

Chitosan Mempertipis Dinding dan Memperbesar Diameter Lumen Arteri Koroner Tikus Putih yang Diberi Pakan Lemak Tinggi

(CHITOSAN COULD THINEN WALL AND WIDEN LUMEN DIAMETER CORONARY ARTERY OF SPRAGUE DAWLEY RATS INDUCED BY HIGH FAT RATION)

**Sri Isdadiyanto¹, Sukarti Moeljopawiro²,
Nyoman Puniawati³, Hastari Wuryastuty⁴**

¹Laboratorium Struktur dan Fungsi Hewan,
Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro, Jl. Prof. Soedharto, SH,
Kampus Tembalang, Semarang,

Telpon: 08156525971, email: isdadiyanto@yahoo.com

²Laboratorium Biokimia, ³Laboratorium Anatomi, Fakultas Biologi,

⁴Laboratorium Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *chitosan* terhadap tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner yang diinduksi lemak tinggi. Sebanyak 20 ekor tikus putih *Sprague Dawley* jantan dewasa digunakan sebagai hewan uji. Tikus putih dibagi menjadi empat kelompok, per kelompok terdiri lima ekor tikus. Kelompok I sebagai kontrol diberi pakan lemak normal. Kelompok II diberi pakan lemak tinggi. Kelompok III diberi lemak tinggi + *chitosan* 180 mg/ kg BB/ hari. Kelompok IV diberi lemak tinggi dan setelah satu bulan diberi *chitosan* 180 mg/ kg BB/ hari. *Chitosan* diberikan per oral dalam larutan 2 mL aquades. Penelitian dilakukan selama 90 hari. Pada hari terakhir perlakuan, hewan dikorbankan nyawanya dan diambil organ jantung untuk pembuatan preparat histopatologi. Ada dan tidaknya perbedaan antar perlakuan dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan *Lowest Significant Difference Test* untuk mengetahui letak perbedaan. Pakan lemak normal tidak memengaruhi tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner. Pakan lemak tinggi meningkatkan ketebalan dinding arteri koroner dan *chitosan* dapat mempertipis ketebalan dinding arteri koroner. Pakan lemak tinggi + *chitosan* yang diberikan secara simultan dapat meningkatkan diameter lumen arteri koroner. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa pakan lemak tinggi adalah faktor utama penyebab aterosklerosis dan *chitosan* dapat mencegah terjadinya plak atheroma.

Kata kunci: aterosklerosis, *chitosan*, dinding arteri koroner, diameter lumen arteri koroner, pakan lemak tinggi.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the influence of *chitosan* on coronary artery wall thickness and lumen diameter of Sprague Dawley rats induced by high fat ration. The animals for this study were twenty adult male rats divided into four groups, i.e. group I as the control was fed with basal ration containing normal fat for 3 months, group II was fed ration containing high fat for three months, group III was fed ration containing high fat and given *chitosan* 180 mg per kg body weight per day orally in 2 mL aquadest for 3 months, group IV was fed ration containing high fat for three months and after one month given *chitosan* 180 mg per kg body weight per day orally in 2 mL aquadest for two months. Each group consisted of five animals. After 90 days, the rats were necropsied and the hearts were collected to histopathological. The difference between treatments was statistical analysis by Anava, and continued by Lowest Significant Difference Test to locate the difference. Normal fat ration did not influence coronary artery wall thickness and coronary artery lumen diameter in rats. High fat ration increased coronary artery wall thickness and *chitosan* could be decreased coronary artery wall thickness in rats. High fat ration + *chitosan* that given simultaneously could be increased coronary artery lumen diameter in rats. Based on the result of this study, it was concluded that high fat ration was a major factor able to cause atherosclerosis and *chitosan* was able to prevent atheroma plaque formation.

Key words: Atherosclerosis, *chitosan*, coronary artery wall thickness, coronary artery lumen diameter, high fat ration.

PENDAHULUAN

Peningkatan kadar kolesterol akibat konsumsi lemak dalam jumlah tinggi terjadi karena lemak yang dikonsumsi sebagian akan diubah menjadi kolesterol. Lemak yang berasal dari sintesis lokal dan makanan, akan ditransportasikan ke hati. Lemak yang berasal dari sintesis lokal dibebaskan dan ditransportasikan ke hati dalam bentuk asam lemak bebas, sedangkan lemak dari makanan ditransportasikan dalam bentuk kilomikron (Mayes dan Botham, 2003). Schmidt dan Fagerberg (2008) melaporkan bahwa penyakit pada arteri dapat terjadi karena peningkatan kadar kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) dan *very low density lipoprotein* (VLDL) dalam darah (hiperkolesterol).

Salah satu penyakit arteri koroner adalah aterosklerosis. Aterosklerosis terjadi bila arteri koroner tersumbat dan menyempit, sehingga menghambat aliran darah ke otot jantung. Tanpa darah yang mencukupi, jantung akan kekurangan oksigen dan nutrisi vital yang dibutuhkan jantung untuk bekerja sebagaimana mestinya. Bila satu pembuluh atau lebih arteri koroner tertutup total, dapat menyebabkan serangan jantung dan akhirnya terjadi kematian (Lewis *et al.*, 2004). Dinding arteri terdiri dari tiga tunika berturut-turut dari bagian dalam ke arah luar yaitu tunika intima, tunika media dan tunika adventisia. Tunika intima terdiri atas satu lapis sel endotel, tunika media terdiri dari lapisan sel-sel otot polos dan jaringan elastin, tunika adventisia terdiri atas jaringan ikat (Junqueira dan Carneiro, 2003).

Aterosklerosis merupakan penyakit pada arteri yang ditandai dengan penebalan dinding arteri karena proliferasi sel otot polos tunika media, akumulasi lipid yang disertai dengan pembentukan jaringan fibrosa, kalsifikasi dan berhubungan dengan perubahan tunika intima (Ross, 1999). Pembentukan aterosklerosis membutuhkan waktu yang lama. Williams *et al.*, (2002) melaporkan setelah enam bulan perlakuan pakan berkolesterol tinggi, terdapat perubahan struktur arteria yang ditandai dengan terbentuknya *plaque* yang mengandung jaringan fibrosa dan serabut elastin pada lumen arteri. *Plaque* ini terjadi karena akumulasi lipid pada dinding arteri yang akan mengikat jaringan fibrosa dan mengubah bentuk normal tunika intima (Stary *et al.*, 1995). Libby dan Theroux (2005) melaporkan bahwa kadar kolesterol LDL yang tinggi memicu penimbunan

kolesterol di sel pembuluh darah, yang menyebabkan munculnya aterosklerosis dan terbentuknya *plaque* di dinding pembuluh darah.

Aterosklerosis merupakan penyebab kematian utama di negara berkembang dan melalui proses yang kompleks, melibatkan faktor genetik, faktor lingkungan dan berbagai tipe sel yang saling berpengaruh satu dengan yang lain. Lesi aterosklerotik diawali dengan adanya kerusakan sel-sel endotel pembuluh darah (Maturana *et al.*, 2007). Endotel bersifat antitrombogenik, yang mencegah pembekuan darah. Bila sel-sel endotel rusak akibat lesi aterosklerotik, jaringan ikat subendotelium yang terpapar akan menginduksi penggumpalan trombosit darah. Penggumpalan trombosit mengawali sederetan kejadian yang menghasilkan fibrin dan fibrinogen darah. Selanjutnya terbentuk bekuan intravaskuler, atau trombus yang dapat tumbuh membesar sehingga menimbulkan sumbatan total aliran darah setempat. Massa solid berupa emboli dapat terlepas dari trombus tersebut dan terbawa darah serta dapat menyumbat pembuluh darah di tempat lain. Pada kedua keadaan tersebut, aliran darah dapat berhenti, yakni suatu keadaan yang dapat membahayakan jiwa (Junqueira dan Carneiro, 2003).

Chitosan merupakan produk deasetilasi dari *chitin* yang ditemukan pada cangkang udang *Penaeus monodon* (Hargono *et al.*, 2008). Penelitian terakhir melaporkan bahwa biopolimer alami *chitosan* disintesis dari jenis udang *P. monodon* (Sewvandi dan Adikary, 2012). *Chitosan* merupakan turunan chitin, suatu amino polisakarida yang mengalami asetilasi, terdapat pada eksoskeleton dan kulit arthropoda termasuk insekta, ketam, dan udang (Vahouny *et al.*, 1983; Fan *et al.*, 2006). *Chitosan* merupakan polimer alami, tidak toksik, biokompatibel dan dapat dibiodegradasi (Hejazi dan Amiji, 2003). *Chitosan* dapat menangkap lemak di lambung sebelum dimetabolisme (Maezaki *et al.*, 1993). Menurut Gallaher *et al.*, (2002) *chitosan* bermuatan positif dan mampu berikatan dengan molekul bermuatan negatif, seperti lemak dan garam empedu kemudian membentuk ikatan ionik. Lemak yang terikat oleh *chitosan* menjadi sebuah massa yang besar sehingga tidak dapat diabsorpsi dalam traktus digestivus.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *chitosan*

terhadap tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner tikus putih yang diinduksi lemak tinggi. Manfaat penelitian ini untuk mencari bahan alternatif alami guna mengatasi penyakit jantung koroner yang disebabkan hiperlipidemia.

METODE PENELITIAN

Sebanyak 20 ekor tikus putih *Sprague Dawley* jantan, umur 1,5 bulan dipergunakan sebagai hewan uji. Tikus putih diadaptasikan selama seminggu dalam kandang individu dan tikus diberi pakan standar (mengandung lemak normal 4,5%) dan minum secara *ad libitum*. Tikus putih dibagi menjadi empat kelompok masing-masing kelompok terdiri lima ekor. Kelompok I adalah kelompok kontrol, yaitu tikus putih yang diberi pakan mengandung lemak normal selama tiga bulan. Kelompok II adalah kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi (mengandung lemak 20%) selama tiga bulan. Kelompok III adalah kelompok tikus putih yang diberi pakan mengandung lemak tinggi dan diberi *chitosan* 180 mg/ kg BB/ hari dalam 2 mL aquades selama tiga bulan. Kelompok IV adalah tikus putih diberi pakan lemak tinggi selama tiga bulan, setelah satu bulan pertama, hewan tersebut juga diberi *chitosan* 180 mg/ kg BB/ hari dalam 2 mL aquades selama dua bulan. *Chitosan* asal cangkang udang laut diberikan per oral dengan bantuan spuit injeksi 2,5 mL berkanula. Pada hari terakhir perlakuan, hewan dikorbankan nyawanya dan organ jantung diambil kemudian dimasukkan dalam wadah film negatif bekas yang berisi 10% *neutral buffered formalin* untuk pembuatan preparat histopatologi.

Pembuatan Preparat Histopatologi

Preparat histopatologi arteri koroner dibuat dengan metode parafin dan fiksatif yang digunakan adalah larutan 10% *neutral buffered formalin*. Tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi adalah melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai dengan organ yang akan dipotong (*trimming*). Pisau yang digunakan untuk *trimming* adalah pisau skalpel No. 22-24. Jumlah potongan jaringan yang dapat dimuat dalam *embedding cassette* berkisar antara 1-5 buah disesuaikan dengan ukuran organ. Dehidrasi jaringan dilakukan setelah *trimming*

menggunakan *tissue processor* (Leica, Germany), ini dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan dengan menggunakan cairan dehidran seperti etanol atau iso propyl alkohol. Cairan dehidran kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih (*clearing agent*) yaitu xylol. Reagen pembersih ini akan diganti dengan parafin dengan cara dimasukkan dalam larutan parafin cair sehingga parafin menyusup ke dalam jaringan; proses ini disebut impregnasi. Parafin yang digunakan mempunyai titik cair 56-58°C. Pengaturan waktu dehidrasi pada *tissue processor* disajikan pada Tabel 1. Setelah melalui proses dehidrasi, jaringan yang berada di dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan parafin cair dan dilekatkan pada *embedding cassette* yang disebut blok. Jaringan dalam blok yang telah dingin, selanjutnya dipotong pada ketebalan irisan 4 µm dengan *rotary microtome*. Irisan tersebut ditempel pada gelas objek yang sebelumnya diolesi *Mayer's egg albumin* dan ditetesi aquades kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar. Untuk selanjutnya setelah preparat mikroanotomi kering dilakukan pewarnaan dengan metode pewarnaan Hematoxylin Ehrlich-Eosin, kemudian dilakukan *mounting* dengan meneteskan entelan secukupnya dan ditutup dengan *coverglass*. Pengamatan preparat pada setiap perlakuan dilakukan dengan mikroskop cahaya untuk menentukan tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner antar kelompok perlakuan.

Tabel 1. Pengaturan waktu dehidrasi pada *tissue processor*

Proses	Cairan	Waktu
Dehidrasi	Alkohol 80%	2 jam
	Alkohol 95%	2 jam
	Alkohol 95%	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
	Alkohol absolut	1 jam
Clearing	Xylol	1 jam
	Xylol	1 jam
	Xylol	1 jam
Impregnasi	Parafin	2 jam
	Parafin	2 jam
	Parafin	2 jam

Analisis Data

Data tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan dan dilanjutkan uji *Lowest Significant Difference Test* (LSDT) dengan program SPSS untuk mengetahui letak perbedaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan rataan pada tiap perlakuan, hasil analisis statistika menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan uji LSDT (Tabel 2) memperlihatkan perbedaan tebal dinding arteri koroner yang signifikan ($P < 0,05$) antara kontrol (KI) dengan KII, KII dengan kontrol (KI)-KIII-KIV, KIII dengan KII, KIV dengan KII. Hasil ini menunjukkan bahwa tebal dinding arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak normal (KI) lebih tipis dibandingkan pakan lemak tinggi (KII). Tebal dinding arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi (KII) lebih tebal dibandingkan kelompok I, kelompok III, dan kelompok IV. Tebal dinding arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi + *chitosan* secara simultan (KIII) lebih tipis dibandingkan kelompok II. Tebal dinding arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi + *chitosan* setelah satu bulan perlakuan (KIV) lebih tipis dibandingkan kelompok II. Hal ini membuktikan bahwa tikus yang diberi pakan lemak tinggi memiliki dinding arteri koroner tebal dan pemberian *chitosan* dapat mempertipis tebal dinding arteri koroner setelah perlakuan dengan pakan lemak tinggi.

Berdasarkan rataan pada tiap perlakuan, hasil analisis statistika (Tabel 2) memperlihatkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$)

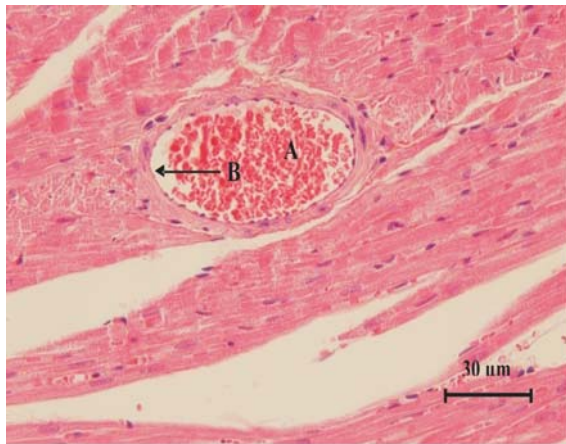
diameter lumen arteri koroner antara KI dengan KIII, KII dengan KIII, KIII dengan KI-KII-KIV, dan KIV dengan KIII. Hasil ini menunjukkan bahwa diameter lumen arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak normal (KI) lebih kecil dibandingkan kelompok tikus yang diberi pakan lemak tinggi + *chitosan* secara simultan (KIII). Diameter lumen arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi (KII) lebih kecil dibandingkan kelompok III. Diameter lumen arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi + *chitosan* secara simultan (KIII) lebih besar dibandingkan kelompok I, kelompok II, dan kelompok IV. Diameter lumen arteri koroner kelompok tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi + *chitosan* setelah satu bulan perlakuan (KIV) lebih kecil dibandingkan kelompok III. Hal ini membuktikan bahwa pakan lemak tinggi + *chitosan* yang diberikan secara simultan dapat memperbesar diameter lumen arteri koroner pada tikus putih. Untuk pakan lemak tinggi meskipun rataannya lebih kecil dibandingkan kontrol tetapi tidak signifikan menurunkan diameter lumen arteri koroner, demikian juga pakan lemak tinggi + *chitosan* yang diberikan setelah satu bulan perlakuan.

Pengamatan preparat histopatologi arteri koroner terlihat dinding arteri koroner terdiri dari tiga tunika berturut-turut dari bagian dalam ke arah luar yaitu tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia. Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak normal (K) menunjukkan gambaran normal (Gambar 1). Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi (KII) menunjukkan gambaran plak ateroma, tunika media penebalan (Gambar 2). Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi dan *chitosan* secara simultan (KIII) menunjukkan gambaran normal (Gambar 3), hampir sama dengan arteri koroner tikus putih

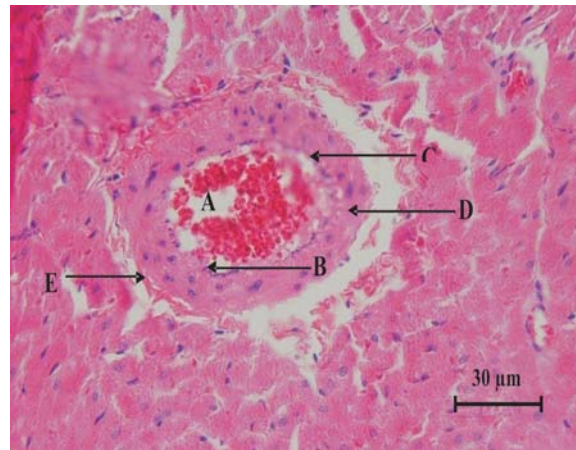
Tabel 2. Tebal dinding dan diameter lumen arteri koroner (μm) pada tikus semua kelompok setelah 90 hari diberi pakan perlakuan

Jenis perlakuan	Tebal dinding	Diameter lumen
Kontrol (KI)	18,94 \pm 2,16 ^a	89,87 \pm 4,85 ^a
Pakan lemak tinggi (KII)	31,02 \pm 2,59 ^b	82,28 \pm 6,11 ^a
Pakan lemak tinggi + <i>chitosan</i> (KIII)	19,76 \pm 0,42 ^c	110,6 \pm 8,25 ^b
Pakan lemak tinggi + <i>chitosan</i> setelah satu bulan (KIV)	20,90 \pm 2,37 ^c	86,86 \pm 4,23 ^a

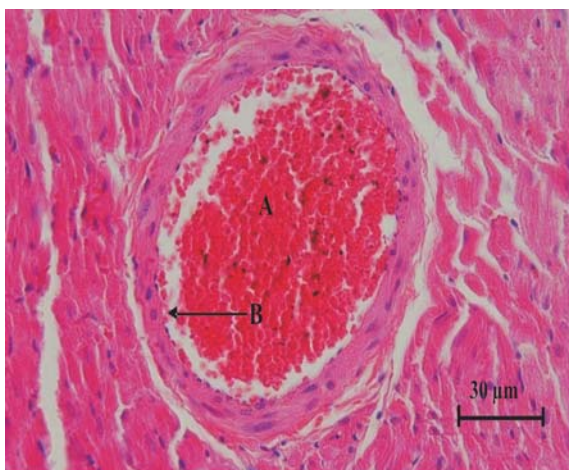
Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata, huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($N=5$, $P < 0,05$)



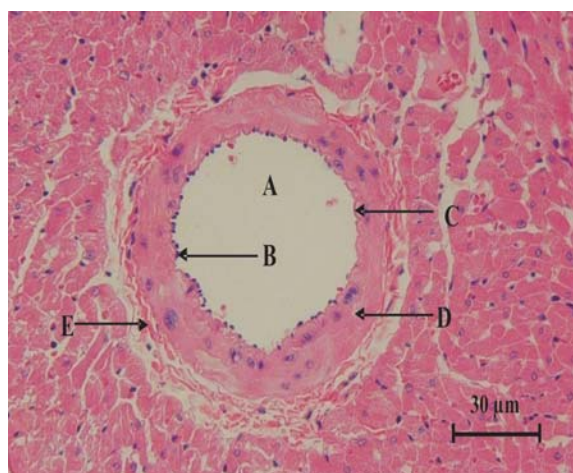
Gambar 1. Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan normal selama 90 hari (KI) tampak normal. A. Lumen arteri koroner dan B. Dinding arteri koroner (H&E, 40x10)



Gambar 2. Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi (KII) selama 90 hari terlihat plak ateroma. A. Lumen arteri koroner B. Dinding arteri koroner C. Tunika intima D. Tunika media dan E. Tunika adventisia (H&E, 40x10)



Gambar 3. Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi dan diberi *chitosan* 180 mg/ kg BB/ hari (KIII) selama 90 hari tampak normal. A. Lumen arteri koroner dan B. Dinding arteri koroner (H&E, 40x10)



Gambar 4. Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi selama 90 hari, kemudian setelah satu bulan perlakuan, hewan tersebut juga diberi *chitosan* 180 mg/ kg BB/ hari (KIV) terlihat plak ateroma. A. Lumen arteri koroner B. Dinding arteri koroner C. Tunika intima D. Tunika media dan E. Tunika adventisia (H&E, 40x10)

yang diberi pakan lemak normal (K). Hal ini menunjukkan bahwa *chitosan* mampu menurunkan kondisi hiperlipidemia dengan sempurna sehingga tidak terbentuk plak ateroma. Arteri koroner tikus putih yang diberi pakan lemak tinggi, kemudian setelah satu bulan perlakuan, hewan tersebut juga diberi *chitosan* (KIV) ada beberapa yang menunjukkan

gambaran normal dan gambaran plak ateroma (Gambar 4), hal ini berarti *chitosan* belum dapat menurunkan kondisi hiperlipidemia dengan sempurna sehingga masih terbentuk plak ateroma.

Xu *et al.*, (2007), melaporkan bahwa kadar kolesterol plasma menurun pada tikus yang diberi *chitosan*, meskipun mekanismenya

belum jelas. Menurut Elleuch *et al.*, (2011), beberapa bahan pangan yang tidak terserap seperti serat bahan pangan (*dietary fiber*) dapat ikut menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Lebih lanjut dikatakan bahwa serat bahan pangan dibutuhkan pada proses pengubahan kolesterol menjadi garam empedu. Menurut Hargono *et al.*, (2008) *chitosan* bila dimakan dapat dianggap suatu serat bahan pangan (*dietary fiber*). Lebih lanjut Wolever *et al.*, (1997) melaporkan bahwa paling sedikit ada empat mekanisme penurunan kolesterol oleh serat bahan pangan yaitu: pengikatan asam empedu di dalam usus halus yang menyebabkan meningkatnya ekskresi asam empedu fekal; penurunan absorpsi lemak dan kolesterol; penurunan laju absorpsi karbohidrat yang menyebabkan penurunan kadar insulin serum sehingga menurunkan rangsangan sintesis kolesterol dan lipoprotein; dan penghambatan sintesis kolesterol oleh asam lemak rantai pendek yang dihasilkan dari fermentasi serat larut di dalam kolon.

Terbentuknya plak ateroma pada penelitian ini menandakan telah terjadi disfungsi endotel, hal ini sependapat dengan Maturana *et al.*, (2007) bahwa disfungsi endotel merupakan kejadian awal dari perkembangan aterosklerosis. Pada kelompok II menunjukkan bahwa pakan lemak tinggi menyebabkan hiperlipidemia sehingga memicu terbentuknya plak ateroma pada arteri koroner, hasil senada dilaporkan oleh Ross (1999) bahwa hiperlipidemia dalam jangka panjang dapat menyebabkan aterosklerosis. Aterosklerosis merupakan penyakit pada arteri yang ditandai dengan penebalan secara parsial atau menyeluruh dinding pembuluh darah karena akumulasi lipid yang disertai dengan pembentukan jaringan fibrosa, kalsifikasi yang berhubungan dengan perubahan tunika intima. Wuryastuty *et al.*, (1995) dan Adji (2007) melaporkan bahwa pakan lemak tinggi yang diberikan pada tikus putih menyebabkan terbentuknya plak ateroma pada aorta. Menurut Libby dan Theroux (2005), kadar kolesterol LDL yang tinggi, memicu penimbunan kolesterol di sel pembuluh darah, yang menyebabkan munculnya aterosklerosis dan terbentuknya plak pada dinding pembuluh darah.

Hasil pengukuran tebal dinding arteri koroner membuktikan bahwa pakan lemak tinggi meningkatkan tebal dinding arteri koroner dan *chitosan* dapat mempertipis tebal

dinding arteri koroner pada tikus putih setelah perlakuan dengan pakan lemak tinggi. Menurut Meisinger *et al.*, (2005) meningkatnya ketebalan tunika intima-media dinding arteri berhubungan dengan konsentrasi apoprotein B dan/atau apoprotein A. Tingginya konsentrasi apoprotein B merupakan indikasi naiknya partikel *small dense*-LDL yang merupakan partikel aterogenik. Partikel *small dense*-LDL tersebut mudah mengalami oksidasi sehingga memicu terjadinya peradangan dan akan terbentuk plak sehingga akan meningkatkan ketebalan dinding arteri koroner. Hasil pengukuran diameter lumen arteri koroner membuktikan bahwa pakan lemak tinggi + *chitosan* yang diberikan secara simultan dapat meningkatkan diameter lumen arteri koroner pada tikus putih. Untuk pakan lemak tinggi meskipun rataannya lebih kecil dari kontrol tetapi tidak signifikan menurunkan diameter lumen arteri koroner, demikian juga pakan lemak tinggi + *chitosan* yang diberikan setelah satu bulan perlakuan. Menurut Lewis *et al.*, (2004) plak yang terbentuk lama-kelamaan terus tumbuh ke dalam lumen sehingga diameter lumen menyempit. Penyempitan lumen mengganggu aliran darah ke distal dari tempat penyumbatan terjadi. Bila ukuran sumbatan meningkat, penyempitan arteri koroner dapat membentuk sirkulasi kolateral, pembuluh darah yang membentuk jalur aliran darah di sekitar penyumbatan.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa pakan lemak tinggi adalah faktor utama penyebab aterosklerosis dan *chitosan* dapat mencegah terjadinya plak ateroma.

SARAN

Dari hasil penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu: Penelitian mengenai aterosklerosis dengan waktu pemberian pakan lemak tinggi yang lebih lama, sehingga didapatkan gambaran histologis aterosklerotik yang lebih lengkap dan penelitian yang menjelaskan tentang mekanisme *chitosan* dalam pencegahan terbentuknya plak ateroma.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji D. 2007. Immunohistochemistry method to detect C-reactive protein in atheroma plaques of Sprague dawley rats fed high lipid ration. *J Sain Vet* 25: 23-29.
- Elleuch M, Bedigian D, Roissex O, Besbes S, Blecker C, Attia H. 2011. Dietary fibre and fibre-rich by product of food processing: Characterizations, technological functionality and commercial application: A review. *Food Chem.* 124: 411-421.
- Fan D, Zhu X, Xu M, Yan J. 2006. Adsorption properties of Chromium by chitosan coated montmorillonite. *J Biol Sci* 6 : 941-945.
- Gallaher DD, Gallaher CM, Mahrt GJ, Carr TP, Hollingshead CH, Heslink Jr. R, Wise J. 2002. A glucomannan and chitosan fiber supplement decreases plasma cholesterol excretion in overweight normocholesterolemic humans. *J Am Coll Nutr* 21: 428-433.
- Hargono, Abdullah, Sumantri I. 2008. Production of chitosan is made of the *Penaeus monodon* shell waste and application to serum cholesterol reduction. *Reaktor.* 12:53-57.
- Hejazi R, Amiji M. 2003. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. *Journal of Controlled Release.* 89: 151-165.
- Junquiera LC, Carneiro J. 2003. *Basic Histology: Text & Atlas.* 10thEd. London. The McGraw-Hill Companies. Inc. Pp. 203-218.
- Lewis R, Gaffin D, Hoefnagels M, Parker B. 2004. *Life fifth edition.* London. McGraw Hill Book Company. Inc. Pp 699-703.
- Libby P, Theroux P. 2005. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation.* 111: 3481-3488.
- Maezaki YK, Tsuji Y, Nakagawa Y, Kawai T, Tsugita W, Takekawa A, Terada H, Hara, Mitsuoka T. 1993. Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Biochi Biotech and Biochem* 57: 1439-1444.
- Maturana MA, Irigoyen MC, Spritzer PM. 2007. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: Current concepts. *Clinic Version Impresa.* 62: 1807-5932.
- Mayes PA, Botham KM. 2003. *Cholesterol Synthesis, Transport, and Excretion.* Harper's Illustrated Biochemistry, 26th edition. London. Mc.Graw Hill, Pp. 219-227.
- Meisinger C, Loewel H, Mraz W, Koenig W. 2005. Prognostic value of apolipoprotein B and A in the prediction of myocardial infarction in middle-aged men and women: result from the MONICA/KORA Augsburg cohort study. *European Heart Journal.* 26:271-278.
- Ross R. 1999. Atherosclerosis An Inflammatory Disease. *NEJM* 340: 115-126.
- Schmidt C, Fagerberg B. 2008. Apo B/apoA-1 ratio is related to femoral artery plaques in 64-year-old women also in cases with low LDL cholesterol. *Atherosclerosis* 196: 817-822.
- Sewvandi GA, Adikary SU. 2012. Synthesizing and characterization of natural biopolymer chitosan derived from shrimp type, *Penaeus monodon.* *Tropical Agricultural Research.* 23 : 272-276.
- Stary HC, Chandler A, Dinsmore BRE, Fuster V, Glagov S, Insull Jr. W, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. 1995. A definition of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Circulation.* 92: 1355-1374
- Vahouny GV, Connors WE, Subramanian S, Lin DS, Gallo LL. 1983. Comparative lymphatic absorption of sitosterol, stigmasterol, fucosterol and differential inhibition of cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr* 33: 576-589.
- Williams HJ, Johnson L, Carson KGS, Jackson CL. 2002. Characteristics of intact and ruptured atherosclerotic plaques in brachiocephalic arteries of apolipoprotein E knockout mice. *ATVB Journal.* 22:788-795.
- Wolever TMS, Hegele RA, Connelly PW, Ranson TPP, Story JA, Furumoto EJ, Jenkison DJA. 1997. Long-term effect of soluble-fiber foods on postprandial fat metabolism in dyslipidemic with E3 and apo E4 genotypes. *Am J Nutr* 66:584-590.
- Wuryastuty H, Wasito R, Raharjo S. 1995. Peroxidation index: Methods and diagnostic value. *A Research Report University Research for Graduate Education.* Directorate General of Higher Education, Jakarta, Indonesia.
- Xu G, Huang X, Qiu L, Wu J. 2007. Mechanism study of chitosan on lipid metabolism in hyperlipidemic rats. *Asia Pac J Clin* 16: 313-317.