.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan data yang diperoleh dari hasil perhitungan jumlah *foam cell* arteri cerebral tikus selama 8 minggu yang diberi perlakuan paparan stres predator dan diet hiperkolesterol dapat dilihat pada lampiran 1. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf 5%. Berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA pada pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap jumlah *foam cell* arteri cerebral.

Tabel 4.3.1 Ringkasan ANOVA pengaruh lama stres dan diet atherogenik terhadap jumlah *foam cell* arteri cerebral

| SK                            | db        | JK              | KT      | F Hitung | F 5%  |
|-------------------------------|-----------|-----------------|---------|----------|-------|
| Ulangan                       | 3         | 61, 69          | 20, 56  |          | 0, 33 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (629, 19)       | 209, 73 | 3, 40    | 3, 63 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 85, 56          | 85, 56  | 1, 38    | 5, 12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 75, 44          | 75, 44  | 1, 22    | 5, 12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 468, 19         | 468, 19 | 7, 71*   | 5, 12 |
| Galat                         | 9         | 555, 06         | 61, 67  |          |       |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>1875, 13</b> |         |          |       |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

Hasil tabel 4.3.1 diatas dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel (0.05)}$  pada perlakuan interaksi predator dan pakan (PP) yaitu  $7,71 > 5,12$ , sehingga Hipotesis 0 ( $H_0$ ) ditolak dan Hipotesis 1 ( $H_1$ ) diterima yang artinya terdapat pengaruh lama stres dan diet atherogenik (hiperkolesterol) terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus.

Data yang telah disajikan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh antara interaksi lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan sel busa (*foam cell*) arteri cerebral otak tikus selama 4 dan 8 minggu. Penyakit atherosclerosis dapat disebabkan oleh gizi yang tidak benar, khususnya oleh kandungan lemak, kolesterol, dan trigliserida dalam darah. Peningkatan kolesterol dalam darah merupakan faktor utama kemungkinan terjadinya atherosclerosis, sedangkan pengaruh trigliserida masih belum tentu (Winarno, 2004).



Gambar 4.3.1 Diagram rerata jumlah *foam cell* arteri cerebral otak tikus lama 8 minggu

Berdasarkan diagram diatas pada perlakuan StDL<sub>2</sub> mempunyai jumlah yang tertinggi yaitu 22 buah *foam cell* yang sudah terbentuk. Pernyataan tersebut berarti terdapat interaksi proses paparan stres dengan diet hiperkolesterol yang diberikan terhadap jumlah sel busa (*foam cell*).

Korteks adrenal yang merupakan bagian dari kelenjar adrenal (disebelah ginjal) dapat bereaksi terhadap stres. Stimulus yang mencekam menyebabkan hypothalamus mensekresikan hormon pembebas yang merangsang pituitari anterior untuk mensekresi hormon tropi ACTH. Ketika mencapai target melalui aliran darah, ACTH merangsang sel-sel korteks adrenal untuk mensintesis dan mensekresi keluarga steroid yaitu hormon kortikosteroid/ glukokortikoid yang dapat mempercepat proses aterosklerosis dengan menimbulkan reaksi peradangan (Campbell, 2004). Reaksi peradangan pada lapisan endotel ini ketika didukung dengan oksidasi LDL akibat kolesterol dalam darah naik, maka mempermudah proses pembentukan *foam cell*.

Thomas (1995) menyatakan bahwa kadar kolesterol dan lemak lain yang tinggi akan disertai resiko terjadinya penyakit pembuluh darah. Kolesterol yang berikatan dengan LDL beredar bebas dalam darah, yang kadang-kadang mengendap dalam pembuluh darah sehingga menyebabkan penyempitan atau kalsifikasi pembuluh darah (aterosklerosis). Selain kolesterol, trigliserida juga mempunyai efek tidak langsung pada aterosklerosis berupa memperburuk transport oksigen, merangsang agregasi trombosit dan pembentukan mikrotrombus, menyebabkan disfungsi endotel, serta menurunkan kadar HDL.

Hiperkolesterol dapat menyebabkan adanya produksi ROS yang tinggi pada stres oksidatif yang berakibat cedera pada struktur membran, protein dan DNA. Stres oksidatif merupakan implikasi utama dalam proses aterosklerosis dengan merusak lipid, sehingga terjadi oksidasi LDL yang menjadi kontribusi dalam disfungsi endotelial yaitu dengan mengurangi endothelial NOS (eNOS) yang akhirnya terjadi adhesi molekul (Bourassa, 2006 dan Mehta, 2001)..

Akumulasi kolesterol di dalam makrofag tidak akan terjadi bila kolesterol pada LDL masih dalam kondisi tidak teroksidasi. Bila kolesterol dalam LDL sudah teroksidasi (mLDL) maka akan diinternalisasi oleh makrofag melalui reseptor yang jumlahnya tidak sedikit. Dengan demikian berapapun banyaknya mLDL semua akan diinternalisasi oleh makrofag, sehingga terjadilah penimbunan kolesterol yang sudah teroksidasi yang selanjutnya membentuk *foam cell* (Addis, 1990).

Steinberg *et al* (1989) telah membuktikan bahwa proses perubahan LDL menjadi mLDL karena adanya keterlibatan radikal bebas ataupun superoksida. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa mLDL yang dihasilkan secara *in vitro* ternyata mengandung senyawa yang merupakan produk oksidasi kolesterol dalam jumlah yang tinggi. Bila mLDL yang dihasilkan secara *in vivo* juga mengandung produk oksidasi kolesterol dalam jumlah tinggi, maka kehadiran kolesterol oksidasi dapat digunakan untuk menjelaskan mengapa mLDL bersifat lebih toksik dari pada LDL biasa. Disamping itu mLDL bersifat juga memiliki kemampuan kemotaktik yang lebih besar dari pada LDL biasa. Salah satu sifat penting dari mLDL adalah kemampuannya untuk menarik monosit.

Majid (2007) menyatakan ketika monosit berdiferensiasi menjadi makrofag dan mengambil LDL teroksidasi yang bersifat lebih atherogenik dibanding LDL. Makrofag ini kemudian membentuk sel busa. LDL teroksidasi menyebabkan kematian sel endotel dan menghasilkan respons inflamasi.

Dalimartha (2002), menambahkan bahwa timbulnya aterosklerosis berawal dari tingginya kadar kolesterol LDL akibat kurangnya pembentukan reseptor LDL sebagai akibat kelainan genetik seperti hiperkolesterolemia familial atau jenuhnya reseptor LDL sehubungan dengan konsumsi makanan yang terlalu banyak mengandung kolesterol tinggi. Peningkatan kadar kolesterol LDL di dalam darah akan mengakibatkan metabolisme kolesterol terganggu sehingga terjadi pembentukan lapisan lemak (*fatty streak*). Lapisan lemak ini awalnya tipis, belum menyumbat pembuluh darah. Selanjutnya terjadi proses proliferaatif sehingga terbentuk kerak berserat atau *fibrous plak*. Bila sel endotel pembuluh darah arteri di bawahnya terkoyak akibat berbagai faktor maka trombosit akan menempel pada dinding arteri yang rusak. Interaksi antara trombosit dengan sel endotel yang rusak akan merangsang pertumbuhan (*proliferasi*) jaringan ikat pada dinding arteri yang disebut plak aterosklerotik atau ateroma.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemberian diet atherogenik memberikan pengaruh terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus (*Rattus norvegicus*), tetapi tidak signifikan pada paparan stres predator terhadap kolesterol total serum darah. Uji lanjut dengan uji t tidak berpasangan menunjukkan  $t_{hitung} > t_{table(0.05)}$  pada perlakuan lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar kolesterol total serum darah tikus. Pada kadar trigliserida serum darah menunjukkan beda nyata antara interaksi stres dan diet atherogenik pada lama pemberian 4 minggu, sedangkan pada lama 8 minggu menunjukkan tidak ada signifikansi antara perlakuan stres dan diet hiperkolesterol. Uji lanjut dengan uji t tidak berpasangan menunjukkan  $t_{hitung} > t_{table(0.05)}$  pada perlakuan lama stres dan diet atherogenik terhadap kadar trigliserida serum darah tikus. Pada parameter pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus menunjukkan signifikansi antara paparan stres dan diet etherogenik.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut penambahan lama paparan stres dan diet atherogenik, karena pada penelitian yang telah dilakukan kenaikan kadar kolesterol, trigliserida serum, dan pembentukan *foam cell* masih menunjukkan sedikit perubahan dibandingkan dengan yang normal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addis, P.B. and Park, S.W. *Role of Lipid Oxidation Products in Atherosclerosis*. In: *Food Toxicology*, Scanlan, R.A., Taylor, S.L (eds), New York: Marcel Dekker Inc.
- Ameli et all. 1996. *Effect of Immunization With Homologous LDL and Oxidized LDL on Early Atherosclerosis in Hypercholesterolemic Rabbits*. Los Angeles: Division of Cardiology and Department of Medicine Cedar-Sinai Medical Center and UCLA School of Medicine.
- Anggorodi, H.R. 1995. *Nutrisi Aneka Ternak Unggas*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Angraini, Sisca. 2007. *Stress Oxidative*. <http://www.ptcombipharm.co.id>. Diakses tanggal 20 Juni 2009.
- Anna, Anastasia. 2006. *Pengetahuan tentang Pencegahan Stroke pada Klien yang Mempunyai Faktor Risiko Terserang Stroke di Poli Penyakit Dalam Rumah Sakit Umum Daerah Garut*. Dalam Jurnal Lembaga Penelitian. Padjadjaran: Universitas Padjadjaran.
- Az-Zabidi, Imam. 1997. *Ringkasan Shahih Al-Bukhari*. Bandung: Mizan.
- Bevelander, Gerrit and Ramaley, Judith. A. 1998. *Dasar-Dasar Histology Edisi 8*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Bourassa, Martial G. dan Tardif, Jean-Claude. 2006. *Antioxidants and Cardiovascular Disease, Second Edition*. United States of America: Springer Science + Business Media Inc.
- Braunwald. 1992. *Heart Disease a Text Book of Cardiovascular Disease, Vol 2*. W.B Saundeers: United States.
- Claris. 1998. *Leader's manual for Combat Stress Control: Combat Stress Behaviors*. Field Manual No. 22-51. <http://www.brooksidepress.org>. Diakses tanggal 21 April 2009.
- Campbell, Neill. 2004. *Biologi, Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.

- Chait, A., Heinecke, J.W., Hiramatsu, K., Baker, L., and Rosen, H. 1986. *Superoxide Mediated Modification of LDL by Cell of The Arterial Wall*. Atherosclerosis.
- Corwin, Elizabeth J. 1997. *Patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Dachriyanus *et al.* 2007. *Uji Efek  $\alpha$ -Mangostin terhadap Kadar Kolesterol Total, Trigliserida, Kolesterol HDL, dan Kolesterol Darah Mencit Putih Jantan serta Penentuan Lethal Dosis 50 ( $Ld_{50}$ )*. Dalam Jurnal Sains Teknologi Farmasi. Andalas: Universitas Andalas.
- Dalimartha, S. 2002. *36 Resep Tumbuhan Obat Untuk Menurunkan Kadar Kolesterol*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Davison, Gerald C., *et all.* 2006. *Psikologi Abnormal, Edisi ke-9*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Ganong, W.F. 1995. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi ke-17. Penerjemah Widjajakusumah, M. Dj. Jakarta: EGC.
- Gunawan, Bambang. 2007. *Stres dan Sistem Imun Tubuh: Suatu Pendekatan Psikoneuroimunologi*. Dalam Jurnal Cermin Dunia Kedokteran No. 154. Yogyakarta: Sub Bagian Alergi Imunologi, Bagian Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.
- Godfrey, Martin. 1990. *The Hyperlipidaemia*. USA: Kluwer Academic Publisher.
- Ghoffar, Abdul. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir, Jilid 3*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Gurr, M.I. 1992. *Role of Fats in Food and Nutrition*. London: Elsevier Applied Science.
- Guyton, A.C. 1994. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Bagian III, Edisi 7*. Jakarta: EGC.
- Guyton. A. C, Hall JE. 1996. *Text Book of Medical and Physiology. 9nd ed.* Philadelphia, USA: W.B. Saunders.

- Ghoffar, Abdul. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir, Jilid 3*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Hacke, W. 1997. *Management of Acute Ischemic Stroke – Is There a Concensus*. *Cerebrovasc Dis.7 (Suppl) : 2-6*.
- Heimer L. 1995. *The Human Brain and Spinal Cord, Fynctional Neuroanatomy and Dissection Guide*. New York: Springer.
- Heinecke, J. 1987. *Free Radical Modification of Lowdensity Liporoteins: Mechanisms and Biological Consequences*. *Free Radical Biol. Med.*
- Heslet, L. 1996. *Kolesterol*. Terjemahan Anton Adiwijoto. Jakarta : PT. Kesaint Blanc Indah.
- Indriyanti, 2005. *Peran Asam Lemak Bebas, Stres oksidatif dan Keadaan Inflamasi Terhadap Kejadian Resistensi Insulin*. *Forum Diagnosticom Prodia*.
- Intelihealth. 2004. *Stress And Your Gastrointestinal Tract*. <http://db.intelihealth.com:9047/IH/ihtIH>. Diakses tanggal 10 Mei 2009.
- Kasim, Ernawati *et all*. 2006. *Use of Local Isolate of Monascus Purpureus For Reducing Blood Cholesterol In Sprague Dawley Rat*. Bogor: Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).
- Kusumawati, Diah. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- LaRosa. J. C. 2002. *Chemoprevention of Coronary Atherosclerosis: The Roles Lipid Intervention*. A Position paper if The American Council on Science and Health. <http://www.medscape.com/viewarticle/430061>. Diakses tanggal 21 April 2009.
- Lehninger, A.L. 1990. *Dasar-dasar Biokimia Jilid I*. Alih Bahasa Magy Thenawidjaya. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Libby. P. 1998. *Atherosclerosis Harrison's Principal of Internal Medicine*. New York: Mc graw Hill Companies, Inc.

- Mahmud, Mahir Hasan. 2007. *Mukjizat Kedokteran Nabi*. Jakarta: Qultum Media.
- Majid, Abdul. 2007. *Penyakit Jantung Koroner: Patofisiologi, Pencegahan, dan Pengobatan Terkini*. Dalam Jurnal Bidang Ilmu Fisiologi pada Fakultas Kedokteran. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Maramis. W F. 1986. *Catatan Ilmu Kedokteran Jiwa*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Medical Editorial. 2005. *Stres and Health*. <http://www.stress-dan-health.com/index.php3/medicaleditorialbroad>. Diakses tanggal 10 Mei 2009.
- Mehta, Jay L. 2001. *Inflammatory and Infectious Basis of Atherosclerosis*. United States of America: Birkhauser Verlag.
- Muchtadi, D; N. S. Palupi; dan M. Astawa. 1993. *Metabolisme Zat Gizi : Sumber, Fungsi, dan Kebutuhan Bagi Tubuh Manusia*. Jakarta : Pustaka Sinar Harapan.
- Murray, Robert K, *et all*. 1993. *Harper's Biochemistry, 23rd Ed*. USA: Prentice Hall International Inc.
- Murray, Robert K. *et all*. 1997. *Biokimia Harper*. Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Nurhidayat. 2004. *Pengaruh Pemberian Pakan Hiperkolesterolemia Terhadap Bobot Badan Tikus Putih Wistar yang Diberi Bakteri Asam Laktat*. Dalam Jurnal Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan. Semarang: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
- Nursamsu dan Kalim. 2000. *New Paradigm in The Pathogenesis of Atherosclerosis: An Autoimmune Disease*. Malang: Internal Medicine Departement. Medical Faculty of Barwijaya.
- Peng, S-K., Taylor, B., Hill, J.C., and Morin, R. J. 1995. *Cholesterol Oxidation Derivates and Arterial Endothelial Damage*. Atherosclerosis.
- Pratanu, Sunoto. 1995. *Regresi Aterosklerosis*. Dalam Jurnal Cermin Dunia Kedokteran No. 102. Surabaya: Lab-UPF Ilmu Penyakit Jantung Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

- Price, S. A. Wilson Lorraine. 1995. *Patologi Fisiologi Jilid I*. Jakarta: EGC.
- Rahmawati, Anyta. 2007. Pengaruh Stres Psikologis dan Stress Fisik Terhadap Distribusi Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ) Pada Gaster Tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar. *Tugas Akhir* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya.
- Rambe, Aldy Safruddin. 2003. *Kadar Lipoprotein (a) Pada Penderita Stroke Iskemik Fase Akut dan Pada Non Stroke*. Program Studi Ilmu Penyakit Saraf: Fakultas Kedokteran USU.
- Ross, R. 1986. *The Pathogenesis of Atherosclerosis Update*. New Engl. J.Med.
- Rossidy, Imron. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dalam Pesspektif Al-Qur'an*. Malang: UIN Press.
- Saladin, Kenneth S. 2004. *Anatomy & Physiology The Unity of Form and Function Third Edition*. New York: Higher Education.
- Schlant RC. 1994. *Hurst's The Heart, Arteries and Veins. 8th ed*. New York: McGraw Hill.
- Setiawati, Dessy. 2000. Efek Penambahan Bulungbuni (*Caulerpa racemosa*) pada Kadar Kolesterol Serum Tikus (*Rattus norvegicus* strain wistar) yang Mendapat Diet Hiperkolesterolemia. *Skripsi* tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Sitepoe, M. 1993. *Kolesterol Fobia dan Keterkaitannya dengan Penyakit Jantung*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Steinberg, D., Parthasarathy, S., Carew, T.E., Khoo, J.C., and Witztum, J.L. 1989. *Modifications of Low-Density Lipoprotein That Increase Its Atherogenicity*. New Engl. J.Med.
- Susandari, Lucy. *Body Fat Composition of Rabbit Fed Pelleted Diet with Various Levels of Lysine*. Dalam Jurnal Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Suyono, Slamet. *Masalah diabetes di Indonesia*. Dalam: Syaifoellah Noer. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I, Edisi Ketiga. 1996. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

Suyono, Slamet. *Hiperlipidemia*. Dalam: Syaifoellah Noer. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I, Edisi Ketiga. 1996. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

Triliana, Rahma. 2005. Pengaruh Terapi Suplementasi Sterol Tanaman (Fitosterol) Pada Profil Lemak, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pascadiet Atherogenik. *Tesis Tidak Diterbitkan*. Malang: Program Pascasarjana Universitas Brawijaya.

Thomas D.J. 1995. *Stroke dan Pencegahannya*. Jakarta: Arcan.

Wahyudi, Juni Teguh. 2002. Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Gambaran Histopatologi Cerebrum *Rattus novergicus* strain Wistar dengan Diet Atherogenik. *Tugas Akhir tidak diterbitkan*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Wilken, T. 2005. *A Time for Healing-Understanding Stress*. [www.SynEARTH.net](http://www.SynEARTH.net). Diakses tanggal 05 Mei 2009.

Winarno. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Wirahadikusumah. 1985. *Biokimia Metabolisme Karbohidrat dan Lipid*. Bandung : ITB.

Yung, Jess. R. *et all*. 1991. *Periphenal Vascular Disease*. St. Louis: Mosby Year Book.

Lampiran 1. Data uji Kolesterol serum darah Tikus (*Rattus norvegicus*)  
dengan berbagai perlakuan

1. Perlakuan 4 minggu

Tabel 1.1 Hasil uji kadar kolesterol serum.

| Perlakuan     |            | Ulangan (mg/ dL) |            |            |            | Total       | Rata-Rata |
|---------------|------------|------------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|
| Predator      | Pakan      | I                | II         | III        | IV         |             |           |
| St<br>(Stres) | B (Normal) | 77               | 23         | 15         | 48         | 163         | 40,75     |
|               | D (Diet)   | 77               | 230        | 150        | 148        | 605         | 151,25    |
| Sh<br>(Sehat) | B (Normal) | 33               | 66         | 25         | 38         | 162         | 40,5      |
|               | D (Diet)   | 159              | 96         | 87         | 99         | 441         | 110,25    |
| <b>Total</b>  |            | <b>346</b>       | <b>415</b> | <b>277</b> | <b>333</b> | <b>1371</b> |           |

Menghitung JK:

$$\begin{aligned} \text{a. FK} &= \frac{(\sum X)^2}{r \times n} \\ &= \frac{(1371)^2}{16} \\ &= 117477,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. JK Total Percobaan} &= \sum X^2 - \text{FK} \\ &= (77^2 + 23^2 + 15^2 + 48^2 + 77^2 + 230^2 + 150^2 + 148^2 + 33^2 + 66^2 + 25^2 + 38^2 + 159^2 + 96^2 + 87^2 + 99^2) - 117477,56 \\ &= 54123,44 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. JK Ulangan} &= \frac{(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{346^2 + 415^2 + 277^2 + 333^2}{4} - 117477,56 \\ &= 2412,19 \end{aligned}$$

## d. JK Perlakuan Kombinasi

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(163^2 + 605^2 + 162^2 + 441^2)}{n} - FK \\
 &= \frac{613319}{4} - 117477,56 \\
 &= 35852,19
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{e. JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK Ulangan} \\
 &= 54123,44 - 35852,19 - 2412,19 \\
 &= 15859,06
 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan kombinasi harus diuraikan menjadi komponennya (JK Predator dan JK Pakan) dan JK Interaksi Predator dan Pakan. Untuk dapat menghitung JK Predator, JK Pakan, dan JK Interaksi, maka dibuat daftar dwi kasta antara faktor Predator dan Pakan.

Tabel 1.2 Presentase kadar kolesterol serum antara predator dan pakan

| Predator<br>(P <sub>1</sub> ) | Pakan (P <sub>2</sub> ) |          | Σ Predator<br>(P <sub>1</sub> ) | Rerata       |
|-------------------------------|-------------------------|----------|---------------------------------|--------------|
|                               | B (Normal)              | D (Diet) |                                 |              |
| Stres (St)                    | 163                     | 605      | 768                             | 384          |
| Sehat (Sh)                    | 162                     | 441      | 603                             | 301,5        |
| Σ Pakan (P <sub>2</sub> )     | 325                     | 1046     | 1371                            |              |
| <b>Rerata</b>                 | 162,5                   | 523      |                                 | <b>685,5</b> |

$$\begin{aligned}
 \text{f. JK Predator (P}_1\text{)} &= \frac{768^2 + 603^2}{\text{Taraf P}_2 \times \text{ulangan}} - FK \\
 &= \frac{953433}{2 \times 4} - 117477,56 \\
 &= 1701,56
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{g. JK Pakan (P}_2\text{)} &= \frac{325^2 + 1046^2}{\text{Taraf P}_1 \times \text{ulangan}} - FK \\
 &= \frac{1199741}{2 \times 4} - 117477,56 \\
 &= 32490,06
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{h. JK P}_1\text{P}_2 &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK P}_1 - \text{JK P}_2 \\
 &= 35852,19 - 1701,56 - 32490,06 \\
 &= 1660,57
 \end{aligned}$$

Tabel 1.3 Analisis Ragam

| SK                            | db        | JK              | KT       | F Hitung | F 5% |
|-------------------------------|-----------|-----------------|----------|----------|------|
| Ulangan                       | 3         | 2412,19         | 804,06   |          | 0,45 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (35852,19)      | 11950,73 | 6,78     | 3,86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 1701,56         | 1701,56  | 0,96     | 5,12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 32490,06        | 32490,06 | 18,43*   | 5,12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 1660,57         | 1660,57  | 0,94     | 5,12 |
| Galat                         | 9         | 15859,06        | 1762,11  |          |      |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>54123,44</b> |          |          |      |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

i. Uji Lanjut

Menguji dengan Uji BNT dengan taraf 5 % untuk Pakan :

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{0,05} &= t_{0,05(\text{db galat})} \frac{\sqrt{2} \text{ KT Galat}}{\text{Ulangan}} \\
 &= 2,26 \frac{\sqrt{2} \times 1762,11}{4} \\
 &= 67,07
 \end{aligned}$$

Tabel 1.4 Notasi BNT 5% untuk Pakan

| Perlakuan Pakan   | Rata-Rata (mg/ dL) | Notasi |
|-------------------|--------------------|--------|
| <b>B (Normal)</b> | 162,5              | a      |
| <b>D (Diet)</b>   | 523                | b      |
| <b>BNT 5%</b>     | <b>67,07</b>       |        |

Jadi, pemberian pakan normal lebih baik daripada pemberian diet hiperkolesterol selama 4 minggu yang dapat menaikkan kadar kolesterol total serum darah tikus (*Rattus norvegicus*).

## 2. Perlakuan 8 minggu

Tabel 2.1 Hasil uji kadar kolesterol serum.

| Perlakuan     |            | Ulangan (mg/ dL) |            |            |            | Total       | Rata-Rata |
|---------------|------------|------------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|
| Predator      | Pakan      | I                | II         | III        | IV         |             |           |
| St<br>(Stres) | B (Normal) | 79               | 46         | 51         | 66         | 242         | 60,5      |
|               | D (Diet)   | 76               | 250        | 240        | 187        | 753         | 188,25    |
| Sh<br>(Sehat) | B (Normal) | 64               | 86         | 49         | 37         | 236         | 58,75     |
|               | D (Diet)   | 190              | 244        | 72         | 63         | 569         | 142,25    |
| <b>Total</b>  |            | <b>409</b>       | <b>626</b> | <b>412</b> | <b>353</b> | <b>1800</b> |           |

Menghitung JK:

$$\begin{aligned}
 \text{a. } FK &= \frac{(\sum X)^2}{r \times n} \\
 &= \frac{(1800)^2}{16} \\
 &= 202500
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. } JK \text{ Total Percobaan} &= \sum X^2 - FK \\
 &= (79^2 + 46^2 + 51^2 + 66^2 + 76^2 + 250^2 + 240^2 + 187^2 + \\
 &\quad 64^2 + 86^2 + 49^2 + 37^2 + 190^2 + 244^2 + 72^2 + 63^2) - \\
 &\quad 202500 \\
 &= 93710
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. } JK \text{ Ulangan} &= \frac{(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{409^2 + 626^2 + 412^2 + 353^2}{4} - 202500 \\
 &= 10877,5
 \end{aligned}$$

d. JK Perlakuan Kombinasi

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(242^2 + 753^2 + 236^2 + 569^2)}{n} - FK \\
 &= \frac{1005030}{4} - 202500 \\
 &= 48757,5
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{e. JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK Ulangan} \\
 &= 93710 - 48757,5 - 10877,5 \\
 &= 34075
 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan kombinasi harus diuraikan menjadi komponennya (JK Predator dan JK Pakan) dan JK Interaksi Predator dan Pakan. Untuk dapat menghitung JK Predator, JK Pakan, dan JK Interaksi, maka dibuat daftar dwi kasta antara faktor Predator dan Pakan.

Tabel 2.2 Presentase kadar kolesterol serum antara predator dan pakan

| Predator (P <sub>1</sub> )     | Pakan (P <sub>2</sub> ) |          | Σ Predator (P <sub>1</sub> ) | Rerata     |
|--------------------------------|-------------------------|----------|------------------------------|------------|
|                                | B (Normal)              | D (Diet) |                              |            |
| Stres (St)                     | 242                     | 753      | 995                          | 497,5      |
| Sehat (Sh)                     | 236                     | 569      | 805                          | 402,5      |
| <b>Σ Pakan (P<sub>2</sub>)</b> | 478                     | 1322     | <b>1800</b>                  |            |
| <b>Rerata</b>                  | 239                     | 661      |                              | <b>900</b> |

$$\begin{aligned}
 \text{f. JK Predator (P}_1\text{)} &= \frac{995^2 + 805^2}{\text{Taraf P}_2 \times \text{ulangan}} - \text{FK} \\
 &= \frac{1638050}{2 \times 4} - 202500 \\
 &= 2256,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{g. JK Pakan (P}_2\text{)} &= \frac{478^2 + 1322^2}{\text{Taraf P}_1 \times \text{ulangan}} - \text{FK} \\
 &= \frac{1976168}{2 \times 4} - 202500 \\
 &= 44521
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{h. JK P}_1\text{P}_2 &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK P}_1 - \text{JK P}_2 \\
 &= 48757,5 - 2256,25 - 44521 \\
 &= 1980,25
 \end{aligned}$$

Tabel 2.3 Analisis Ragam

| SK                            | db        | JK           | KT      | F Hitung | F 5% |
|-------------------------------|-----------|--------------|---------|----------|------|
| Ulangan                       | 3         | 10877,5      | 3625,83 |          | 0,45 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (48757,5)    | 16252,5 | 4,29     | 3,86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 2256,25      | 2256,25 | 0,59     | 5,12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 44521        | 44521   | 11,76*   | 5,12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 1980,25      | 1980,25 | 0,52     | 5,12 |
| Galat                         | 9         | 34075        | 3786,11 |          |      |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>93710</b> |         |          |      |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

i. Uji Lanjut

Menguji dengan Uji BNT dengan taraf 5 % untuk Pakan :

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{0,05} &= t_{0,05}(\text{db galat}) \frac{\sqrt{2} \text{ KT Galat}}{\text{Ulangan}} \\
 &= 2,26 \frac{\sqrt{2} \times 3786,11}{4} \\
 &= 98,33
 \end{aligned}$$

Tabel 2.4 Notasi BNT 5% untuk Pakan

| Perlakuan Pakan   | Rata-Rata (mg/ dL) | Notasi |
|-------------------|--------------------|--------|
| <b>B (Normal)</b> | 239                | a      |
| <b>D (Diet)</b>   | 661                | b      |
| <b>BNT 5%</b>     | <b>98,33</b>       |        |

Jadi, pemberian pakan normal lebih baik daripada pemberian diet hiperkolesterol selama 4 minggu yang dapat menaikkan kadar kolesterol total serum darah tikus (*Rattus norvegicus*).

Untuk membandingkan perlakuan menggunakan lama 4 minggu dengan lama 8 minggu maka harus diuji dengan uji t tidak berpasangan.

Hipotesis: H<sub>0</sub> = Selisih rata-rata diet 4 minggu ≥ selisih rata-rata diet 8 minggu

H<sub>1</sub> = Selisih rata-rata diet 4 minggu ≤ selisih rata-rata diet 8 minggu

$$\begin{aligned}
 t_{\text{hitung}} &= \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{\sqrt{\{s^2(1/n_A + 1/n_B)\}}} \\
 s^2 &= \frac{(n_A-1)s_A^2 + (n_B-1)s_B^2}{(n_A-1) + (n_B-1)}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 s_A^2 &= \frac{\Sigma (X_A - \bar{X}_A)^2}{n - 1} \\
 &= \frac{\Sigma (1371 - 685,5)^2}{16 - 1} \\
 &= \frac{469910,25}{15} \\
 &= 31327,35
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 s_B^2 &= \frac{\Sigma (X_B - \bar{X}_B)^2}{n - 1} \\
 &= \frac{\Sigma (1800 - 900)^2}{16 - 1} \\
 &= \frac{810000}{15} \\
 &= 54000
 \end{aligned}$$

Rumus menghitung  $s_2$ :

$$\begin{aligned}
 s^2 &= \frac{(n_A - 1)s_A^2 + (n_B - 1)s_B^2}{(n_A - 1) + (n_B - 1)} \\
 &= \frac{(16 - 1) 31327,35 + (16 - 1) 54000}{(16 - 1) + (16 - 1)} \\
 &= \frac{469910,25 + 810000}{30} \\
 &= 42663,68
 \end{aligned}$$

Menghitung  $t_{hitung}$  :

$$\begin{aligned}
 t_{hitung} &= \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{\sqrt{\{s^2(1/n_A + 1/n_B)\}}} \\
 &= \frac{685,5 - 900}{\sqrt{42663,68 (1/16 + 1/16)}} \\
 &= \frac{214,5}{\sqrt{42663,68 (0,125)}} \\
 &= 2,94
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}t_{\text{table}} &= t_{5\%} (n_A + n_B - 2) \\ &= 1,697\end{aligned}$$

Jadi kesimpulannya adalah  $t_{\text{hitung}} > t_{\text{table}} (0.05)$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, berarti ada pengaruh perlakuan lama 4 minggu dengan perlakuan lama 8 minggu kadar kolesterol serum darah tikus.



Lampiran 2. Data uji Trigliserida serum darah Tikus (*Rattus norvegicus*)  
dengan berbagai perlakuan

1. Perlakuan 4 minggu

Tabel 1.1 Hasil uji kadar trigliserida serum.

| Perlakuan     |            | Ulangan (mg/ dL) |            |            |            | Total       | Rata-Rata      |
|---------------|------------|------------------|------------|------------|------------|-------------|----------------|
| Predator      | Pakan      | I                | II         | III        | IV         |             |                |
| St<br>(Stres) | B (Normal) | 149              | 168        | 253        | 180        | <b>750</b>  | <b>187, 5</b>  |
|               | D (Diet)   | 201              | 211        | 300        | 224        | <b>936</b>  | <b>234</b>     |
| Sh<br>(Sehat) | B (Normal) | 171              | 65         | 200        | 115        | <b>551</b>  | <b>137, 75</b> |
|               | D (Diet)   | 200              | 260        | 144        | 281        | <b>885</b>  | <b>221, 25</b> |
| <b>Total</b>  |            | <b>721</b>       | <b>704</b> | <b>897</b> | <b>800</b> | <b>3122</b> |                |

Menghitung JK:

$$\begin{aligned}
 \text{a. } FK &= \frac{(\sum X)^2}{r \times n} \\
 &= \frac{(3122)^2}{16} \\
 &= 609180, 25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. } JK \text{ Total Percobaan} &= \sum X^2 - FK \\
 &= (149^2 + 168^2 + 253^2 + 180^2 + 201^2 + 211^2 + 300^2 + 224^2 + 171^2 + 65^2 + 200^2 + 115^2 + 200^2 + 260^2 + 144^2 + 281^2) - 609180, 25 \\
 &= 56739, 75
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. } JK \text{ Ulangan} &= \frac{(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{721^2 + 704^2 + 897^2 + 800^2}{4} - 609180, 25 \\
 &= 5836, 25
 \end{aligned}$$

## d. JK Perlakuan Kombinasi

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(750^2 + 936^2 + 551^2 + 885^2)}{n} - FK \\
 &= \frac{2525422}{4} - 609180,25 \\
 &= 22175,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{e. JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK Ulangan} \\
 &= 56739,75 - 22175,25 - 5836,25 \\
 &= 28728,25
 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan kombinasi harus diuraikan menjadi komponennya (JK Predator dan JK Pakan) dan JK Interaksi Predator dan Pakan. Untuk dapat menghitung JK Predator, JK Pakan, dan JK Interaksi, maka dibuat daftar dwi kasta antara faktor Predator dan Pakan.

Tabel 1.2 Presentase kadar trigliserida serum antara predator dan pakan

| Predator<br>(P <sub>1</sub> ) | Pakan (P <sub>2</sub> ) |          | Σ Predator<br>(P <sub>1</sub> ) | Rerata      |
|-------------------------------|-------------------------|----------|---------------------------------|-------------|
|                               | B (Normal)              | D (Diet) |                                 |             |
| Stres (St)                    | 750                     | 936      | 1686                            | 843         |
| Sehat (Sh)                    | 551                     | 885      | 1436                            | 718         |
| Σ Pakan (P <sub>2</sub> )     | 1301                    | 1821     | <b>3122</b>                     |             |
| <b>Rerata</b>                 | 650,5                   | 910,5    |                                 | <b>1561</b> |

$$\begin{aligned}
 \text{f. JK Predator (P}_1\text{)} &= \frac{1686^2 + 1436^2}{\text{Taraf P}_2 \times \text{ulangan}} - FK \\
 &= \frac{4904692}{2 \times 4} - 609180,25 \\
 &= 3906,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{g. JK Pakan (P}_2\text{)} &= \frac{1301^2 + 1821^2}{\text{Taraf P}_1 \times \text{ulangan}} - FK \\
 &= \frac{5008642}{2 \times 4} - 609180,25 \\
 &= 16900
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{h. JK P}_1\text{P}_2 &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK P}_1 - \text{JK P}_2 \\
 &= 22175,25 - 3906,25 - 16900 \\
 &= 1369
 \end{aligned}$$

Tabel 1.3 Analisis Ragam

| SK                            | db        | JK              | KT      | F Hitung | F 5% |
|-------------------------------|-----------|-----------------|---------|----------|------|
| Ulangan                       | 3         | 5836,25         | 1945,42 |          | 0,61 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (22175,25)      | 7391,75 | 2,32     | 3,86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 3906,25         | 3906,25 | 1,22     | 5,12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 16900           | 16900   | 5,29*    | 5,12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 1369            | 1369    | 0,43     | 5,12 |
| Galat                         | 9         | 28728,25        | 3192,03 |          |      |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>56739,75</b> |         |          |      |

Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

i. Uji Lanjut

Menguji dengan Uji BNT dengan taraf 5 % untuk Pakan :

$$\begin{aligned}
 \text{BNT}_{0,05} &= t_{0,05(\text{db galat})} \frac{\sqrt{2} \text{ KT Galat}}{\text{Ulangan}} \\
 &= 2,26 \frac{\sqrt{2} \times 3192,03}{4} \\
 &= 90,29
 \end{aligned}$$

Tabel 1.4 Notasi BNT 5% untuk Pakan

| Perlakuan Pakan   | Rata-Rata (mg/ dL) | Notasi |
|-------------------|--------------------|--------|
| <b>B (Normal)</b> | 650,5              | a      |
| <b>D (Diet)</b>   | 910,5              | b      |
| <b>BNT 5%</b>     | <b>67,07</b>       |        |

Jadi, pemberian pakan normal lebih baik daripada pemberian diet hiperkolesterol selama 4 minggu yang dapat menaikkan kadar trigliserida serum darah tikus (*Rattus norvegicus*).

## 2. Perlakuan 8 minggu

Tabel 2.1 Hasil uji kadar trigliserida serum.

| Perlakuan     |            | Ulangan (mg/ dL) |            |            |             | Total       | Rata-Rata |
|---------------|------------|------------------|------------|------------|-------------|-------------|-----------|
| Predator      | Pakan      | I                | II         | III        | IV          |             |           |
| St<br>(Stres) | B (Normal) | 390              | 184        | 87         | 244         | 905         | 226, 25   |
|               | D (Diet)   | 189              | 370        | 367        | 328         | 1254        | 313, 5    |
| Sh<br>(Sehat) | B (Normal) | 141              | 78         | 267        | 156         | 642         | 160, 5    |
|               | D (Diet)   | 124              | 235        | 275        | 301         | 935         | 233, 75   |
| <b>Total</b>  |            | <b>844</b>       | <b>867</b> | <b>996</b> | <b>1029</b> | <b>3736</b> |           |

Menghitung JK:

$$\begin{aligned} \text{a. } FK &= \frac{(\sum X)^2}{r \times n} \\ &= \frac{(3736)^2}{16} \\ &= 872356 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } JK \text{ Total Percobaan} &= \sum X^2 - FK \\ &= (390^2 + 184^2 + 87^2 + 244^2 + 189^2 + 370^2 + 367^2 + 328^2 \\ &\quad + 141^2 + 78^2 + 267^2 + 156^2 + 124^2 + 235^2 + 275^2 + 301^2) \\ &\quad - 872356 \\ &= 154016 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } JK \text{ Ulangan} &= \frac{(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2}{r} - FK \\ &= \frac{844^2 + 867^2 + 996^2 + 1029^2}{4} - 872356 \\ &= 6364, 5 \end{aligned}$$

d. JK Perlakuan Kombinasi

$$\begin{aligned} &= \frac{(905^2 + 1254^2 + 642^2 + 935^2)}{n} - FK \\ &= \frac{3677930}{4} - 872356 \\ &= 47126, 5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{e. JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK Ulangan} \\
 &= 154016 - 47126,5 - 6364,5 \\
 &= 100525
 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan kombinasi harus diuraikan menjadi komponennya (JK Predator dan JK Pakan) dan JK Interaksi Predator dan Pakan. Untuk dapat menghitung JK Predator, JK Pakan, dan JK Interaksi, maka dibuat daftar dwi kasta antara faktor Predator dan Pakan.

Tabel 2.2 Presentase kadar trigliserida serum antara predator dan pakan

| Predator<br>(P <sub>1</sub> ) | Pakan (P <sub>2</sub> ) |          | Σ Predator<br>(P <sub>1</sub> ) | Rerata      |
|-------------------------------|-------------------------|----------|---------------------------------|-------------|
|                               | B (Normal)              | D (Diet) |                                 |             |
| Stres (St)                    | 905                     | 1254     | 2159                            | 1079,5      |
| Sehat (Sh)                    | 642                     | 935      | 1577                            | 788,5       |
| Σ Pakan (P <sub>2</sub> )     | 1547                    | 2189     | <b>3736</b>                     |             |
| <b>Rerata</b>                 | 773,5                   | 1094,5   |                                 | <b>1868</b> |

$$\begin{aligned}
 \text{f. JK Predator (P}_1) &= \frac{2159^2 + 1577^2}{\text{Taraf P}_2 \times \text{ulangan}} - \text{FK} \\
 &= \frac{7148210}{2 \times 4} - 872356 \\
 &= 21170,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{g. JK Pakan (P}_2) &= \frac{1547^2 + 2189^2}{\text{Taraf P}_1 \times \text{ulangan}} - \text{FK} \\
 &= \frac{718430}{2 \times 4} - 872356 \\
 &= 25760,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{h. JK P}_1\text{P}_2 &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK P}_1 - \text{JK P}_2 \\
 &= 47126,5 - 221170,25 - 25760,25 \\
 &= 196
 \end{aligned}$$

Tabel 2.3 Analisis Ragam

| SK                            | db        | JK            | KT       | F Hitung | F 5%  |
|-------------------------------|-----------|---------------|----------|----------|-------|
| Ulangan                       | 3         | 6364,5        | 2121,5   |          | 0, 18 |
| Perlakuan:                    | (3)       | (47126,5)     | 15708,83 | 1,41     | 3, 86 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 21170,25      | 21170,25 | 1,89     | 5, 12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 25760,25      | 25760,25 | 2,31     | 5, 12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 196           | 196      | 0,02     | 5, 12 |
| Galat                         | 9         | 100525        | 11169,44 |          |       |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>154016</b> |          |          |       |

Kesimpulannya adalah tidak ada pengaruh interaksi antara perlakuan stres dan diet hiperkolesterol selama 8 minggu terhadap kadar trigliserida serum darah tikus (*Rattus norvegicus*)

Untuk membandingkan perlakuan menggunakan lama 4 minggu dengan lama 8 minggu maka harus diuji dengan uji t tidak berpasangan.

Hipotesis: H<sub>0</sub> = Selisih rata-rata diet 4 minggu ≥ selisih rata-rata diet 8 minggu

H<sub>1</sub> = Selisih rata-rata diet 4 minggu ≤ selisih rata-rata diet 8 minggu

$$t_{\text{hitung}} = \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{\sqrt{\{s^2(1/n_A + 1/n_B)\}}}$$

$$s^2 = \frac{(n_A-1)s_A^2 + (n_B-1)s_B^2}{(n_A-1) + (n_B-1)}$$

$$s_A^2 = \frac{\sum (X_A - \bar{X}_A)^2}{n - 1}$$

$$= \frac{\sum (3122 - 1561)^2}{16 - 1}$$

$$= \frac{2436721}{15}$$

$$= 162448,07$$

$$s_B^2 = \frac{\sum (X_B - \bar{X}_B)^2}{n - 1}$$

$$= \frac{\sum (3736 - 1869)^2}{16 - 1}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{3485689}{15} \\
 &= 232379,27
 \end{aligned}$$

Rumus menghitung  $s_2^2$ :

$$\begin{aligned}
 s^2 &= \frac{(n_A-1)s_A^2 + (n_B-1)s_B^2}{(n_A-1) + (n_B-1)} \\
 &= \frac{(16-1)162448,07 + (16-1)232379,27}{(16-1) + (16-1)} \\
 &= \frac{2436721,05 + 3485689,05}{30} \\
 &= 197413,67
 \end{aligned}$$

Menghitung  $t_{hitung}$  :

$$\begin{aligned}
 t_{hitung} &= \frac{\bar{X}_A - \bar{X}_B}{\sqrt{\{s^2(1/n_A + 1/n_B)\}}} \\
 &= \frac{1561 - 1869}{\sqrt{197413,67(1/16 + 1/16)}} \\
 &= \frac{197413,67(0,125)}{308} \\
 &= 1,96
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 t_{table} &= t_{5\%}(n_A + n_B - 2) \\
 &= 1,69
 \end{aligned}$$

Jadi kesimpulannya adalah  $t_{hitung} > t_{table(0.05)}$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, berarti ada pengaruh perlakuan lama 4 minggu dengan perlakuan lama 8 minggu pada kadar trigliserida serum darah tikus.

Lampiran 3. Analisis jumlah sel busa (*foam cell*) pada arteri cerebral otak

Tikus (*Rattus norvegicus*) lama 8 minggu

Tabel 1.1 Hasil perhitungan jumlah *foam cell* arteri cerebral

| Perlakuan     |            | Ulangan   |           |           |           | Total      | Rata-Rata |
|---------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|
| Predator      | Pakan      | I         | II        | III       | IV        |            |           |
| St<br>(Stres) | B (Normal) | 11        | 7         | 15        | 5         | 38         | 9,5       |
|               | D (Diet)   | 25        | 11        | 36        | 16        | 88         | 22        |
| Sh<br>(Sehat) | B (Normal) | 0         | 9         | 0         | 14        | 23         | 5,75      |
|               | D (Diet)   | 16        | 22        | 16        | 12        | 66         | 16,5      |
| <b>Total</b>  |            | <b>52</b> | <b>49</b> | <b>67</b> | <b>47</b> | <b>215</b> |           |

$$\begin{aligned}
 \text{a. } FK &= \frac{(\sum X)^2}{r \times n} \\
 &= \frac{(215)^2}{16} \\
 &= 2889,06
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. } JK \text{ Total Percobaan} &= \sum X^2 - FK \\
 &= (11^2 + 7^2 + 15^2 + 5^2 + 25^2 + 11^2 + 36^2 + 16^2 + 0^2 + 9^2 + \\
 &\quad 0^2 + 14^2 + 16^2 + 22^2 + 16^2 + 12^2 - 2889,06 \\
 &= 1245,94
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. } JK \text{ Ulangan} &= \frac{(\sum X_1)^2 + (\sum X_2)^2 + (\sum X_3)^2 + (\sum X_4)^2 - FK}{r} \\
 &= \frac{52^2 + 49^2 + 67^2 + 47^2 - 2889,06}{4} \\
 &= 61,69
 \end{aligned}$$

## d. JK Perlakuan Kombinasi

$$\begin{aligned}
 & \frac{(38^2 + 88^2 + 23^2 + 66^2) - FK}{n} \\
 & = \frac{14073 - 2889,06}{4} \\
 & = 629,19
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{e. JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK Ulangan} \\
 &= 1245,94 - 629,19 - 61,69 \\
 &= 555,06
 \end{aligned}$$

Karena merupakan perlakuan kombinasi, maka JK perlakuan kombinasi harus diuraikan menjadi komponennya (JK Predator dan JK Pakan) dan JK Interaksi Predator dan Pakan. Untuk dapat menghitung JK Predator, JK Pakan, dan JK Interaksi, maka dibuat daftar dwi kasta antara faktor Predator dan Pakan

Tabel 1.2 presentase jumlah *foam cell* arteri cerebral otak antara faktor I dan faktor II

| Predator (P <sub>1</sub> )     | Pakan (P <sub>2</sub> ) |            | Σ Predator (P <sub>1</sub> ) |
|--------------------------------|-------------------------|------------|------------------------------|
|                                | B (Normal)              | D (Diet)   |                              |
| Stres (St)                     | 38                      | 88         | <b>126</b>                   |
| Sehat (Sh)                     | 23                      | 66         | <b>89</b>                    |
| <b>Σ Pakan (P<sub>2</sub>)</b> | <b>61</b>               | <b>154</b> | <b>215</b>                   |

$$\begin{aligned}
 \text{f. JK Predator (P}_1\text{)} &= \frac{126^2 + 89^2 - FK}{\text{taraf P}_2 \times \text{ulangan}} \\
 &= \frac{23797 - 2889,06}{2 \times 4} \\
 &= 85,56
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{g. JK Pakan (P}_2\text{)} &= \frac{61^2 + 154^2 - FK}{\text{taraf P}_1 \times \text{ulangan}} \\
 &= \frac{23716 - 2889,06}{2 \times 4} \\
 &= 75,44
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{h. JK P}_1\text{P}_2 &= \text{JK Perlakuan Kombinasi} - \text{JK P}_1 - \text{JK P}_2 \\
 &= 629,19 - 85,56 - 75,44 \\
 &= 468,19
 \end{aligned}$$

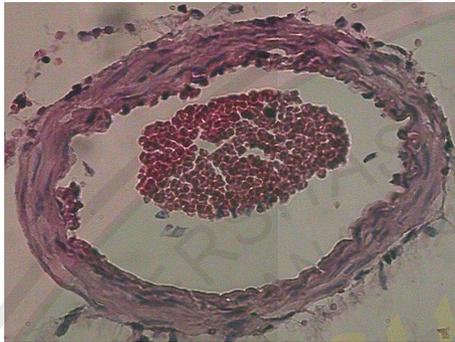
i. Analisis Ragam

| SK                            | db        | JK             | KT     | F Hitung | F 5% |
|-------------------------------|-----------|----------------|--------|----------|------|
| Ulangan                       | 3         | 61,69          | 20,56  |          | 0,33 |
| Perlakuan:                    | (3)       | 629,19         | 209,73 | 3,40     | 3,63 |
| P <sub>1</sub>                | 1         | 85,56          | 85,56  | 1,38     | 5,12 |
| P <sub>2</sub>                | 1         | 75,44          | 75,44  | 1,22     | 5,12 |
| P <sub>1</sub> P <sub>2</sub> | 1         | 468,19         | 468,19 | 7,71*    | 5,12 |
| Galat                         | 9         | 555,06         | 61,67  |          |      |
| <b>TOTAL</b>                  | <b>15</b> | <b>1875,13</b> |        |          |      |

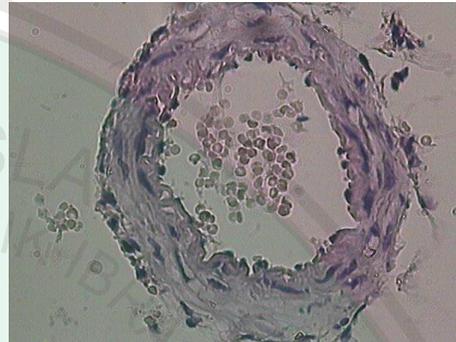
Keterangan: \* = menunjukkan pengaruh nyata

Jadi, ada pengaruh interaksi perlakuan lama stres dan diet atherogenik terhadap pembentukan *foam cell* arteri cerebral otak tikus.

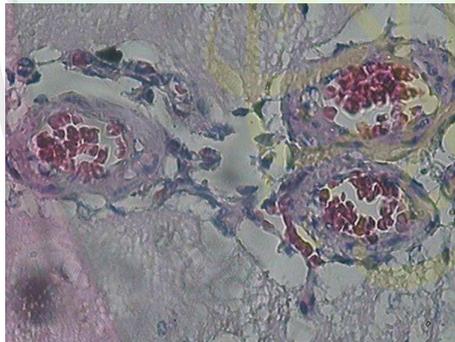
**Lampiran 4. Histologi Arteri Cerebral Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Lama 4 minggu dengan perbesaran 400 kali**



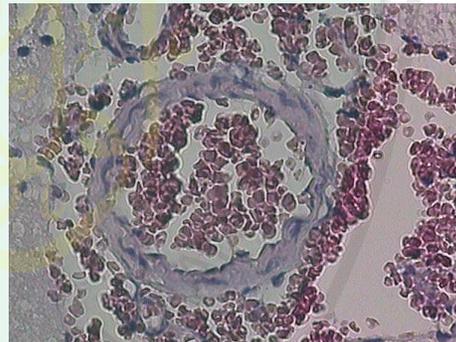
Gambar 1. Arteri cerebral perlakuan ShB



Gambar 2. Arteri cerebral perlakuan ShD



Gambar 3. Arteri cerebral perlakuan StB



Gambar 4. Arteri cerebral perlakuan StD

**Keterangan :**

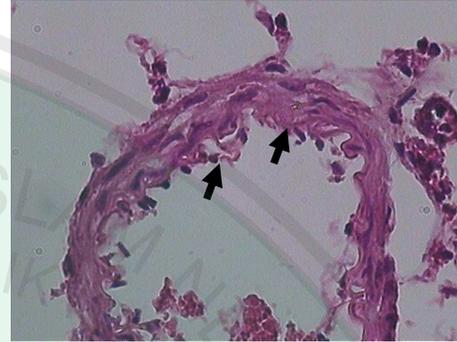
1. ShB = Non Stres dan Pakan Normal
2. ShD = Non Stres dan Pakan Diet
3. StB = Stres dan Pakan Normal
4. StD = Stres dan Pakan Diet

**Lampiran 5. Histologi Pembentukan *Foam cell* Arteri Cerebral Otak Tikus  
(*Rattus norvegicus*) 8 minggu dengan perbesaran 400 kali**

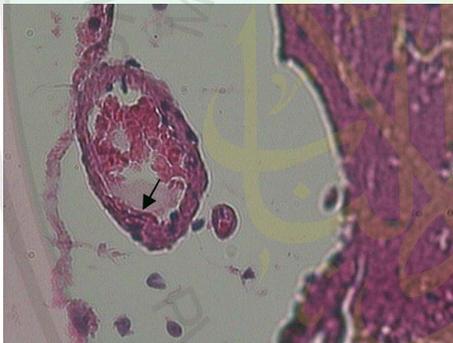
**1. Perlakuan ShB**



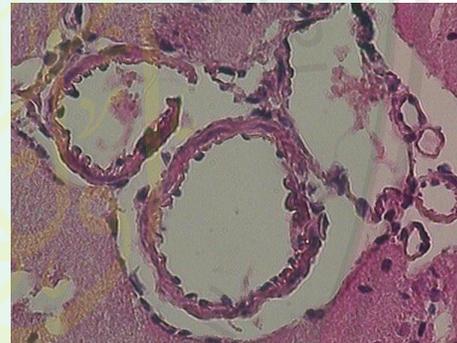
Gambar 1. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan I)



Gambar 2. Histologi arteri cerebral otak tikus (Ulangan II)



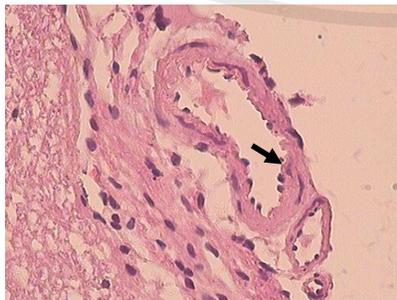
Gambar 3. Histologi arteri cerebral otak tikus (Ulangan III)



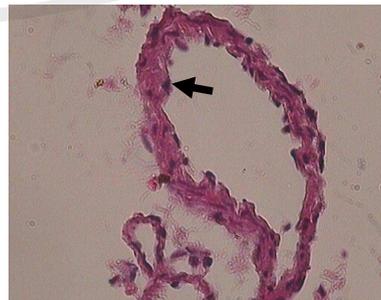
Gambar 4. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan IV)

Keterangan: Tanda panah menunjukkan pembentukan *foam cell*.

**2. Perlakuan ShD**



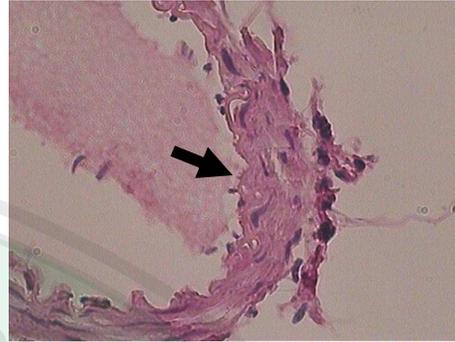
Gambar 1. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan I)



Gambar 2. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan II)



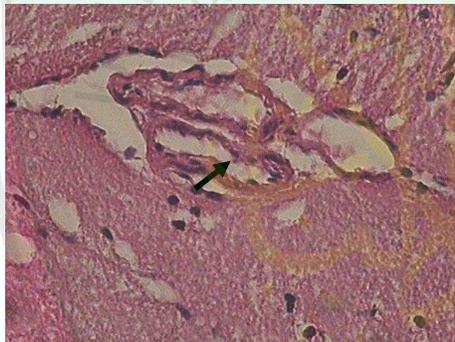
Gambar 3. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan III)



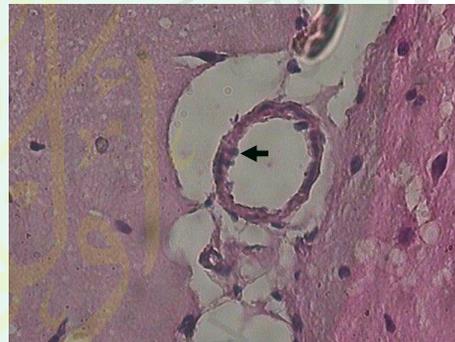
Gambar 4. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan IV)

Keterangan: Tanda panah menunjukkan pembentukan *foam cell*.

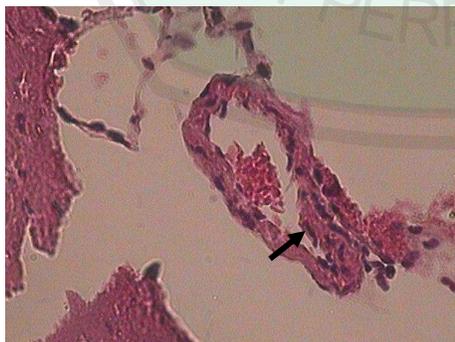
### 3. StB



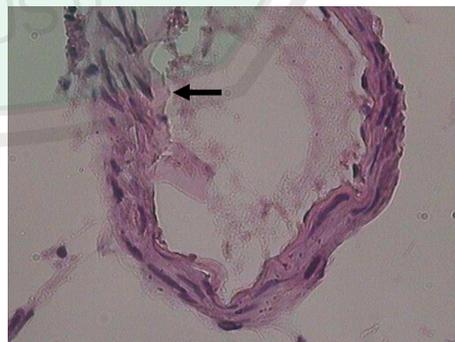
Gambar 1. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan I)



Gambar 2. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan II)



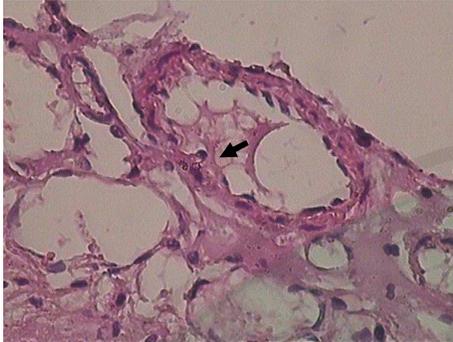
Gambar 3. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan III)



Gambar 4. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan IV)

Keterangan: Tanda panah menunjukkan pembentukan *foam cell*.

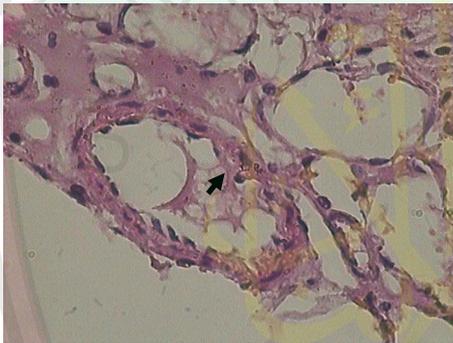
#### 4. StD



Gambar 1. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan I)



Gambar 2. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan II)



Gambar 3. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan III)



Gambar 4. Histologi plak pada arteri cerebral otak tikus (Ulangan IV)

Keterangan: Tanda panah menunjukkan pembentukan *foam cell*.

ShB = Non Stres dan Pakan Normal

ShD = Non Stres dan Pakan Diet

StB = Stres dan Pakan Normal

StD = Stres dan Pakan Diet

**Lampiran 6. Perhitungan pakan diet hiperkolesterol**

Tabel perhitungan kebutuhan pakan hiperkolesterol

| <b>Bahan Pakan</b> | $\Sigma$ (gram)/<br>% | $\Sigma$<br>kebutuhan | <b>Zat Nutrisi</b>          | <b>Hasil</b>  | <b>Kebutuhan Nutrien</b> |
|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------|--------------------------|
| Jagung Kuning      | 33,31                 | 79,944                | $\Sigma$ energi metabolisme | <b>3267,9</b> | 3268                     |
| Butter             | 20                    | 48                    | Protein                     | <b>15,36</b>  | 19                       |
| BR-2               | 3,09                  | 7,416                 | Lemak                       | <b>18,71</b>  | 7,46                     |
| Cholic Acid        | 0,2                   | 0,48                  | Serat Kasar                 | <b>7,318</b>  | 4,62                     |
| Bungkil Kelapa     | 43,4                  | 104,16                | Ca                          | <b>0,127</b>  | 1,09                     |
| <b>100</b>         |                       |                       | P                           | <b>0,139</b>  | 0,63                     |
|                    |                       |                       | Na                          | <b>1,20</b>   | 0                        |

Keterangan :  $\Sigma$ kebutuhan untuk 16 ekor tikus dengan pakan diet hiperkolesterol



*Lampiran 7. Gambar Alat dan Bahan Penelitian*

**1. Paparan stress predator**



Gambar 1.1 Pemeliharaan Tikus putih (*Rattus norvegicus*)



Gambar 1.2 Kucing untuk paparan stres predator

**2. Pakan diet atherogenik (hiperkolesterol)**



Gambar 2.1 Proses pemanasan Butter



Gambar 2.2 Timbangan digital



Gambar 2.3 *Pure Dutch Butter* merk Wijsman Brand



Gambar 2.4 Konsentrat pakan ayam BR-2



Gambar 2.5 Jagung kuning (lembut)



Gambar 2.6 Bungkil kelapa (kopra)



Gambar 2.7 Pakan diet hiperkolesterol

Lampiran 8. Gambar Alat dan Bahan Pembedahan Tikus



Gambar 1.1 Seperangkat alat bedah



Gambar 1.2 Bahan untuk proses pembedahan



Gambar 1.3 Tabung ukur



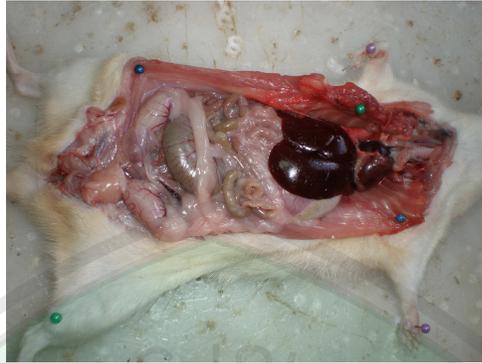
Gambar 1.4 Tabung Ependorf untuk serum



Gambar 1.5 Jarum Suntik



Gambar 1.6 Botol Organ



Gambar 1.7 Pembedahan Tikus



Gambar 1.8 Pengambilan darah pada aorta tikus



Gambar 1.9 Pengambilan otak tikus



**JURUSAN BILOGI**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)**  
**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 553477, Fax. (0341) 572533  
MALANG 65144

**BUKTI KONSULTASI**

Nama : Diana Ifrina Ernawati  
NIM : 05520031  
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik Terhadap Pembentukan *Foam Cell* Arteri Cerebral Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley  
Pembimbing : Dra. Retno Susilowati, M.Si

| No | Tanggal           | Materi Konsultasi                                   | Tanda Tangan |
|----|-------------------|---|--------------|
| 1  | 21 April 2009     | Pengajuan Judul                                     | 1.           |
| 2  | 29 April 2009     | Proposal Penelitian                                 | 2.           |
| 3  | 07 Mei 2009       | Revisi Proposal Penelitian                          | 3.           |
| 4  | 20 Mei 2009       | Revisi Proposal Penelitian                          | 4.           |
| 5  | 23 Juni 2009      | Revisi Proposal Penelitian                          | 5.           |
| 6  | 26 Juni 2009      | Acc Proposal  | 6.           |
| 7  | 30 Juni 2009      | Seminar Proposal                                    | 7.           |
| 8  | 06 Juli 2009      | Revisi Bab I, II, dan III                           | 8.           |
| 9  | 15 Juli 2009      | Revisi Bab I, II, dan III                           | 9.           |
| 10 | 24 Agustus 2009   | Data Pengujian Kolesterol dan Trigliserida 4 minggu | 10.          |
| 11 | 01 September 2009 | Data Pengamatan Preparat 4 minggu                   | 11.          |
| 12 | 05 September 2009 | Penyerahan Bab IV                                   | 12.          |
| 13 | 09 September 2009 | Revisi Bab IV                                       | 13.          |
| 14 | 25 September 2009 | Data Pengujian Kolesterol dan Trigliserida 8 minggu | 14.          |
| 15 | 03 Oktober 2009   | Data Pengamatan Preparat 8 minggu                   | 15.          |
| 16 | 05 Oktober 2009   | Analisis Data                                       | 16.          |
| 17 | 06 Oktober 2009   | Revisi Bab IV dan V                                 | 17.          |
| 18 | 08 Oktober 2009   | Revisi Bab I, II, III, IV dan V                     | 18.          |
| 19 | 09 Oktober 2009   | Acc Bab I, II, III, IV dan V                        | 19.          |

**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan Biologi**

**Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd**  
**NIP. 19630114 199903 1 001**



**JURUSAN BILOGI**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)**  
**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 553477, Fax. (0341) 572533  
MALANG 65144

### **BUKTI KONSULTASI**

Nama : Diana Ifrina Ernawati  
NIM : 05520031  
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Stres dan Diet Atherogenik Terhadap Pembentukan *Foam Cell* Arteri Cerebral Otak Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley  
Pembimbing : Ahmad Barizi, M.A

| No | Tanggal         | Materi Konsultasi   | Tanda Tangan |
|----|-----------------|---------------------|--------------|
| 1  | 05 Oktober 2009 | Proposal Penelitian | 1.           |
| 2  | 08 Oktober 2009 | Bab I, II           | 2.           |
| 3  | 09 Oktober 2009 | Revisi Bab I, II    | 3.           |
| 4  | 10 Oktober 2009 | Acc Keseluruhan     | 4.           |

**Mengetahui,**  
**Ketua Jurusan Biologi**

**Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd**  
**NIP. 19630114 199903 1 001**