

**PENGARUH JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) KAYA
VITAMIN D TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU-PARU
(Studi Eksperimental Pemberian Subkronik pada Tikus Putih Galur Wistar)**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Aliftha Azka Mutya Oktafiani

30101800012

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2022

SKRIPSI

PENGARUH JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) KAYA VITAMIN D TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU-PARU (Studi Eksperimental Pemberian Subkronik pada Tikus Putih Galur Wistar)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Alifta Azka Mutya Oktafiani

30101800012

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal, 25 Januari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I,

Dr. Dra. Atina Husaana Apt. M.Si

Anggota Tim Penguji

dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc.

Pembimbing II,

dr. Bagas Widiyanto, M.Biomed

Dr. dr. Tjatur Sembodo MS

Semarang, 25 Januari 2022

Fakultas kedokteran Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Alifta Azka Mutya Oktafiani

NIM : 30101800012

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah berjudul:

**“PENGARUH JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) KAYA
VITAMIN D TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU-
PARU”**

(Studi Eksperimental Pemberian Subkronik pada Tikus Putih Galur Wistar)

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 13 Januari 2022



Alifta Azka Mutya Oktafiani

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirrabbi lalamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan nikmat dan rahmatNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“PENGARUH JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) KAYA VITAMIN D TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PARU-PARU”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Skripsi ini merupakan bagian dari proyek penelitian Dr. Dra. Atina Husaana, Apt., M.Si yang didanai dari Hibah Penelitian Internal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF., SH., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. Dra. Atina Husaana, Apt., M.Si dan dr. Bagas Widiyanto, M. Biomed selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu, tenaga, ilmu dan kesabarannya untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
3. dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc dan Dr. dr. Tjatur Sembodo MS selaku dosen penguji yang telah memberi nasihat, masukan, serta arahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

4. Dr. dr. Susilorini, MSi. Med, Sp. PA selaku pembimbing penelitian yang telah sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Laboratorium Hewan FK UNISSULA (Mas Mardi), Laboratorium Farmasi FK UNISSULA (Mbak Ninis), Laboratorium Patologi Anatomi RS Islam Sultan Agung (Pak Hadi dan Bu Sukma), Laboratorium Kimia FK Unissula (Bu Eva), Laboratorium Biologi UNNES (Mba Tika dan Bu Wartu) yang telah membantu dalam penelitian ini.
6. Bapak Munarto Tri Cabana, Ibu Eko Liestyani, Adik Maura Tazkia Ilma dan Maura Tazkia Nabila yang telah memberikan doa, kasih sayang, fasilitas, dan dukungan yang tiada hentinya selama penyusunan skripsi ini.
7. Sahabat saya (Wilan, Hanun, Aina, Andini, Kak Hanif, METFORMIN, DORM), keluarga besar Asisten Laboratorium Farmakologi dan keluarga Avenzoar 2018 yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa, berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih sangat jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Akhir kata, penulis hanya bisa berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb

Semarang, 13 Januari 2022

Penulis

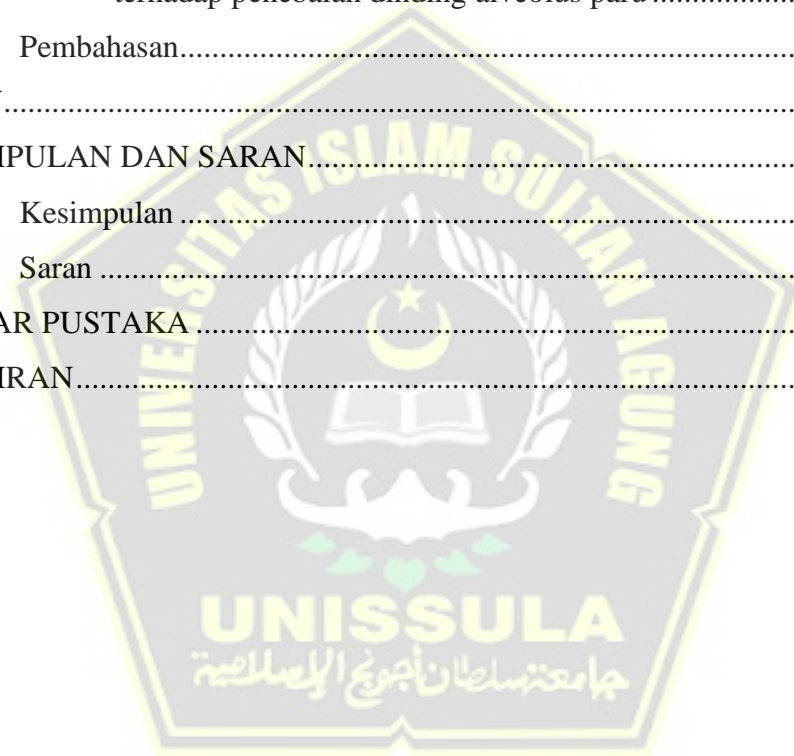


DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Paru	5
2.1.1. Histologi Paru	5
2.1.2. Histopatologi Paru.....	7
2.1.3. Faktor utama penyebab cedera paru.....	9
2.1.4. Derajat kerusakan parenkim paru.....	11
2.2. Jamur Tiram Putih (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	13
2.2.1. Morfologi	13
2.2.2. Klasifikasi	13

2.2.3.	Kandungan Kimia	14
2.2.4.	Khasiat dan Farmakologi Jamur Tiram Putih	15
2.2.5.	Potensi Toksisitas Jamur Tiram Putih.....	17
2.3.	Uji Toksisitas	19
2.3.1.	Uji Toksisitas Subkronis	20
2.4.	Pengaruh Jamur Tiram Putih Kaya Vitamin D terhadap Histopatologi Paru-Paru.....	22
2.5.	Kerangka Teori	25
2.6.	Kerangka Konsep.....	26
2.7.	Hipotesis	26
BAB III		27
METODE PENELITIAN.....		27
3.1.	Jenis Penelitian.....	27
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional.....	28
3.2.1.	Variabel.....	28
3.2.2.	Definisi Operasional	28
3.3.	Subjek Uji Penelitian	31
3.3.1.	Sampel Penelitian.....	31
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian	31
3.4.1.	Instrumen	31
3.4.2.	Bahan Penelitian	32
3.5.	Cara Penelitian.....	32
3.5.1.	Cara Pembuatan Jamur Tiram Putih kaya Vitamin D.....	32
3.5.2.	Penghitungan Dosis Jamur Tiram Putih Kaya Vitamin D.....	33
3.5.3.	Prosedur Penelitian	36
3.5.4.	Cara Pemberian Perlakuan	36
3.5.5.	Pengambilan dan Pembuatan Preparat	37
3.6.	Alur Kerja Penelitian	39
3.7.	Tempat dan Waktu Penelitian	40
3.7.1.	Tempat Penelitian	40
3.7.2.	Waktu Penelitian	40

3.8. Analisis Hasil	40
BAB IV	41
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	41
5.1. Hasil Penelitian	41
5.1.1. Pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap perdarahan organ paru-paru.....	41
5.1.2. Pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap infiltrasi organ paru-paru.....	44
5.1.3. Pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap penebalan dinding alveolus paru	46
5.2. Pembahasan.....	49
BAB V.....	57
KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
5.1. Kesimpulan	57
5.2. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	65



DAFTAR SINGKATAN

DILD	: <i>Drug Induced Lung Disease</i>
GSH	: Gluthathione Sulph Hydril
IgE	: Immunoglobulin E
IgM	: Immunoglobulin M
IL-4	: Interleukin-4
IL-5	: Interleukin-5
IL-8	: Interleukin-8
IL-13	: Interleukin-13
MDA	: Malondialdehyde
Na-CMC	: Natrium-Carboxymethyl Cellulose
NPDS	: <i>National Poison Data System</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
STZ	: Streptozocin
Th-2	: T-Helper 2
TLR	: Toll Like Receptors
UV-B	: Ultraviolet-B
VDR	: <i>Vitamin D Receptors</i>

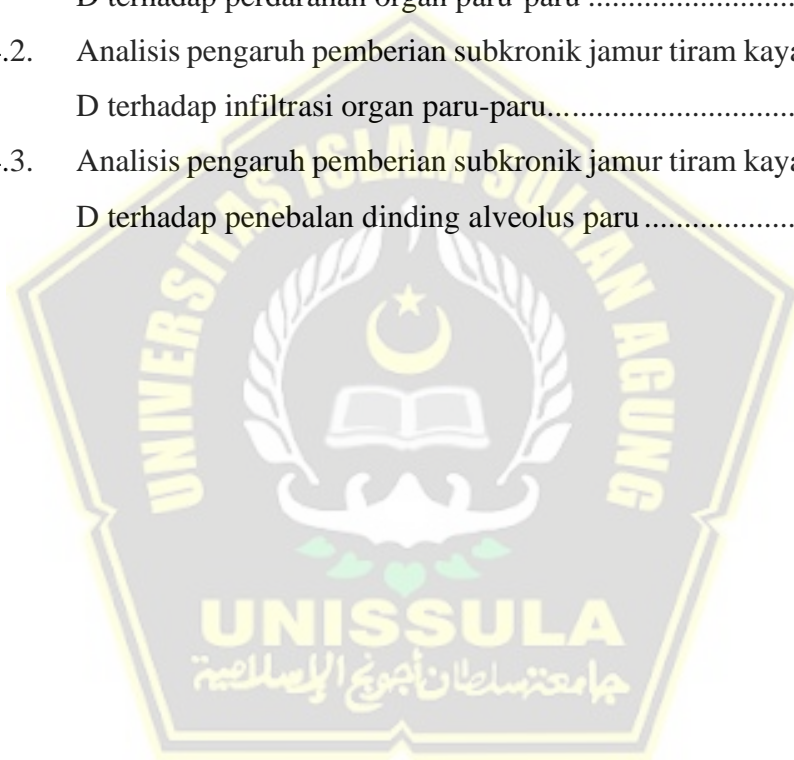


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Paru (Pandangan menyeluruh)	5
Gambar 2.2.	Dinding alveolus dan sel alveolus	6
Gambar 2.3.	Gambaran histologi paru-paru pada perbesaran 400x	9
Gambar 2.4.	Morfologi jamur tiram putih.....	13
Gambar 2.5.	Komponen dinding sel jamur	15
Gambar 2.6.	Kerangka Teori.....	25
Gambar 2.7.	Kerangka Konsep	26
Gambar 3.1.	Skema rancangan penelitian	27
Gambar 3.2.	Alur Penelitian.....	39
Gambar 4.1.	Gambaran Perdarahan pada Histopatologi Paru Tikus.....	42
Gambar 4.2.	Histogram Median Skor Perdarahan	42
Gambar 4.3.	Gambaran Infiltrasi pada Histopatologi Paru Tikus.....	44
Gambar 4.4.	Histogram Median Skor Infiltrasi.....	45
Gambar 4.5.	Gambaran Penebalan Dinding Alveolus pada Histopatologi Paru	47
Gambar 4.6.	Histogram Median Skor Penebalan Dinding Alveolus	47

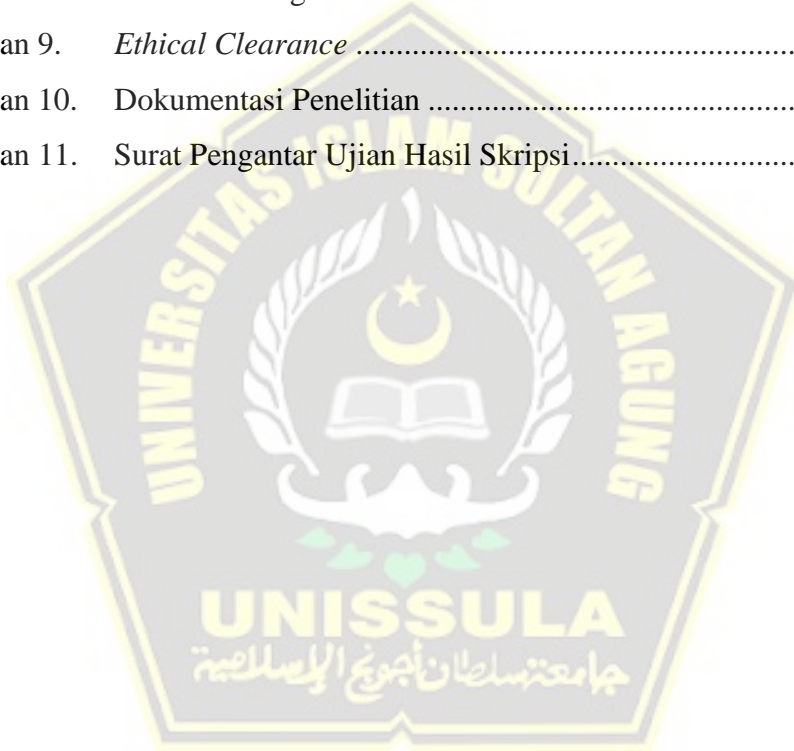
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Skor perdarahan organ paru-paru	12
Tabel 2.2.	Skor infiltrasi organ paru-paru.....	12
Tabel 2.3.	Skor penebalan dinding alveolus	12
Tabel 3.1.	Skor perdarahan organ paru-paru	29
Tabel 3.2.	Skor infiltrasi organ paru-paru.....	29
Tabel 3.3.	Skor penebalan dinding alveolus	30
Tabel 4.1.	Analisis pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap perdarahan organ paru-paru	43
Tabel 4.2.	Analisis pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap infiltrasi organ paru-paru.....	43
Tabel 4.3.	Analisis pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap penebalan dinding alveolus paru	48



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data Hasil Penelitian	66
Lampiran 2.	Hasil Deskripsi Distributif	66
Lampiran 3.	Data Hasil Analisis Deskriptif	69
Lampiran 4.	Hasil Uji Kruskall Wallis	72
Lampiran 5.	Hasil Pembacaan <i>Skoring Choi</i> Paru-paru	74
Lampiran 6.	Surat Izin Penelitian	76
Lampiran 7.	Surat Keterangan Pemakaian Laboratorium	77
Lampiran 8.	Surat Keterangan Bebas Laboratorium	78
Lampiran 9.	<i>Ethical Clearance</i>	79
Lampiran 10.	Dokumentasi Penelitian	80
Lampiran 11.	Surat Pengantar Ujian Hasil Skripsi	77



INTISARI

Jamur tiram putih memiliki kandungan nutrisi dan prekursor vitamin D sehingga berpotensi sebagai suplemen dalam mencegah osteoporosis ternyata juga mengandung bahan yang berpotensi toksik. Dengan demikian perlu dibuktikan keamanannya melalui uji toksisitas subkronis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian subkronik jamur tiram putih kaya vitamin D terhadap histopatologi paru-paru.

Penelitian eksperimental ini menggunakan “*Post Test Only Randomized Control Group Design*” pada 60 ekor tikus putih galur Wistar yang dibagi secara acak dalam enam kelompok. Kelompok perlakuan diberi jamur tiram putih kaya vitamin D sebanyak 0,0016g/200gBB; 0,0817g/200gBB; 0,1634g/200gBB; 0,3269g/200gBB; 0,4087g/200gBB (sesuai dosis lazim pemberian vitamin D pada manusia yaitu 400IU, 2000IU, 4000IU, 8000IU dan 10000IU). Jaringan paru-paru diambil pada hari kematian atau pada hari ke-28 pada tikus yang masih bertahan kemudian dibuat preparat histopatologinya.

Median perdarahan paru-paru tikus jantan dan betina 6 kelompok berturut-turut adalah 2; 1; 1; 2; 1; 3 dan 1; 1; 1; 1; 1; 2. Median infiltrasi pada paru-paru 2; 1; 1; 1; 1; 1 dan 1; 1; 1; 1; 1; 1. Median penebalan dinding alveolus paru 1; 1; 1; 1; 1; 2 dan 1; 2; 1; 2; 2; 1. Hasil uji *Kruskall Wallis* menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan ($p>0,05$) baik pada gambaran perdarahan, infiltrasi dan penebalan dinding alveolus pada histopatologi paru-paru tikus putih galur wistar.

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian subkronik jamur tiram putih kaya vitamin D tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus putih galur wistar.

Kata kunci: Jamur tiram putih kaya vitamin D, gambaran histopatologi paru, uji toksisitas subkronis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu jamur yang populer di Indonesia karena selain murah, jamur ini juga mengandung banyak nutrisi penting dan antioksidan (Egra et al., 2018). Dinding sel jamur ini mengandung ergosterol yang merupakan prekursor vitamin D (Sánchez, 2017). Berdasarkan Husaana & Revoni (2018), kandungan vitamin D yang ada dapat ditingkatkan melalui paparan sinar UV-B. Vitamin D sendiri merupakan immunomodulator dan antimikroba, sehingga kurangnya asupan vitamin D dapat meningkatkan resiko infeksi pada berbagai organ tubuh termasuk paru-paru (Jiang et al., 2020). Kandungan nutrisi dan vitamin D yang ada membuat jamur tiram ini dapat dimanfaatkan sebagai suplemen (Puspitasari & Pangeran, 2015), akan tetapi vitamin D yang jumlahnya berlebihan dalam tubuh ternyata dapat menimbulkan gejala toksisitas (Maranatha et al., 2017). Jamur ini juga mengandung protein sitolitik bernama pleurotolysin (Frangež et al., 2017). Hal tersebut menunjukkan bahwa jamur ini memiliki potensi toksisitas.

Suplementasi vitamin D telah banyak digunakan pada kasus defisiensi vitamin D mengingat tingginya prevalensi kasus ini. Sekitar 1 milyar orang di dunia mengalami defisiensi vitamin D (Paramita & Louisa, 2017). Namun, kurangnya panduan yang tepat dalam pemberian suplementasi ini dapat menimbulkan toksisitas atau hipervitaminosis D. Berdasarkan data

dari *National Poison Data System (NPDS)*, kasus toksisitas vitamin D meningkat dari rata-rata 196 kasus tiap tahun pada tahun 2000-2005 menjadi 4.535 kasus tiap tahun pada tahun 2005-2011 (Lim & Thadhani, 2020).

Penelitian-penelitian sebelumnya terkait jamur tiram putih menunjukkan beberapa kontroversi. Jamur tiram putih kaya vitamin D telah diteliti terkait dengan potensinya untuk dijadikan suplemen dalam mencegah osteoporosis yang dibuktikan dengan meningkatnya kadar kalsium serum pada mencit (Pradana, 2019). Berbeda dengan penelitian tersebut, ternyata diketahui bahwa jamur tiram putih yang dipapar menggunakan sinar UV-B dapat meningkatkan kadar MDA secara signifikan (Hussaana et al., 2019). Peningkatan kadar MDA sendiri merupakan parameter stress oksidatif yang menandakan adanya kerusakan jaringan (Purbowati, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Al-Deen et al., menguatkan adanya potensi toksisitas jamur tiram putih karena mencit yang diberi ekstrak jamur tiram putih mengalami reaksi inflammasi dan perdarahan pada gambaran histopatologi paru-parunya. Berdasarkan potensi toksisitas yang ada, selanjutnya akan dilakukan penelitian mengenai uji toksisitas subkronis untuk mengetahui tingkat keamanannya. Salah satu parameter yang dapat digunakan yaitu histopatologi paru-paru (BPOM, 2014). Paru-paru merupakan organ dengan perfusi baik sehingga hasil metabolisme xenobiotic pleurotolysin cepat terdistribusikan ke paru-paru (Yulianto & Amaloyah, 2017). Akumulasi hasil metabolisme xenobiotic akan memicu timbulnya ROS yang dapat merusak paru-paru (Jaya, 2017).

Berdasarkan data di atas, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian subkronik jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D terhadap histopatologi paru-paru tikus putih galur wistar agar jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D dapat dibuktikan keamanannya dan dapat dimanfaatkan sebagai suplemen.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian subkronik jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D berpengaruh terhadap gambaran histopatologi paru-paru pada tikus putih galur wistar?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui adanya pengaruh penggunaan subkronik jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D terhadap histopatologi paru-paru pada tikus putih galur wistar.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian subkronik berbagai dosis jamur tiram putih kaya vitamin D (400IU/hari, 2000IU/hari, 4000IU/hari, 8000IU/hari, dan 10000IU/hari) terhadap gambaran histopatologi paru-paru pada tikus putih galur wistar.
2. Mengetahui perbedaan gambaran histopatologi paru-paru tikus putih galur wistar pada pemberian subkronik berbagai dosis jamur

tiram putih kaya vitamin D dengan yang tidak diberi jamur tiram putih kaya vitamin D.

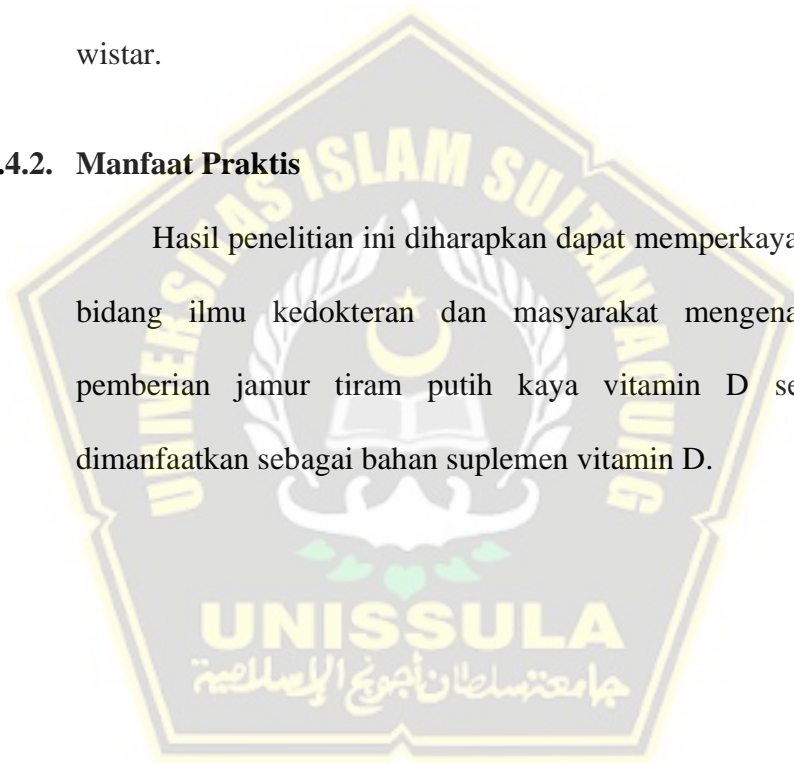
1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai tambahan informasi untuk penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian subkronik jamur tiram putih kaya vitamin D terhadap histopatologi paru-paru pada tikus putih galur wistar.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkaya informasi di bidang ilmu kedokteran dan masyarakat mengenai keamanan pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D sehingga bisa dimanfaatkan sebagai bahan suplemen vitamin D.



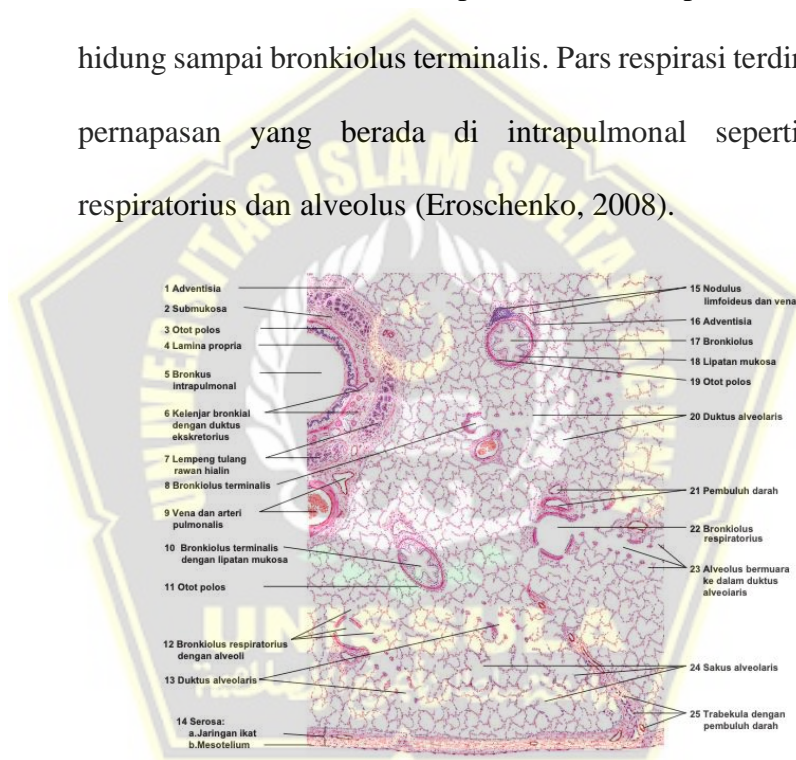
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Paru

2.1.1. Histologi Paru

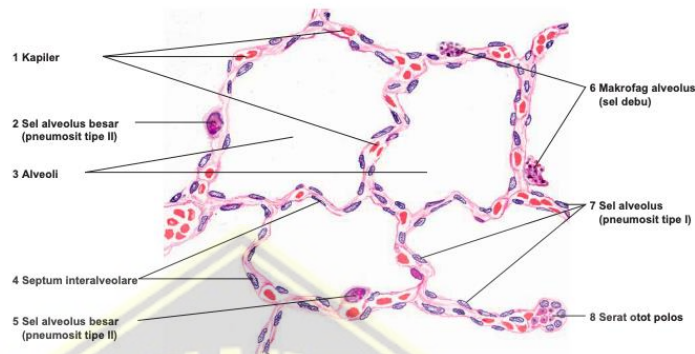
Paru-paru merupakan organ vital dalam sistem respirasi. Sistem respirasi dibagi menjadi pars konduksi dan pars respirasi. Pars konduksi terdiri atas saluran pernafasan ekstrapulmonal dari rongga hidung sampai bronkiolus terminalis. Pars respirasi terdiri dari saluran pernafasan yang berada di intrapulmonal seperti bronkiolus respiratorius dan alveolus (Eroschenko, 2008).



Gambar 2.1. Paru (Pandangan menyeluruh)
Pewarnaan: Hematoksilin dan eosin. Pembesaran kuat
(Eroschenko, 2008)

Alveolus merupakan struktur penyusun parenkim paru yang memiliki diameter sekitar 0,2 mm. Alveolus berbentuk seperti kantong yang terbuka pada salah satu sisinya dan berfungsi sebagai

tempat bertukarnya O₂ dan CO₂ antara udara dan darah. Septum interalveolare merupakan daerah di antara alveoli yang berdekatan yang mengandung serat elastin dan kolagen tipe III, serta banyak mengandung kapiler (Anthony L. Mescher, 2016).



Gambar 2.2. Dinding alveolus dan sel alveolus
Pewarnaan: Hematoksilin dan eosin. Pembesaran kuat
(Eroschenko, 2008).

Alveolus memiliki banyak jenis sel. Sel alveolus tipe I atau yang biasa disebut dengan sel pneumosit tipe I merupakan sel squamous simpleks yang sangat tipis di mana taut selnya berupa desmosome yang bersifat sangat kuat sehingga dapat membentuk sawar darah-udara untuk mencegah kebocoran cairan ke ruang alveolus (Eroschenko, 2008) dan juga sebagai tempat utama pertukaran gas (Anthony L. Mescher, 2016).

Sel pneumosit tipe II berbentuk kuboid dan jumlahnya lebih sedikit daripada sel pneumosit tipe I. Sel ini berfungsi untuk regenerasi dan memproduksi surfaktan paru (Eroschenko, 2008). Surfaktan terdiri dari 10% protein dan 90% lemak yang terdiri dari fosfolipid, kolesterol bebas, trigliserid dan asam lemak bebas (Sallese

et al., 2017). Surfactan paru berfungsi untuk mengurangi tegangan permukaan alveolus sehingga memudahkan alveolus untuk mengembang ketika inspirasi. Selain itu, surfaktan juga memiliki efek bakterisidal yaitu dapat membunuh mikroorganisme patogen yang masuk ke alveolus (Eroschenko, 2008).

Pada alveolus juga dijumpai sel debu yang merupakan sel makrofag yang ada di alveolus. Sel ini berfungsi untuk memfagositosis debu dan partikel asing lainnya yang mencapai alveolus (Eroschenko, 2008).

2.1.2. Histopatologi Paru

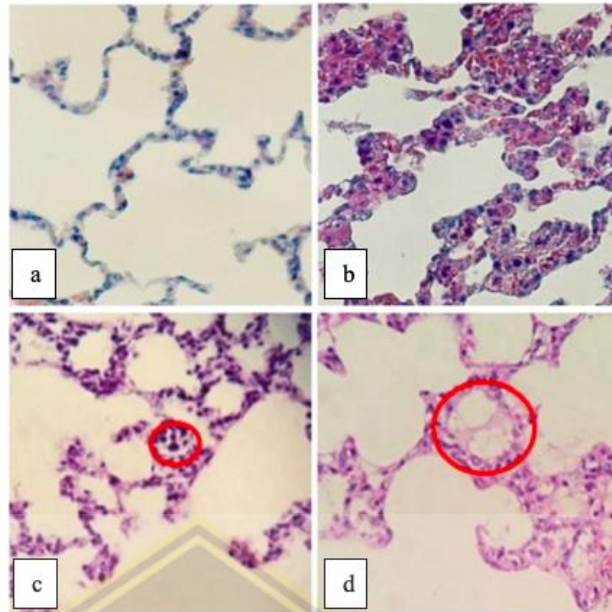
Paru-paru merupakan organ yang berhubungan dengan lingkungan luar dan memiliki pembuluh kapiler terbanyak sehingga mudah terserang agen infeksius baik yang menyebar melalui rute aerogen maupun hematogen (Sholihah, 2019). Semua zat xenobiotik yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami metabolisme di beberapa organ tubuh, salah satunya yaitu paru-paru (Yulianto & Amaloyah, 2017). Alveolus merupakan bagian dari paru-paru yang peka terhadap zat-zat xenobiotik. Epitel alveolus tersusun atas 95% sel pneumosit tipe I gepeng dan sel pneumosit tipe II yang bulat. Sel pneumosit tipe II inilah yang berperan utama untuk memperbaiki epitel alveolus jika terjadi kerusakan (Kumar et al., 2013).

Pada alveolus paru, terjadi difusi dari cairan yang melintasi aliran darah pada alveolus. Hal ini berarti zat xenobiotik yang masuk

dapat diabsorpsi di alveolus (Berniyati, 2018). Masuknya partikel asing ke dalam alveolus menimbulkan inflamasi. Reaksi inflamasi sangat berkaitan dengan reaksi perbaikan di mana reaksi ini berfungsi untuk menghancurkan agen yang merugikan dan memicu proses pemulihan serta penggantian jaringan yang rusak. Namun, ketika terjadi reaksi inflamasi, dihasilkan pula ROS ke ruang ekstrasel yang mana ia dapat menimbulkan cedera endotel dan kerusakan jaringan (Herdiani et al., 2018).

Kerusakan jaringan ada yang bersifat *reversible* dan *irreversible*. Pada kerusakan yang bersifat *reversible*, sel dapat kembali normal apabila stimulus yang menyebabkan jejas dihilangkan. Jika stimulus tetap ada secara terus menerus, maka akan menyebabkan kerusakan yang menetap sehingga sel sampai pada titik di mana tidak dapat kembali ke keadaan semula dan kemudian mengalami nekrosis. Hal ini dinamakan dengan kerusakan sel yang bersifat *irreversible* (Kumar et al., 2013).

Gambaran histopatologi paru seperti yang terlihat pada Gambar 2.3 dapat berupa adanya infiltrasi sel radang, edema paru dan hemorragi atau perdarahan yang ditandai dengan adanya eritrosit di lumen alveolus (Sholihah, 2019).



Gambar 2.3. Gambaran histologi paru-paru pada perbesaran 400x
 (a) Gambaran paru normal, (b) Perdarahan pada alveolus,
 (c) Infiltrasi sel radang, (d) Edema paru
 (Nurpangestu et al., 2019)

2.1.3. Faktor utama penyebab cedera paru

2.1.3.1. Infeksi

Permukaan paru yang terus menerus terpapar udara yang mengandung berbagai mikroba menyebabkan paru mudah mengalami infeksi (Kumar et al., 2013). Infeksi pada saluran pernafasan sering diakibatkan oleh virus dan bakteri (Kurniawan et al., 2015). *Streptococcus pneumoniae* dan *Mycobacterium tuberculosis* merupakan contoh bakteri yang sering menginfeksi paru-paru (Kumar et al., 2013).

2.1.3.2. Paparan asap rokok

Asap rokok mengandung radikal bebas seperti karbon monoksida, formaldehid dan nitrogen oksida dalam jumlah

yang tinggi. Radikal bebas memiliki sifat yang tidak stabil karena ia merupakan elektron yang tidak berpasangan sehingga ia akan bergerak terus mencari pasangan (Herdiani & Putri, 2018). Apabila jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan yang ada maka akan terjadi stress oksidatif (Murray et al., 2003). Stress oksidatif nantinya akan menyebabkan peroksidasi lipid yang akan menimbulkan kerusakan sel dan inflamasi (Tohomi et al., 2014) Reaksi inflamasi yang terjadi menyebabkan terakumulasinya makrofag, limfosit, dan neutrofil di paru (Kumar et al., 2013). Makrofag alveolus sebagai pertahanan pertama akan melepaskan IL-8 dan leukotriene B4 yang selanjutnya memicu protease yang dapat merusak jaringan ikat parenkim paru (Tohomi et al., 2014). Kerusakan jaringan secara terus menerus selanjutnya dapat menyebabkan kematian sel (Kumar et al., 2013).

2.1.3.3. Penyakit paru yang diinduksi obat-obatan

Penyakit paru yang diinduksi obat-obatan atau yang biasa disebut *Drug Induced Lung Disease* (DILD) merupakan efek samping pemberian obat terhadap sistem respirasi. Penyakit ini disebabkan oleh oksidan dan efek sitotoksik langsung dari obat-obatan yang dikonsumsi. Mekanisme penyakit ini sangat terbatas sebab beberapa obat

sering digunakan dalam waktu yang bersamaan. Pada banyak kasus, penyakit ini terkait dengan dosis yang diberikan, seperti pada pemberian busulfan dan bleomisin (Widyaningrum & Hariadi, 2008).

Perubahan histopatologi yang dapat terjadi pada penyakit paru yang diinduksi obat adalah edema paru non-kardiogenik, reaksi hipersensitivitas, pneumonitis interstisial atau fibrosis, kelainan pleura dan mediastinum, penyakit vaskuler paru, *drug-induced lupus* dan *drug-induced bronchospasm* (Widyaningrum & Hariadi, 2008). Salah satu obat yang dapat menyebabkan DILD adalah aspirin di mana orang yang sensitive terhadap aspirin akan mengalami rhinitis berulang, polip, dan bronkospasm. Diperkirakan mekanisme yang terjadi adalah aspirin menghambat rute cyclooxygenase tanpa menghambat rute lipooxygenase. Hal ini meningkatkan produksi leukotrien yang dapat menyebabkan spasme bronkus (Kumar et al., 2013).

2.1.4. Derajat kerusakan parenkim paru

Penilaian derajat kerusakan parenkim paru dilakukan secara kualitatif dengan melihat adanya perdarahan, infiltrasi dan penebalan dinding alveolus. Skor yang digunakan sesuai dengan metode Choi et al., (2013) yang dimodifikasi dari Szapiel et al., (1979) yaitu sebagai berikut:

2.1.4.1. Perdarahan

Tabel 2.1. Skor perdarahan organ paru-paru

Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak terjadi perdarahan	0
Ringan	Perdarahan pada kurang dari 20% paru-paru	1
Sedang	Perdarahan pada 20%-50% paru-paru	2
Berat	Perdarahan pada lebih dari 50% paru-paru	3

2.1.4.2. Infiltrasi

Tabel 2.2. Skor infiltrasi organ paru-paru

Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak ada infiltrasi	0
Ringan	Terdapat infiltrasi sel inflammasi pada kurang dari 20% paru-paru	1
Sedang	Terdapat infiltrasi sel inflammasi pada 20%-50% paru-paru	2
Berat	Terdapat infiltrasi sel inflammasi pada lebih dari 50% paru-paru	3

2.1.4.3. Penebalan dinding alveolus

Tabel 2.3. Skor penebalan dinding alveolus

Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak ada alveolitis	0
Ringan	Penebalan pada kurang dari 20% paru-paru disertai pemeliharaan arsitektur alveolar yang baik	1
Sedang	Penebalan pada 20%-50% paru-paru	2
Berat	Terdapat penebalan pada lebih dari 50% paru-paru	3

2.2. Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

2.2.1. Morfologi

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) adalah jamur yang tumbuh pada batang kayu. Tumbuhan ini memiliki tangkai (*stalk*) yang panjangnya sekitar 2-6 cm dan tudung (*pileus*) yang berbentuk seperti cangkang tiram dengan diameter sekitar 5-15 cm dan pada bagian bawahnya berbentuk seperti insang yang berlapis-lapis (Widodo, 2007).



Gambar 2.4. Morfologi jamur tiram putih
(Hadrawi, 2014)

2.2.2. Klasifikasi

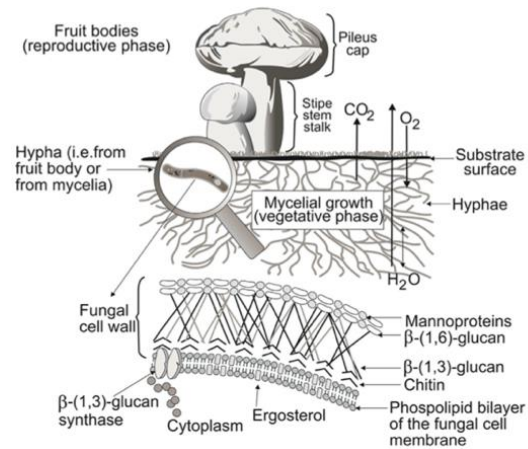
Menurut (Widodo, 2007), taksonomi jamur tiram putih diklasifikasikan sebagai berikut:

Super Kingdom	: Eukaryota
Kingdom	: Myceteae
Divisio	: Amastigomycota
Sub-Divisio	: Basidiomycotina

Kelas	: Basidiomycetes
Sub-kelas	: Holobasidiomycetidae
Ordo	: Agaricales
Familia	: Agaricaceae
Genus	: Pleurotus
Spesies	: Pleurotus ostreatus

2.2.3. Kandungan Kimia

Jamur tiram mengandung vitamin B1 (tiamin), B2 (riboflavin), vitamin C (niasin) dan provitamin D2 (ergosterol) yang jumlahnya cukup tinggi jika dibandingkan dengan jamur lainnya (Nasution, 2016). Jamur ini juga mengandung lemak yang kebanyakan merupakan lemak yang tidak jenuh sehingga aman dikonsumsi untuk orang yang memiliki gangguan metabolisme (Sumarmi, 2006). Mineral yang terkandung dalam jamur ini juga cukup banyak, diantaranya adalah K, Zn, Fe, Mn, Mo, Co, dan Pb (Widyastuti, 2019). Dinding sel jamur ini dibentuk oleh β -glukan, protein, kitin, dan ergosterol (Sánchez, 2017). Protein yang dikandung lebih banyak daripada asparagus dan kubis yaitu 3,5-4% jika dihitung dari berat basah, sedangkan jika dihitung dari berat keringnya, kandungan proteinnya sekitar 19-35% (Sumarmi, 2006).



Gambar 2.5. Komponen dinding sel jamur
(Sánchez, 2017)

2.2.4. Khasiat dan Farmakologi Jamur Tiram Putih

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) merupakan jamur yang bergizi tinggi dan bermanfaat bagi kesehatan (Nasution, 2016). Salah satu kandungannya yaitu provitamin D2 (ergosterol) yang ada pada dinding sel jamur ini. Ergosterol merupakan prekursor vitamin D yang dapat berubah menjadi vitamin D2 (ergokalsiferol) jika diberi paparan sinar UV (Sánchez, 2017). Vitamin D2 yang sudah aktif dapat membantu dalam penyerapan kalsium dan fosfor serta diketahui dapat menekan inflammasi pada saluran nafas (Fatimah et al., 2019). Vitamin D dapat berperan baik dalam sistem imun adaptif maupun sistem imun bawaan. Pada sistem imun bawaan, mekanisme yang terjadi adalah menolak infeksi tanpa membutuhkan pengenalan spesifik terhadap pathogen. Ekspresi TLR (Toll-like receptors) yang mengaktifkan reaksi kekebalan pada monosit dihambat oleh vitamin D, sehingga TLR inflammasi tersupresi. Vitamin D juga berperan

sebagai antimikroba dengan menginduksi peptide antimikroba endogen (*cathelicidin*) dalam sel epitel kulit dan paru manusia sehingga memperkuat barrier untuk melawan allergen lingkungan. Peran vitamin D dalam sistem imun adaptif adalah mempengaruhi Th2 melalui peningkatan IL-4 dan IL-13 serta menurunkan IL-5. IL-4 dan IL-13 akan menginduksi IgM menjadi IgE yang nantinya menyebabkan degranulasi sel mast dan menyebabkan terjadinya pelepasan mediator inflammasi, sedangkan IL-5 berperan dalam rekrutmen eosinophil ke saluran nafas (Lestari & Santoso, 2016)

Di samping itu, jamur ini juga bermanfaat sebagai antioksidan. Sifatnya sebagai antioksidan berasal dari kandungan senyawa polifenol, L-ergotien, β -glukan, selenium dan vitamin C yang terkandung di dalam jamur ini yang dibuktikan dengan menurunnya kadar MDA (Juliana et al., 2018). Berdasarkan penelitian (Rahimah et al., 2010), senyawa polifenol yang terkandung dapat membantu mensintesis GSH yang merupakan antioksidan eksogen tetapi juga dapat meningkatkan sintesis antioksidan endogen sehingga akan meningkatkan sistem imun dalam melawan kerusakan oksidatif. Jamur ini juga mengandung saponin yang berkhasiat sebagai antioksidan. Saponin mampu menghambat peningkatan konsentrasi lipid peroksida (Lusiana, 2015). Senyawa β -1,6 dan β -1,3 glukan yang ada pada dinding sel jamur ini bermanfaat sebagai antioksidan dan juga immunomodulator dengan mengaktifkan makrofag yang

nantinya akan memfagositosis patogen yang masuk ke dalam tubuh (Widyastuti, 2013).

2.2.5. Potensi Toksisitas Jamur Tiram Putih

Penelitian yang dilakukan oleh (Purbowati, 2014) terhadap tikus DM menunjukkan bahwa pemberian jamur tiram putih mampu memperbaiki profil lipid, menurunkan kadar glukosa darah dan menurunkan kadar MDA. Penelitian lain dilakukan pada tikus yang dipapar asap rokok juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol jamur tiram putih mampu mencegah kenaikan kadar MDA (Rahimah et al., 2010). Hal ini bertentangan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Hussaana & Arum, 2019) bahwa pemberian jamur tiram putih meningkatkan kadar MDA secara signifikan. Perbedaan ini kemungkinan diakibatkan oleh bedanya preparasi jamur pada penelitian yang dilakukan oleh (Hussaana & Arum, 2019) di mana jamur diberi paparan radiasi UV-B untuk meningkatkan kandungan vitamin D. Paparan UV-B tersebut juga kemungkinan dapat meningkatkan kandungan ostreolysin yang ada di jamur tiram putih.

Penelitian terdahulu membuktikan bahwa terjadi hipoksia bahkan henti nafas pada tikus yang diberi pleurotolysin dosis tinggi secara intravena. Pleurotolysin atau yang dahulu dikenal sebagai ostreolysin merupakan protein sitolitik. Pleurotolysin akan berikatan dengan membran yang mengandung sphingomyelin dan kolesterol lalu membentuk pori sehingga menyebabkan meningkatnya

permeabilitas sel dan menyebabkan sel mengalami lisis (Frangež et al., 2017). Lisisnya sel disebabkan pula oleh peroksidase lipid yang memutus asam lemak menjadi senyawa toksik seperti MDA (Budhi R et al., 2016). Peningkatan MDA (*malondialdehyde*) menandakan terjadinya stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel maupun jaringan paru. Pada penelitian sebelumnya, didapatkan reaksi inflammasi dan perdarahan pada gambaran histopatologi paru mencit yang diberi jamur tiram putih (Al-Deen et al., 1987).

Kadar vitamin D yang berlebihan dalam tubuh juga diketahui berpotensi merusak sel dalam tubuh karena reseptor vitamin D (VDR) tersebar luas di berbagai jaringan tubuh. VDR akan berikatan dengan bentuk aktif vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D) (Aminah et al., 2014). Jika konsentrasi vitamin D plasma melebihi kemampuan reseptornya, maka akan muncul gejala toksisitas (Maranatha et al., 2017). Seperti yang diketahui sebelumnya bahwa vitamin D berperan dalam absorpsi kalsium, hipervitaminosis D dapat pula menyebabkan hiperkalsemia (Yildiz et al., 2018). Kalsium yang berlebihan ini nantinya dapat terdeposisi dalam dinding arteri dan menyebabkan kalsifikasi vaskuler yang mengakibatkan menurunnya elastisitas pembuluh darah (Kalra & Shanahan, 2012). Hal ini dapat menyebabkan terjadinya krisis hipertensi yang selanjutnya akan menyebabkan edem pulmo (Yildiz et al., 2018). Mekanisme yang berkontribusi dalam proses ini adalah pada keadaan krisis hipertensi,

dapat terjadi gagal jantung. Pada gagal jantung, terjadi akumulasi pasif darah (kongesti) yang dapat meningkatkan tekanan hidrostatik. Jika hal ini terjadi pada sistem vena porta atau terjadi gagal jantung kiri, maka akan terjadi edem pulmo (Rampengan, 2014). Edem pulmo, *drug-induced alveolitis* dan fibrosis dapat menyebabkan perubahan histopatologi paru berupa penebalan membrane alveolus-kapiler (Rosyid & Marhana, 2018).

Dengan demikian, jamur tiram putih kaya vitamin D diketahui dapat berpengaruh terhadap paru-paru. Berdasarkan fakta di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian subkronis jamur tiram putih kaya vitamin D ditinjau dari histopatologi paru tikus putih galur wistar.

2.3. Uji Toksisitas

Kemampuan suatu zat dalam menyebabkan kerusakan pada organisme diuji menggunakan suatu uji yang disebut uji toksisitas (Wahyuni, 2015). Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan data dosis-respon yang nantinya dapat memberikan informasi apakah sediaan uji tersebut aman jika diberikan kepada manusia. Namun, hasil dari uji toksisitas tidak mutlak membuktikan aman atau tidaknya suatu zat melainkan hanya dapat memberikan informasi adanya toksisitas relatif dan untuk mengidentifikasi efek toksik apabila zat tersebut dipaparkan kepada manusia (BPOM, 2014).

Uji toksisitas dibedakan menjadi uji toksisitas *in vitro* dan uji toksisitas *in vivo*. Uji toksisitas *in vitro* dilakukan di luar hewan coba, biasanya

dilakukan menggunakan media kultur sehingga uji ini terbatas hanya pada obat-obat tertentu saja seperti antibiotik, antivirus dan antihelminth. Uji toksisitas in vitro bertujuan untuk mengetahui berapa konsentrasi yang dapat membunuh separuh bahan yang dikultur. Berbeda dengan uji toksisitas in vitro, uji toksisitas in vivo yang dilakukan di dalam tubuh hewan coba digunakan untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu zat dilihat dari perubahan fungsi fisiologis maupun patologis pada organ vital dalam kurun waktu tertentu (Meles, 2010).

Uji toksisitas in vivo dibagi lagi menjadi uji toksisitas umum dan uji toksisitas khusus (Meles, 2010). Uji toksisitas umum dibagi menjadi uji toksisitas akut, subkronis, dan kronis. Sedangkan uji toksisitas khusus terbagi menjadi uji teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik (Wahyuni, 2015).

2.3.1. Uji Toksisitas Subkronis

Uji toksisitas subkronis merupakan uji yang dilakukan untuk mendeteksi adanya toksisitas yang muncul setelah diberikan sediaan uji secara berulang (BPOM, 2014).

Tujuan uji toksisitas subkronis adalah mengetahui efek toksik yang tidak dijumpai pada uji toksisitas akut, mengetahui dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed-Adverse Effect-Level/NOAEL*) setelah pemaparan sediaan uji pada jangka waktu tertentu (BPOM, 2014)

Prinsip dari uji toksisitas subkronis adalah kelompok hewan uji setiap harinya akan diberikan satu dosis per kelompok dengan

tingkatan dosis yang berbeda tiap kelompoknya selama 28-90 hari dan terdapat pula kelompok satelit untuk menilai adanya efek yang bersifat *reversible* (Wahyuni, 2015). Uji toksisitas subkronis singkat oral atau yang dilakukan selama 28 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang pemakaiannya kurang dari satu minggu sedangkan uji toksisitas yang dilakukan selama 90 hari digunakan untuk menguji sediaan uji yang penggunaannya selama 1-4 minggu (BPOM, 2014).

Pada uji toksisitas subkronik, rute pemberian sediaan uji harus sama dengan penggunaan di klinik (Meles, 2010). Dosis yang diberikan harus sama dengan dosis lazim pada manusia dan minimal digunakan 3 kelompok dosis berbeda yang meliputi 1 kelompok serta 2 kelompok satelit (BPOM, 2014). Dosis lazim konsumsi vitamin D menurut *Endocrine Society* bervariasi dari 400IU/hari hingga 10000IU/hari (Paramita & Louisa, 2017). Pada penelitian yang dilakukan oleh Pradana (2019) pula, diketahui bahwa serbuk jamur tiram putih kaya vitamin D dengan dosis 5000IU, 8000IU, dan 10000IU dapat meningkatkan kadar kalsium serum sehingga berpotensi sebagai suplemen dalam mencegah dan mengobati osteoporosis.

Hewan uji yang biasa digunakan adalah rodensia tikus putih. Tikus akan diamati setiap hari dan apabila mati selama periode pemberian namun belum melewati periode rigor mortis (kaku) maka harus segera dinekropsi dan diamati organ serta jaringannya secara

makropatologi maupun histopatologi. Pada akhir periode pemberian, semua hewan yang masih hidup diterminasi lalu dinekropsi organ serta jaringannya untuk selanjutnya diamati secara makropatologi maupun histopatologi (BPOM, 2014).

2.4. Pengaruh Jamur Tiram Putih Kaya Vitamin D terhadap Histopatologi Paru-Paru

Senyawa polifenol, L-ergotien, β -glukan, selenium dan vitamin C yang terkandung dalam jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D ini merupakan antioksidan yang dapat menekan terjadinya stress oksidatif dengan cara menjadi donor elektron kepada radikal bebas sehingga mencegah kerusakan pada sel maupun jaringan paru (Juliana et al., 2018). Selain itu terdapat pula kandungan provitamin D2 (ergosterol) yang dapat diaktifkan menjadi vitamin D2 (ergokalsiferol) oleh paparan sinar UV. Vitamin D2 berguna untuk menekan inflammasi pada saluran nafas. Namun, apabila kadar vitamin D berlebihan dalam tubuh, akan terjadi intoksikasi vitamin D yang selanjutnya dapat menyebabkan toksisitas pada paru-paru di mana hal ini ditandai dengan adanya edem pada pulmo (Yildiz et al., 2018). Kadar vitamin D yang masih aman jika dikonsumsi dalam tubuh menurut *Endocrine Society* adalah sebanyak 2000 IU/hari pada bayi yang berusia <1 tahun, 4000 IU pada anak usia 1-18 tahun, dan 10.000 IU pada dewasa usia >18 tahun (Paramita & Louisa, 2017).

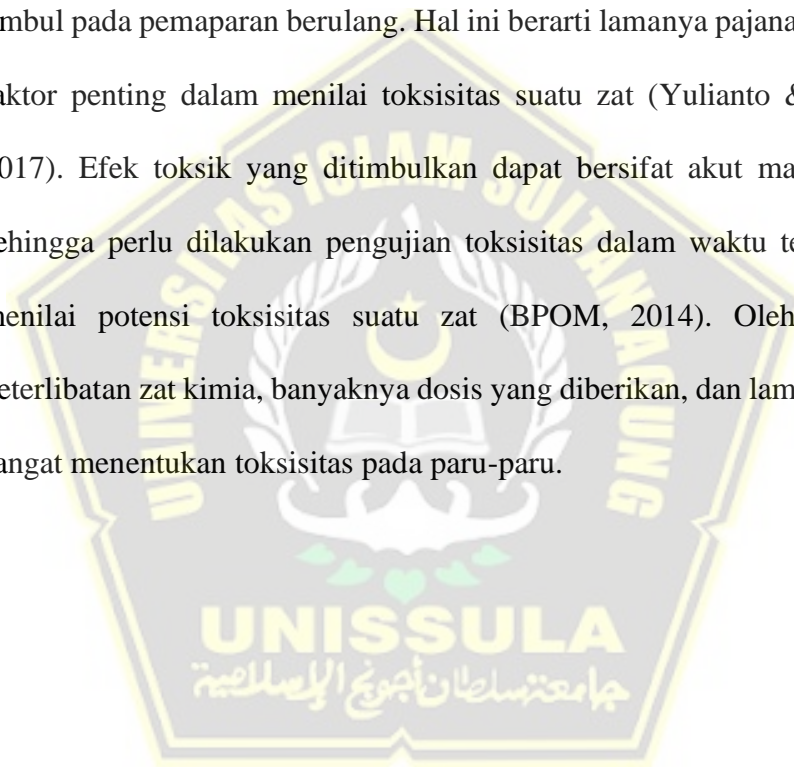
Sama halnya dengan kandungan pleurotolysin yang merupakan zat asing yang secara alami tidak terdapat dalam tubuh manusia atau bisa disebut

dengan xenobiotic. Pleurotolysin dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan paru. Organ tubuh seperti ginjal, hati, paru, lambung merupakan organ dengan perfusi darah yang baik. Hal ini menyebabkan xenobiotic terdistribusi dengan cepat ke dalam organ tersebut dan akan mengambil xenobiotika dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan daerah yang perfusinya kurang baik (Yulianto & Amaloyah, 2017).

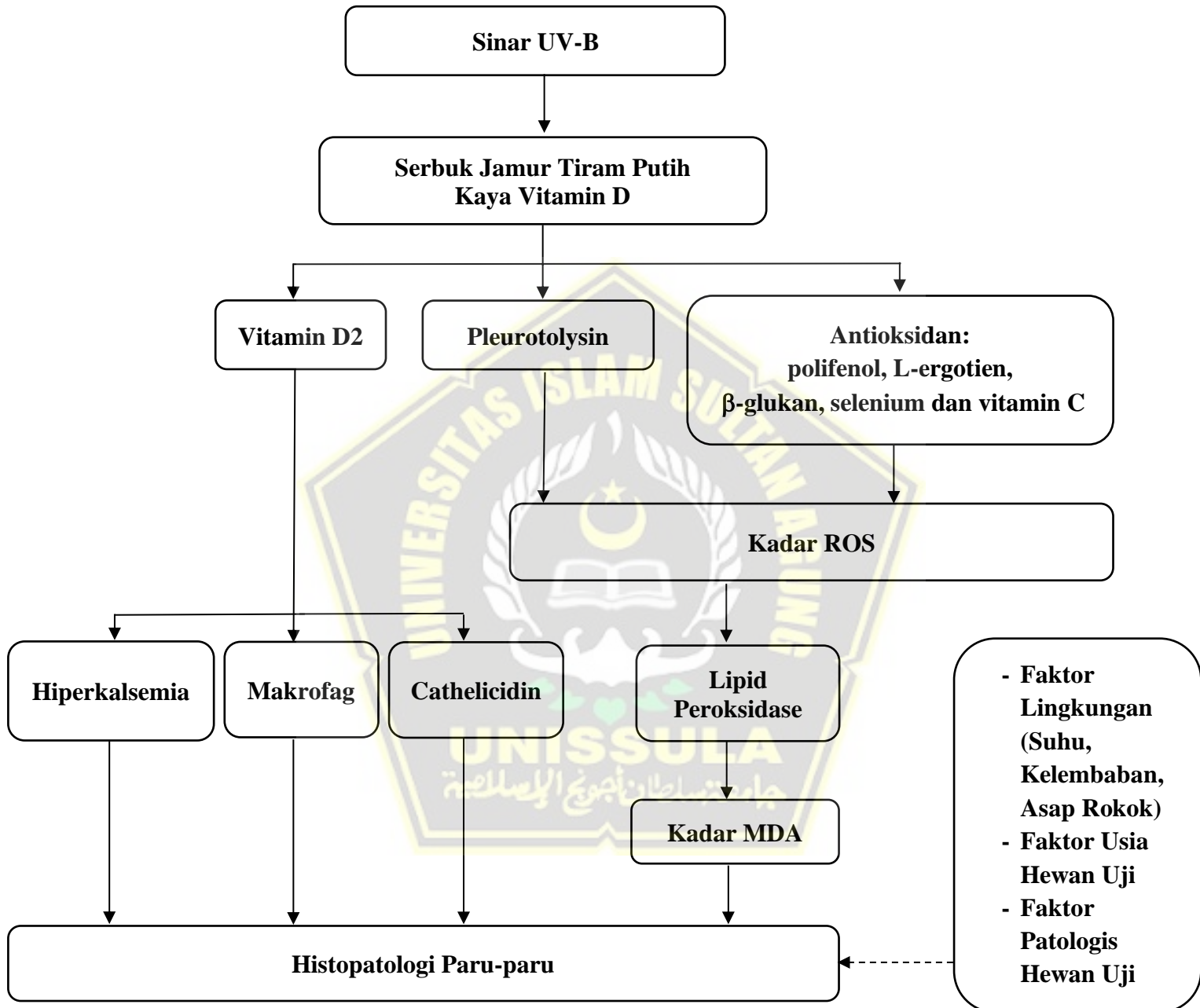
Penelitian ini dikhususkan pada paru karena paru merupakan organ setelah hepar yang bereaksi terhadap zat xenobiotik dan berperan untuk mengkatalis reaksi biotransformasi zat xenobiotik (Susianti, 2013). Reaksi biotransformasi atau metabolisme fase I dari xenobiotik menyebabkan teraktivasinya xenobiotik menjadi senyawa yang dapat merusak sel (Kumar et al., 2013). Akumulasi xenobiotic di jaringan paru akan memicu timbulnya ROS. *Reactive oxygen species* selanjutnya akan menimbulkan peroksidasi lipid yang akan merusak sel pneumosit tipe I dan II (Jaya, 2017). Lipid peroksidase ini mampu menghasilkan MDA yang merupakan biomarker stress (Ayala et al., 2014). Kerusakan pada tipe sel ini akan menyebabkan edema cairan hemoragik dan infiltrasi sel radang ke dalam ruang alveolus. Akibatnya, pertukaran oksigen dan difusi CO₂ menjadi terganggu (Jaya, 2017). Di samping itu, kandungan pleurotolysin yang merupakan protein sitolitik juga diketahui dapat menyebabkan lisinya sel seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya (Frangež et al., 2017).

Kerusakan pada sel paru dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi atau dosis yang diberikan dan lama pajanan (Darmawan, 2015).

Pada abad ke-16, Paracelus menyatakan bahwa semua zat sejatinya adalah racun, namun hanya dosis yang dapat membuat zat tersebut menjadi tidak beracun (Kumar et al., 2013). Hal ini menandakan bahwa dosis merupakan faktor utama dalam menentukan apakah zat tersebut toksik atau tidak. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi pula abnormalitas histopatologi paru yang terjadi (Muljadi et al., 2014). Selain itu, efek toksik yang timbul pada pemaparan tunggal tidak sama dengan efek toksik yang timbul pada pemaparan berulang. Hal ini berarti lamanya pajanan merupakan faktor penting dalam menilai toksisitas suatu zat (Yulianto & Amaloyah, 2017). Efek toksik yang ditimbulkan dapat bersifat akut maupun kronis, sehingga perlu dilakukan pengujian toksisitas dalam waktu tertentu untuk menilai potensi toksisitas suatu zat (BPOM, 2014). Oleh karena itu, keterlibatan zat kimia, banyaknya dosis yang diberikan, dan lamanya pajanan sangat menentukan toksisitas pada paru-paru.



2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.6. Kerangka Teori

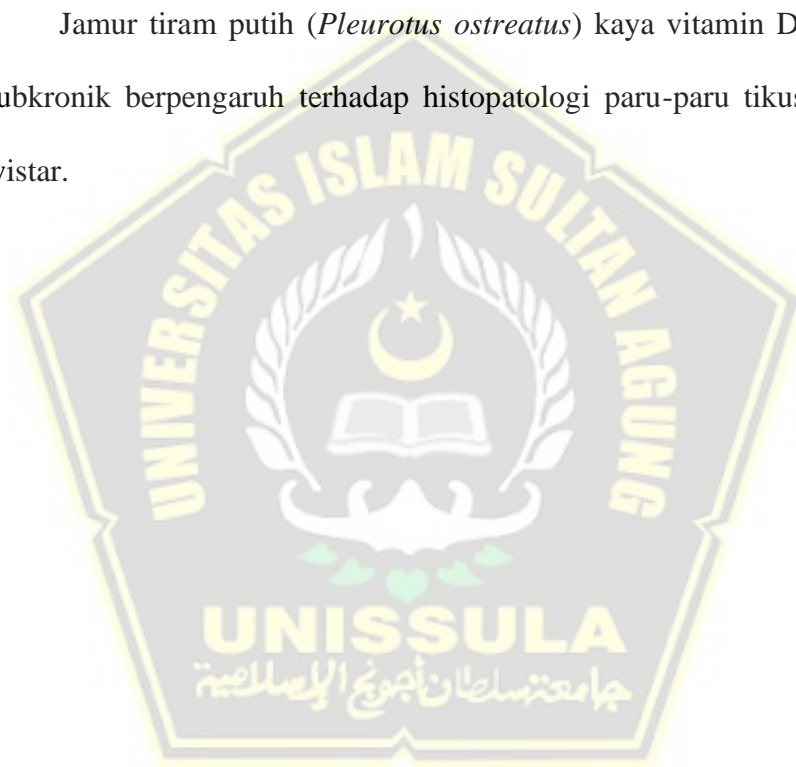
2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.7. Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D penggunaan subkronik berpengaruh terhadap histopatologi paru-paru tikus putih galur wistar.

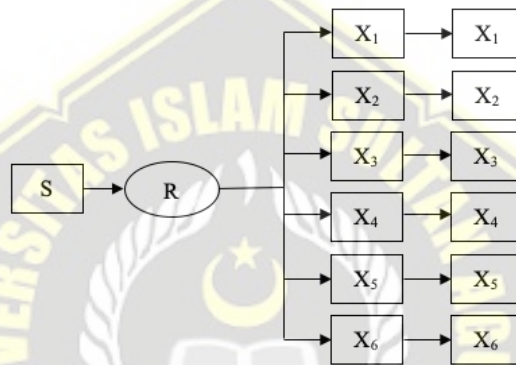


BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian eksperimental ini dilakukan menggunakan “*Post Test Only Randomized Control Grup Design*” terhadap 60 ekor tikus putih galur wistar yang kemudian dibagi menjadi 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan, seperti pada Gambar 3.1 berikut:



Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian

Keterangan:

S = Sampel berupa tikus putih galur wistar 50 ekor

R = Randomisasi

X₁ = Kelompok kontrol

X₂ = Kelompok dosis 400IU

X₃ = Kelompok dosis 2000IU

X₄ = Kelompok dosis 4000IU

X₅ = Kelompok dosis 8000IU

X₆ = Kelompok dosis 10000IU

O₁ = Observasi kelompok kontrol

O₂ = Observasi pengaruh perlakuan pada tikus yang diberi dosis 400IU

O₃ = Observasi pengaruh perlakuan pada tikus yang diberi dosis 2000IU

O₄ = Observasi pengaruh perlakuan pada tikus yang diberi dosis 4000IU

O₅ = Observasi pengaruh perlakuan pada tikus yang diberi dosis 8000IU

O₆ = Observasi pengaruh perlakuan pada tikus yang diberi dosis 10000IU

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Bebas

Dosis jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D.

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Histopatologi paru-paru.

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Kaya Vitamin D

Jamur tiram putih kaya vitamin D merupakan jamur tiram putih yang diperoleh dari tempat pembudidayaan jamur tiram di Banyumanik, Semarang yang kemudian dilakukan penyinaran dengan sinar UV-B selama 90 menit pada kedua sisinya lalu dikeringkan dan dijadikan serbuk. Serbuk jamur kemudian disuspensikan dengan *Na-CMC* 1% dan diberikan 4 ml per tikus per oral dengan dosis hasil konversi yang setara dengan dosis manusia yaitu 400IU, 2000IU, 4000IU, 8000IU, dan 10000IU. Suspensi tersebut diberikan menggunakan sonde 1 kali sehari selama 28 hari.

Skala : Nominal

3.2.2.2. Histopatologi Paru-paru

Histopatologi paru-paru digambarkan sebagai derajat kerusakan paru-paru yang hasilnya diperoleh dari

pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Setiap preparat akan dilihat secara keseluruhan lalu dilakukan skoring pada tiap parameter derajat kerusakan organ paru yang meliputi perdarahan, infiltrasi dan penebalan dinding alveolus.

Skor penilaian derajat kerusakan paru-paru sesuai dengan metode Choi et al., (2013) yang merupakan modifikasi dari Szapiel et al., (1979) dapat dilihat pada tabel berikut:

a) Perdarahan

Penentuan skor perdarahan organ paru-paru setiap subjek ditentukan oleh *expert* dengan mengacu Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Skor perdarahan organ paru-paru

Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak terjadi perdarahan	0
Ringan	Perdarahan pada kurang dari 20% paru-paru	1
Sedang	Perdarahan pada 20%-50% paru-paru	2
Berat	Perdarahan pada lebih dari 50% paru-paru	3

b) Infiltrasi

Penentuan skor infiltrasi organ paru-paru setiap subjek ditentukan oleh *expert* dengan mengacu Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Skor infiltrasi organ paru-paru

Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak terjadi infiltrasi	0

Ringan	Terdapat infiltrasi sel inflammasi pada kurang dari 20% paru-paru	1
Sedang	Terdapat infiltrasi sel inflammasi pada 20%-50% paru-paru	2
Berat	Terdapat infiltrasi sel inflammasi pada lebih dari 50% paru-paru	3

c) Penebalan dinding alveolus

Penentuan skor penebalan dinding alveolus setiap subjek ditentukan oleh *expert* dengan mengacu Tabel 3.3.

Tabel 3.3. Skor penebalan dinding alveolus

Perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak ada alveolitis	0
Ringan	Penebalan pada kurang dari 20% paru-paru disertai pemeliharaan arsitektur alveolar yang baik	1
Sedang	Penebalan pada 20%-50% paru-paru	2
Berat	Terdapat penebalan pada lebih dari 50% paru-paru	3

Penentuan kesimpulan diambil dari perbedaan skor antar kelompok pada parameter perdarahan, infiltrasi dan penebalan dinding alveolus.

Skala : Ordinal

3.3. Subjek Uji Penelitian

3.3.1. Sampel Penelitian

Sebagai hewan uji pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar dengan umur 2-3 bulan yang memiliki berat badan 200-300 gram (BPOM, 2014).

3.3.1.1. Besar Sampel

Berdasarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan, besar sampel tiap kelompok dosis sebanyak 10 ekor tikus putih galur Wistar di mana terdiri dari 5 ekor hewan jantan dan 5 ekor hewan betina (BPOM, 2014). Sehingga jumlah tikus keseluruhan adalah 60 ekor.

3.3.1.2. Cara *Sampling*

Tikus dibagi menjadi 6 kelompok penelitian dengan cara random sederhana.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

1. Kandang tikus dengan pakan dan minum
2. Timbangan tikus
3. Sonde oral
4. Alat-alat gelas (beker glass, gelas ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, pipet tetes)
5. *Sentrifuge*
6. Lampu UV-B narrowband TL-F72-100W/12

7. Oven
8. Alumunium foil
9. Kain
10. Grinder
11. Spektrofotometri

3.4.2. Bahan Penelitian

1. Tikus putih galur Wistar
2. Serbuk jamur tiram putih kaya vitamin D
3. Aquades
4. *Na-CMC* 1%

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Cara Pembuatan Jamur Tiram Putih kaya Vitamin D

3.5.1.1. Sinar UV-B pada Jamur Tiram Putih

Pada penelitian terdahulu diketahui bahwa penyinaran menggunakan sinar UV-B dapat meningkatkan kadar vitamin D₂ (Cardwell et al., 2018) dan lamanya penyinaran mempengaruhi kadar vitamin D₂ yang ada (Hussaana & Revoni, 2018). Pemaparan sinar UV dilakukan selama 90 menit. Lama pemaparan didasarkan pada penelitian sebelumnya di mana kadar ergokarsiferol tertinggi didapatkan pada pemaparan selama 90 menit (Ruslan et al., 2011).

3.5.1.2. Pembuatan Suspensi Jamur Tiram Putih

Jamur tiram putih sebanyak 2 kg disinari UV-B selama 90 menit kemudian disuwir-suwir hingga tipis. Kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C selama 3x24 jam. Jamur yang sudah kering kemudian digiling menggunakan grinder selama 5 menit lalu disaring dengan ayakan 120 mesh (Widyastuti & Istini, 2004). Serbuk jamur tiram putih yang sudah halus kemudian dibagi dalam dosis 0,18 mcg; 0,9 mcg; 1,8 mcg; 3,6 mcg dan 4,5 mcg per tikus. Selanjutnya, dilarutkan dalam *Na-CMC* 1% kemudian diberikan menggunakan sonde oral sebanyak 4 ml per tikus.

3.5.2. Penghitungan Dosis Jamur Tiram Putih Kaya Vitamin D

Dosis yang digunakan adalah dosis hasil konversi dosis lazim manusia terhadap dosis tikus dengan bobot 200 gram. Faktor konversi manusia terhadap tikus 200 gram adalah 0,018 (Stevani, 2016).

Perhitungan:

- a. Dosis 400 IU

Dosis jamur tiram putih untuk tikus 200 gram adalah

$$= 400 \times 0,018$$

$$= 7,2 \text{ IU per tikus}$$

$$= 7,2 \times 0,025 \text{ mcg}$$

$$= 0,18 \text{ mcg per tikus}$$

*Kandungan vitamin D dalam jamur tiram putih sebanyak

$$11,0099 \text{ mcg}$$

$$1/x = 11,0099/0,18$$

$$x = 0,01634 \text{ g per tikus}$$

b. Dosis 2000 IU

Dosis jamur tiram putih untuk tikus 200 gram adalah

$$= 2000 \times 0,018$$

$$= 36 \text{ IU per tikus}$$

$$= 36 \times 0,025 \text{ mcg}$$

$$= 0,9 \text{ mcg per tikus}$$

*Kandungan vitamin D dalam jamur tiram putih sebanyak

$$11,0099 \text{ mcg}$$

$$1/x = 11,0099/0,9$$

$$x = 0,0817 \text{ g per tikus}$$

c. Dosis 4000 IU

Dosis jamur tiram putih untuk tikus 200 gram adalah

$$= 4000 \times 0,018$$

$$= 72 \text{ IU per tikus}$$

$$= 72 \times 0,025 \text{ mcg}$$

$$= 1,8 \text{ mcg per tikus}$$

*Kandungan vitamin D dalam jamur tiram putih sebanyak

$$11,0099 \text{ mcg}$$

$$1/x = 11,0099/1,8$$

$$x = 0,1634 \text{ g per tikus}$$

d. Dosis 8000 IU

Dosis jamur tiram putih untuk tikus 200 gram adalah

$$= 8000 \times 0,018$$

$$= 144 \text{ IU per tikus}$$

$$= 144 \times 0,025 \text{ mcg}$$

$$= 3,6 \text{ mcg per tikus}$$

*Kandungan vitamin D dalam jamur tiram putih sebanyak

$$11,0099 \text{ mcg}$$

$$1/x = 11,0099/3,6$$

$$x = 0,3269 \text{ g per tikus}$$

e. Dosis 10000 IU

Dosis jamur tiram putih untuk tikus 200 gram adalah

$$= 10000 \times 0,018$$

$$= 180 \text{ IU per tikus}$$

$$= 180 \times 0,025 \text{ mcg}$$

$$= 4,5 \text{ mcg per tikus}$$

*Kandungan vitamin D dalam jamur tiram putih sebanyak

$$11,0099 \text{ mcg}$$

$$1/x = 11,0099/4,5$$

$$x = 0,4087 \text{ g per tikus}$$

Serbuk jamur tiram putih sebanyak 0,01634 g; 0,0817 g; 0,1634 g; 0,3269 g; dan 0,4087 g per tikus masing-masing dilarutkan dalam *Na-CMC* 1% lalu diberikan sebanyak 4 ml per tikus menggunakan sonde oral.

3.5.3. Prosedur Penelitian

1. Diambil 60 tikus putih galur wistar yang memenuhi kriteria.
2. Tikus diadaptasikan selama 7 hari agar tidak mengalami stress.
Tikus putih diberi minum secara *ad libitum*.
3. Tikus diacak secara random sederhana dan dibagi ke dalam 6 kelompok, di mana tiap kelompok terdiri dari 5 ekor jantan dan 5 ekor betina.
4. Pemberian perlakuan selama 28 hari.
5. Pemeriksaan gambaran histopatologi paru-paru.

3.5.4. Cara Pemberian Perlakuan

3.5.4.1. Kelompok Kontrol

Tikus putih galur wistar diberi pakan standar, akuades dan hanya *Na-CMC 1%* tanpa pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D selama 28 hari.

3.5.4.2. Kelompok Jamur Tiram Putih Kaya Vitamin D

1. Kelompok dosis 400 IU

Tikus putih galur wistar selama 28 hari diberi pakan standar, akuades serta jamur tiram putih kaya vitamin D dengan dosis 400IU yang dilarutkan dalam *Na-CMC 1%*.

2. Kelompok dosis 2000 IU

Tikus putih galur wistar selama 28 hari diberi pakan standar, akuades serta jamur tiram putih kaya vitamin D dengan dosis 2000IU yang dilarutkan dalam *Na-CMC* 1%.

3. Kelompok dosis 4000 IU

Tikus putih galur wistar selama 28 hari diberi pakan standar, akuades serta jamur tiram putih kaya vitamin D dengan dosis 4000IU yang dilarutkan dalam *Na-CMC* 1%.

4. Kelompok dosis 8000 IU

Tikus putih galur wistar selama 28 hari diberi pakan standar, akuades serta jamur tiram putih kaya vitamin D dengan dosis 8000IU yang dilarutkan dalam *Na-CMC* 1%.

5. Kelompok dosis 10000 IU

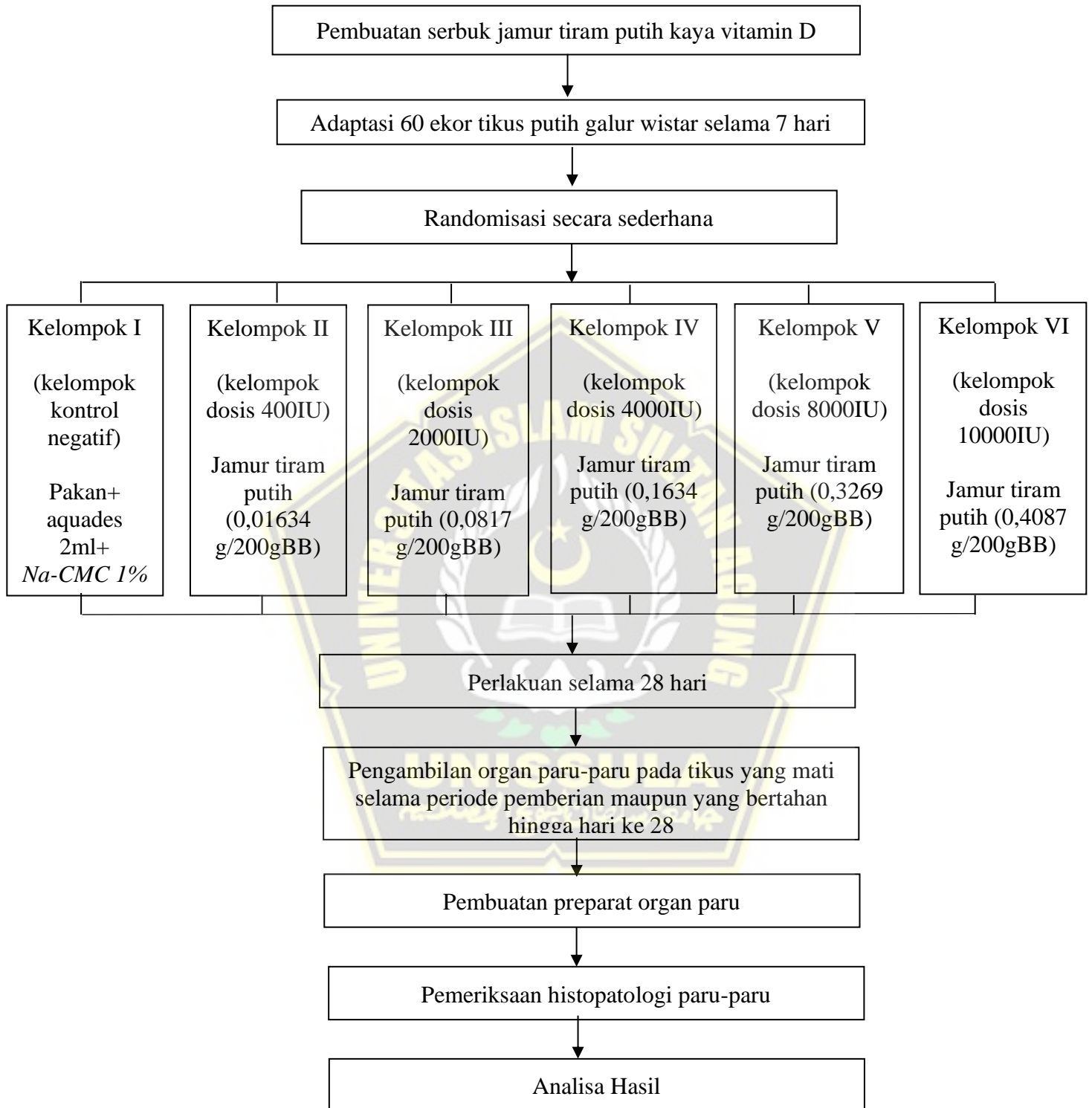
Tikus putih galur wistar selama 28 hari diberi pakan standar, akuades serta jamur tiram putih kaya vitamin D dengan dosis 10000IU yang dilarutkan dalam *Na-CMC* 1%.

3.5.5. Pengambilan dan Pembuatan Preparat

Organ paru-paru diambil dari tikus yang mati selama periode pemberian maupun yang bertahan hingga hari ke-28. Pada tikus yang masih bertahan hingga hari ke-28, dilakukan tindakan anestesi terlebih

dahulu baru selanjutnya dilakukan euthanasia (BPOM, 2014). Organ yang sudah diambil kemudian difiksasi menggunakan buffer formalin 10% untuk selanjutnya dibuat preparat histologinya. Pada pembuatan preparat, organ akan dipotong kecil hingga berukuran ± 3 mm. Selanjutnya organ dimasukkan ke dalam *tissue cassette* dan diberi label lalu didehidrasi menggunakan alcohol dengan konsentrasi bertingkat. Setelah itu dilakukan penjernihan menggunakan xylol untuk selanjutnya direndam dalam parafin cair kemudian dicetak dalam *embedding cassette* lalu dilakukan proses pengeblokan. Organ yang sudah tercetak kemudian dipotong menggunakan mikrotom hingga tebalnya 4-5 mikron, kemudian direndam di dalam waterbath dengan suhu 50° C selama beberapa detik dan direkatkan di obyek glass. Obyek glass yang sudah ditempel organ tadi kemudian diwarnai menggunakan pewarnaan hematoksilin eosin dan dimounting menggunakan entelan. Selanjutnya preparat dibaca menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.

3.6. Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium IBL (*Integrated Biomedical Laboratory*) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober – Desember 2021.

3.8. Analisis Hasil

Dari hasil pengamatan histopatologi paru-paru lalu dilakukan skoring untuk parameter perdarahan, infiltrasi, dan penebalan dinding alveolus. Tiap kelompok akan dilakukan uji deskriptif untuk melihat nilai mean, median dan modus, kemudian diuji menggunakan uji non parametrik *Kruskall-Wallis* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan.



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

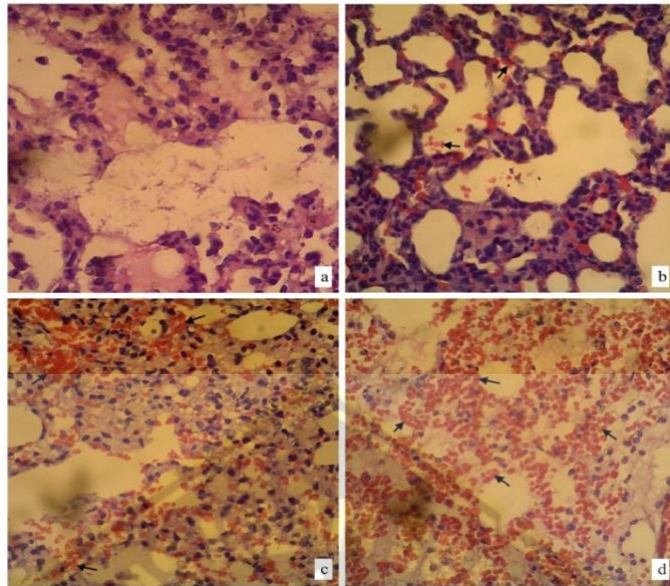
5.1. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh penggunaan subkronik jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) kaya vitamin D terhadap histopatologi paru-paru ini telah dilakukan selama 28 hari di IBL FK Unissula Semarang. Selama penelitian berlangsung, 34 tikus mati sebelum hari ke-28. Belum diketahui penyebab pastinya, akan tetapi terdapat keadaan patologis seperti tikus mengalami penurunan berat badan, terengah-engah dan sesak yang mungkin dapat menjadi penyebab kematiannya. Tikus yang mati selama perlakuan maupun yang bertahan hingga hari ke 28 tetap dilakukan analisis histopatologi paru-parunya sehingga total data yang dianalisis sebanyak 60 ekor yang terbagi atas 6 kelompok yang terdiri atas 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan. Hasil analisis histopatologi paru-paru yang terdiri atas perdarahan, infiltrasi, dan penebalan dinding alveolus paru-paru tersebut disajikan sebagai berikut:

5.1.1. Pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap perdarahan organ paru-paru

Perdarahan organ paru-paru dinilai normal hingga berat dengan skor 0 – 3. Gambaran perdarahan organ paru-paru pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tikus putih galur wistar pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D yang telah diberi skoring menurut

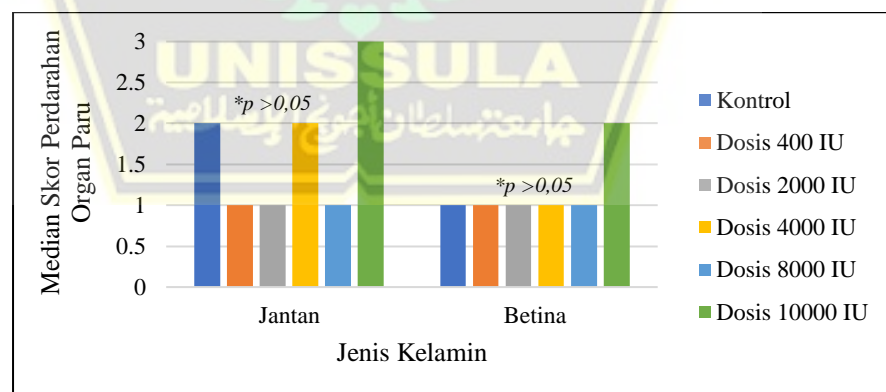
Choi et al., (2013) yang dimodifikasi dari Szapiel et al., (1979) dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1. Gambaran Perdarahan pada Histopatologi Paru Tikus Putih Galur Wistar Pewarnaan Hematoksilin Eosin dengan Perbesaran 400x.

(a) Gambaran normal, (b) Gambaran perdarahan ringan, (c) Gambaran perdarahan sedang, (d) Gambaran perdarahan berat

Deskripsi median skor perdarahan organ paru-paru ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Histogram Median Skor Perdarahan Organ Paru Antar Kelompok dan Jenis Kelamin Tikus

Berdasarkan Gambar 4.2 diketahui bahwa pada tikus jantan, median skor perdarahan organ paru-paru tertinggi adalah kelompok

dosis 10000 IU di mana didapatkan skor 3 atau perdarahan berat dan terendah pada kelompok dosis 400 IU, 2000 IU dan 8000 IU dengan skor 1 atau perdarahan ringan. Pada kelompok tikus betina, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan didapatkan median yang sama yaitu skor 1 atau perdarahan ringan, kecuali pada kelompok dosis 10000 IU didapatkan median skor 2 atau perdarahan sedang.

Uji beda pada penelitian ini dilakukan secara non parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Uji Kruskal Wallis Analisis pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap perdarahan organ paru-paru

Kategori	Kelompok	Median (min – maks)	Rata-Rata Skor Perdarahan ± SD	<i>p</i>
Jantan	Kelompok Kontrol	2 (1 – 3)	1,8 ± 0,8	0,079**
	Kelompok 400 IU	1 (1 – 3)	1,8 ± 1,0	
	Kelompok 2000 IU	1 (1 – 2)	1,2 ± 0,4	
	Kelompok 4000 IU	2 (1 – 3)	1,8 ± 0,8	
	Kelompok 8000 IU	1 (0 – 1)	0,8 ± 0,4	
	Kelompok 10000 IU	3 (1 – 3)	2,4 ± 0,8	
Betina	Kelompok Kontrol	1 (1 – 3)	1,4 ± 0,8	0,513**
	Kelompok 400 IU	1 (1 – 2)	1,4 ± 0,5	
	Kelompok 2000 IU	1 (1 – 3)	1,4 ± 0,8	
	Kelompok 4000 IU	1 (1 – 3)	1,4 ± 0,8	
	Kelompok 8000 IU	1 (1 – 1)	1,0 ± 0,0	
	Kelompok 10000 IU	2 (1 – 3)	1,8 ± 0,8	

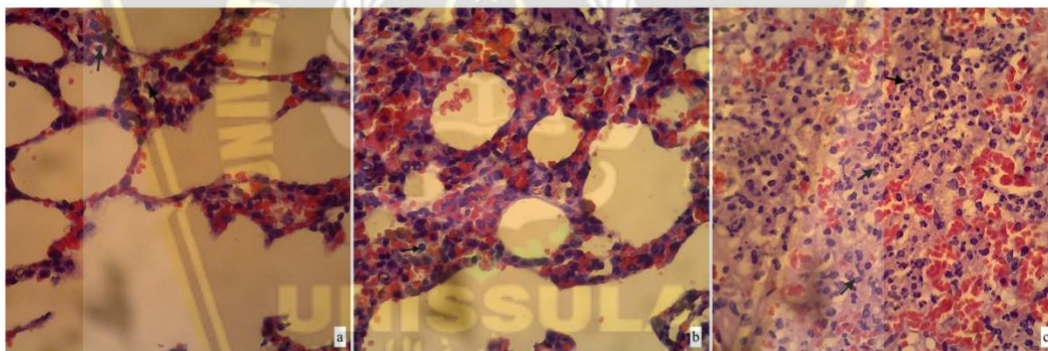
Keterangan: * = data signifikan; ** = data tidak signifikan

Hasil uji *Kruskall Wallis* pada tikus jantan dan betina diperoleh nilai $p = 0,079$ ($p > 0,05$) $p = 0,513$ ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada skor perdarahan

organ paru-paru di keenam kelompok uji, yang juga berarti pemberian subkronik jamur tiram putih kaya vitamin D tidak berpengaruh terhadap perdarahan organ paru-paru pada tikus jantan dan betina.

5.1.2. Pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap infiltrasi organ paru-paru

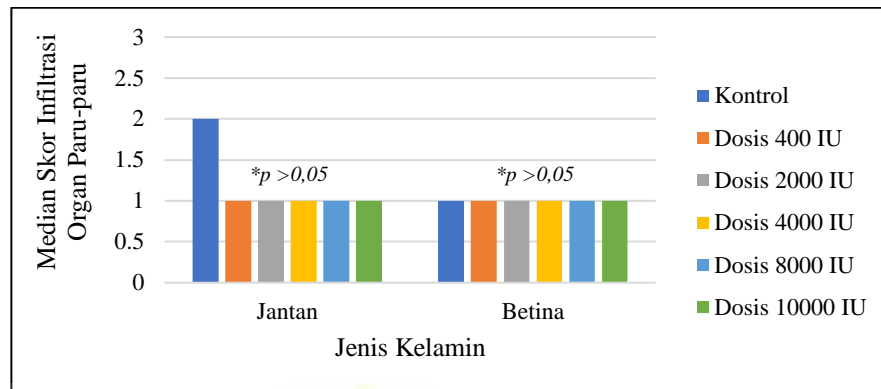
Infiltrasi pada organ paru-paru dinilai normal hingga berat dengan skor 0 – 3. Gambaran infiltrasi pada organ paru-paru pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tikus putih galur wistar pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D yang telah diberi skoring menurut Choi et al., (2013) yang dimodifikasi dari Szapiel et al., (1979) dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3. Gambaran Infiltrasi pada Histopatologi Paru Tikus Putih Galur Wistar Pewarnaan Hematoksilin Eosin Dengan Perbesaran 400x.

Keterangan: (a) Gambaran infiltrasi ringan, (b) Gambaran infiltrasi sedang, (c) Gambaran infiltrasi berat

Deskripsi median skor infiltrasi organ paru-paru ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Histogram Median Skor Infiltrasi Organ Paru Antar Kelompok dan Jenis Kelamin Tikus

Berdasarkan Gambar 4.4 diketahui bahwa pada tikus jantan, median skor infiltrasi organ paru-paru pada kelompok perlakuan yang diberi jamur tiram putih kaya vitamin D lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol yang memiliki median skor 2 atau infiltrasi sedang. Pada kelompok tikus betina, didapatkan median skor 1 atau infiltrasi ringan baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.

Uji beda pada penelitian ini dilakukan secara non parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.2. Hasil Uji Kruskal Wallis Analisis pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap infiltrasi organ paru-paru

Kategori	Kelompok	Median (min – maks)	Rata-Rata Skor Infiltrasi ± SD	<i>p</i>
Jantan	Kelompok Kontrol	2 (1 – 2)	1,6 ± 0,5	0,213**
	Kelompok 400 IU	1 (1 – 3)	1,6 ± 0,8	
	Kelompok 2000 IU	1 (1 – 1)	1,0 ± 0,0	
	Kelompok 4000 IU	1 (1 – 1)	1,0 ± 0,0	
	Kelompok 8000 IU	1 (1 – 2)	1,2 ± 0,4	
	Kelompok 10000 IU	1 (1 – 3)	1,4 ± 0,5	
Betina	Kelompok Kontrol	1 (1 – 3)	1,4 ± 0,8	0,730**
	Kelompok 400 IU	1 (1 – 2)	1,2 ± 0,4	
	Kelompok 2000 IU	1 (1 – 2)	1,4 ± 0,5	
	Kelompok 4000 IU	1 (1 – 1)	1,0 ± 0,0	
	Kelompok 8000 IU	1 (1 – 2)	1,4 ± 0,5	
	Kelompok 10000 IU	1 (1 – 2)	1,2 ± 0,4	

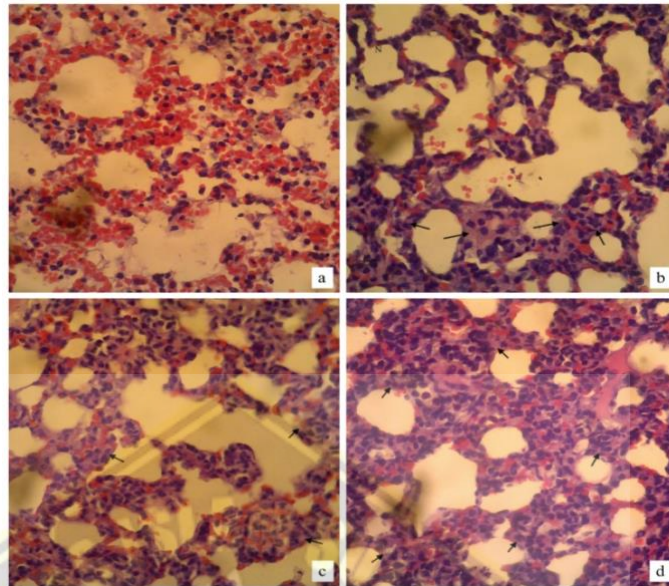
Keterangan: * = data signifikan; ** = data tidak signifikan

Hasil uji *Kruskall Wallis* pada tikus jantan dan betina diperoleh nilai $p = 0,213$ ($p > 0,05$) dan $p = 0,730$ ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada skor infiltrasi organ paru-paru di keenam kelompok uji, yang juga berarti pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D tidak berpengaruh terhadap infiltrasi organ paru-paru tikus jantan dan betina.

5.1.3. Pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap penebalan dinding alveolus paru

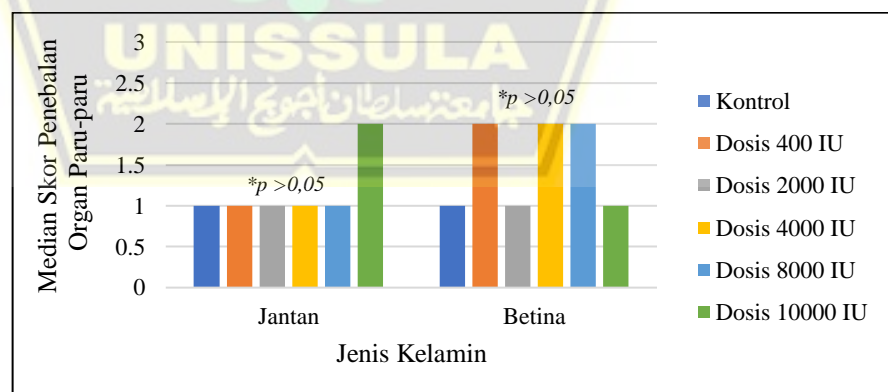
Penebalan dinding alveolus paru dinilai normal hingga berat dengan skor 0 – 3. Gambaran penebalan dinding alveolus paru pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tikus putih galur wistar pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D yang telah diberi skoring

menurut Choi et al., (2013) yang dimodifikasi dari Szapiel et al., (1979) dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5. Gambaran Penebalan Dinding Alveolus pada Histopatologi Paru Tikus Putih Galur Wistar Pewarnaan Hematoksilin Eosin dengan Perbesaran 400x. (a) Gambaran normal, (b) Gambaran penebalan ringan, (c) Gambaran penebalan sedang, (d) Gambaran penebalan berat

Deskripsi median skor penebalan dinding paru ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6. Histogram Median Skor Penebalan Dinding Alveolus Organ Paru Antar Kelompok dan Jenis Kelamin Tikus

Berdasarkan Gambar 4.6 diketahui bahwa pada tikus jantan, median skor penebalan dinding alveolus organ paru pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan adalah skor 1 atau penebalan ringan kecuali pada kelompok perlakuan dosis 10000 IU didapatkan median skor 2 atau penebalan sedang. Pada kelompok tikus betina, didapatkan median yang sama pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan dosis 2000 IU dan 10000 IU yaitu skor 1 atau penebalan ringan, sedangkan pada kelompok perlakuan dosis 400 IU, 4000 IU, dan 8000 IU didapatkan median skor penebalan yang lebih tinggi yaitu skor 2 atau penebalan sedang.

Uji beda yang pada penelitian ini dilakukan secara non parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 4.6 sebagai berikut:

Tabel 4.3. Hasil Uji Kruskal Wallis Analisis pengaruh pemberian subkronik jamur tiram kaya vitamin D terhadap penebalan dinding alveolus

Kategori	Kelompok	Median (min – maks)	Rata-Rata Skor Infiltrasi ± SD	<i>p</i>
Jantan	Kelompok Kontrol	1 (1 – 2)	1,2 ± 0,4	0,119**
	Kelompok 400 IU	1 (1 – 3)	1,4 ± 0,5	
	Kelompok 2000 IU	1 (1 – 1)	1,0 ± 0,0	
	Kelompok 4000 IU	1 (0 – 1)	0,8 ± 0,4	
	Kelompok 8000 IU	1 (1 – 2)	1,2 ± 0,4	
	Kelompok 10000 IU	2 (1 – 3)	1,8 ± 0,8	
Betina	Kelompok Kontrol	1 (1 – 1)	1,0 ± 0,0	0,147**
	Kelompok 400 IU	2 (1 – 2)	1,6 ± 0,5	
	Kelompok 2000 IU	1 (1 – 3)	1,6 ± 0,8	
	Kelompok 4000 IU	2 (1 – 2)	1,8 ± 0,4	
	Kelompok 8000 IU	2 (1 – 2)	1,6 ± 0,5	
	Kelompok 10000 IU	1 (0 – 2)	1,0 ± 0,7	

Keterangan: * = data signifikan; ** = data tidak signifikan

Hasil uji *Kruskall Wallis* pada tikus jantan dan betina diperoleh nilai $p = 0,119$ ($p > 0,05$) dan $p = 0,147$ ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada skor penebalan dinding alveolus organ paru-paru di keenam kelompok uji pada tikus jantan maupun betina. Hal ini berarti bahwa pemberian subkronik jamur tiram putih kaya vitamin D tidak berpengaruh terhadap penebalan dinding alveolus organ paru-paru pada tikus jantan dan betina.

5.2. Pembahasan

Hasil penelitian ini mendapati bahwa baik di kelompok kontrol yang hanya diberi pakan dan *Na-CMC 1%* maupun di kelompok perlakuan yang diberi jamur tiram putih kaya vitamin D didapatkan perubahan histopatologi paru berupa perdarahan, infiltrasi sel radang, dan penebalan dinding alveolus paru yang bervariasi dari ringan hingga berat.

Pada kelompok kontrol yang hanya diberi *Na-CMC 1%* tanpa pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D, didapatkan median skor perdarahan, infiltrasi, maupun penebalan yaitu skor 2 atau sedang pada tikus jantan dan skor 1 atau ringan pada tikus betina. Belum diketahui penyebab pastinya, namun pada hari ke-7 terdapat penurunan berat badan sebanyak 20 g (dari 200 menjadi 180 g) pada tikus jantan kelompok kontrol, lalu tikus mati pada hari ke-28. Pada tikus betina kelompok kontrol juga didapatkan keadaan patologik dimana tikus tampak sesak pada hari ke-18 lalu mati pada hari berikutnya. Pada tikus ini, kematian mungkin disebabkan oleh keadaan sesak.

Faktor lain yang dapat menyebabkan kerusakan paru pada tikus kontrol yaitu penggunaan tikus yang bukan merupakan tikus SPF (*Specific Pathogen Free*) pada penelitian ini memungkinkan adanya masalah kesehatan sebelum dilakukan perlakuan sehingga terdapat perubahan histopatologi yang diakibatkan oleh faktor di luar perlakuan (Sudira et al., 2019). Selain itu, kondisi psikologik mencit oleh karena lingkungan yang terlalu gaduh, pemberian perlakuan berulang kali, daya regenerasi paru serta imunitas pada masing-masing mencit juga dapat mempengaruhi kerusakan paru-paru (Roselyn et al., 2017).

Pada kelompok perlakuan didapatkan median gambaran perdarahan, infiltrasi, dan penebalan yang bervariasi dan tidak signifikan. Jamur tiram putih akan mengalami biotransformasi dan terdistribusi baik ke paru-paru karena paru memiliki banyak kapiler darah. Paru-paru yang terpapar oleh zat toksik dalam jangka waktu yang lama dapat mengalami perubahan histopatologi yang ditandai dengan perdarahan, infiltrasi sel radang, serta penebalan dinding alveolus (Rohi Bire et al., 2018). Pada kelompok perlakuan tikus jantan yang diberi jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 400 IU, 4000 IU dan 8000 IU didapatkan median skor infiltrasi, dan penebalan yaitu skor 1, sedangkan median skor perdarahannya yaitu skor 2 akan tetapi tidak lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Pada tikus betina, didapatkan median skor perdarahan dan infiltrasi yang sama dengan kelompok kontrol yaitu skor 1, sedangkan median skor penebalannya yaitu skor 2, lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol namun tidak

terdapat perbedaan signifikan. Perubahan gambaran histopatologi pada paru juga diduga terjadi karena penggunaan kloroform sebagai zat anestesi sebelum dilakukan terminasi. Kloroform dapat mengiritasi membrane mukosa dan dapat menyebabkan terjadinya edem pulmo (Ago et al., 2011). Kloroform juga diketahui dapat menyebabkan terjadinya perdarahan pada paru setelah diberikan secara inhalasi (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1997).

Pada kelompok dosis 2000 IU, didapatkan median skor perdarahan, infiltrasi, dan penebalan yaitu skor 1, tidak lebih tinggi dari median skor pada kelompok kontrol baik pada tikus jantan maupun tikus betina. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan dosis jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 2000 IU lebih aman dibandingkan dengan kelompok dosis 10000 IU tikus jantan yang sebagian besar mengalami perdarahan berat atau skor 3.

Pada kelompok dosis 10000 IU tikus jantan, didapatkan median skor perdarahan yaitu skor 3 dan median skor penebalan yaitu skor 2, lebih tinggi daripada kelompok kontrol akan tetapi tidak berbeda signifikan. Median skor infiltrasinya yaitu skor 1, lebih rendah daripada kelompok kontrol. Pada tikus betina, didapatkan median skor perdarahan yaitu skor 2, lebih tinggi daripada kelompok kontrol, akan tetapi tidak berbeda signifikan. Median skor infiltrasi dan penebalan pada kelompok ini sama dengan kelompok kontrol yaitu skor 1.

Perdarahan ditandai dengan adanya eritrosit pada lumen alveolus. Pada penelitian ini, didapatkan median skor perdarahan organ paru paling tinggi

pada kelompok dosis 10000 IU baik pada tikus jantan maupun tikus betina, namun secara statistic tidak berbeda signifikan. Belum diketahui penyebab pastinya, akan tetapi mekanisme yang mungkin mendasari adalah kemungkinan kadar pleurotolysin pada jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 10000 IU cukup tinggi sehingga menyebabkan perdarahan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Juntas et al., didapati bahwa *pleurotolysin* pada jamur tiram putih dapat membentuk pori-pori pada membrane biologis sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan endotel dan perdarahan (Juntas et al., 2009).

Perubahan lain yang ditemukan pada gambaran histopatologi paru tikus yang diberi jamur tiram putih kaya vitamin D adalah infiltrasi sel radang berupa sel makrofag, limfosit, dan debris leukoplastik. Median skor infiltrasi pada kelompok pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Paparan yang lama terhadap agen yang berpotensi toksik dapat menyebabkan terjadinya inflammasi kronis yang ditandai dengan infiltrasi sel mononuclear berupa makrofag dan limfosit (Kumar et al., 2013). Reaksi ini berfungsi untuk menghancurkan agen yang merugikan serta mengganti jaringan yang rusak (Waskitha et al., 2020). Alveolus normal mengandung 10% limfosit dan <2% neutrophil yang berfungsi untuk membunuh pathogen yang masuk ke dalam paru-paru (Nicod, 2005). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Morris-Quevedo (2018) melaporkan bahwa *Pleurotus ostreatus* memiliki efek immunomodulator. Hal ini menunjukkan bahwa jamur ini mampu

mengendalikan tingkat respon inflamasi yang terjadi pada tubuh. Komponen imunitas yang terpengaruh adalah imunitas humoral (mengatur jumlah titer antibodi anti-LPS) dan aktivitas sistem monosit-makrofag di seluruh tubuh. Hal ini diperantarai oleh metabolit sekunder dari jamur ini, yaitu triterpen, quinon, dan flavonoid (Morris-Quevedo et al., 2018).

Penebalan dinding alveolus juga didapatkan pada gambaran histopatologi paru tikus yang diberi jamur tiram putih kaya vitamin D. Pada penelitian ini, didapatkan median skor penebalan alveolus paling tinggi yaitu pada kelompok tikus jantan dosis 10000 IU dan tikus betina dosis 400 IU, 4000 IU dan 8000 IU, namun tidak berbeda signifikan. Penebalan pada dinding alveolus dapat disebabkan karena peningkatan produksi ROS yang berlebih dan bersifat toksik dapat meningkatkan cedera jaringan. ROS dapat menurunkan aktivitas enzim superoxide dismutase (SOD) yang merupakan scavenger utama radikal bebas, sehingga terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif akan menyebabkan peradangan yang berat dan menetap sehingga terbentuknya fibrosis atau jaringan parut (Kumar et al., 2013). Pada fibrosis, terjadi kerusakan pada serat retikulin dan elastin penyusun septum interalveolaris, sehingga menyebabkan alveolus sulit mengembang dan kolaps. Alveolus yang kolaps menyebabkan septum interalveolus yang berdekatan saling menyatu sehingga didapatkan gambaran penebalan dinding alveolus. Jamur tiram putih selain memiliki kandungan zat aktif yang dapat memicu efek toksik, juga memiliki kandungan polifenol dan beta-glukan yang membantu mensintesis GSH yang merupakan antioksidan eksogen

tetapi juga dapat meningkatkan sintesis antioksidan endogen sehingga akan meningkatkan sistem imun dalam melawan kerusakan oksidatif (Rahimah et al., 2010). Dinding sel jamur ini juga mengandung prekursor vitamin D (ergosterol) yang dapat ditingkatkan menggunakan paparan sinar UV-B (Hussaana & Revoni, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh (Gorman et al., 2017) mendapati bahwa vitamin D dapat menekan ekspresi dari sitokin pro inflammasi dan infiltrasi sel inflamasi ke paru-paru pada tikus dengan alergi saluran nafas sehingga dapat mengurangi kerusakan paru (Gorman et al., 2017).

Pada penelitian ini, didapatkan median skor perdarahan, infiltrasi, maupun penebalan alveolus paru yang lebih rendah pada kelompok dosis 2000 IU tikus jantan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sejauh ini, belum ada penelitian tentang pengaruh jamur tiram putih kaya vitamin D terhadap histopatologi paru-paru tikus, namun pada penelitian yang dilakukan oleh Widiastuti et al., (2018) diketahui bahwa skor kerusakan paru pada kelompok mencit yang diinduksi praquat dan diberi jamur tiram putih ($3,33 \pm 0,3$, $p < 0,05$) lebih rendah daripada kelompok yang hanya diinduksi praquat ($5,33 \pm 0,21$, $p < 0,05$). Hal ini menandakan bahwa jamur tiram putih dapat mengurangi kerusakan paru karena senyawa polifenol yang dimiliki dapat menjadi donor hydrogen yang selanjutnya menetralkan molekul ROS sehingga dapat menurunkan kerusakan oksidatif (Widiastuti et al., 2018).

Pemisahan analisis hasil pada pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D antara tikus jantan dan betina dilakukan karena gambaran

histopatologi paru-paru dapat dipengaruhi faktor jenis kelamin. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yancey et al. (2001) diketahui bahwa tikus jantan lebih rentan mengalami penyakit paru dan berpengaruh juga terhadap respon inflammasi yang terjadi (Yancey et al., 2001). Berdasarkan hasil median skor perdarahan, infiltrasi dan penebalan kelompok uji baik pada tikus jantan maupun tikus betina didapatkan hasil yang bervariasi dan secara statistic tidak berbeda signifikan.

Namun, pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D tidak berpengaruh secara signifikan terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus putih galur Wistar. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Hussaana et al., 2019) yang mengatakan bahwa terdapat potensi toksisitas pada pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D. Hal ini mungkin disebabkan oleh adanya perbedaan perlakuan pada tikus di mana pada penelitian sebelumnya tikus diinduksi menggunakan STZ sedangkan pada penelitian ini tidak dilakukan, selain itu keterbatasan waktu pada penelitian ini juga tidak memungkinkan penambahan kelompok satelit sesuai anjuran (BPOM, 2014). Alhasil, jamur tiram putih kaya vitamin D menurut penelitian ini aman digunakan dalam pemberian subkronis. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Deepalakshmi & Mirunalini (2014) yang menyatakan bahwa jamur tiram putih tidak menyebabkan toksisitas terhadap organ paru tikus sehingga aman untuk dikonsumsi.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah jenis penelitian yang tidak memungkinkan peneliti untuk mengetahui gambaran histopatologi paru-paru

subjek uji sebelum perlakuan, penggunaan kloroform saat terminasi yang dapat mempengaruhi hasil serta terbatasnya waktu penelitian sehingga peneliti tidak dapat mengetahui *reversibilitas* efek melalui penambahan kelompok satelit sesuai anjuran (BPOM, 2014) untuk uji toksisitas subkronis.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

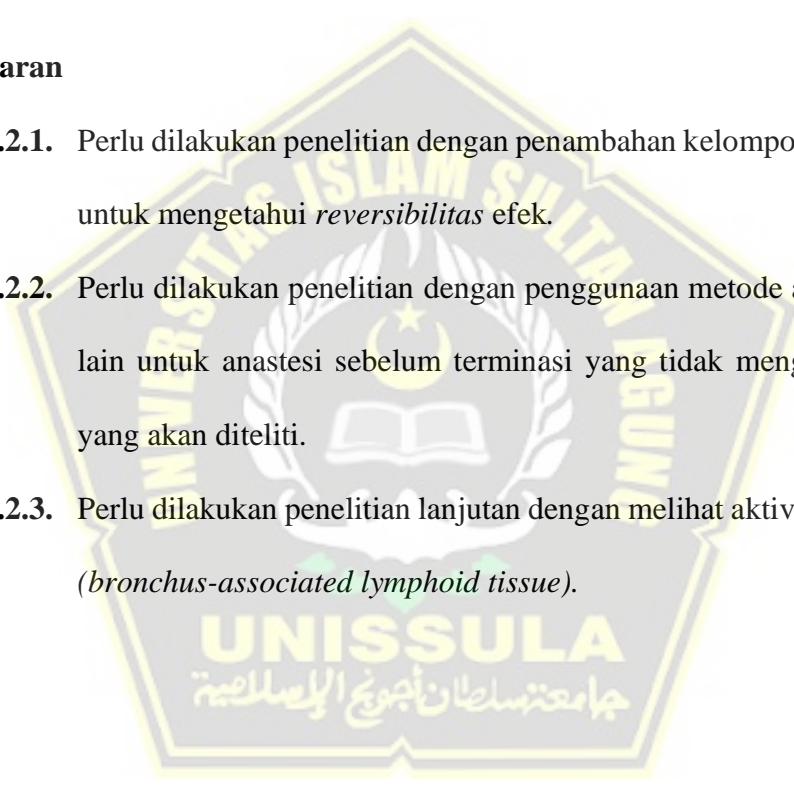
5.1. Kesimpulan

- 5.1.1.** Pemberian subkronik jamur tiram putih kaya vitamin D tidak berpengaruh secara signifikan terhadap gambaran histopatologi paru-paru tikus putih galur wistar.
- 5.1.2.** Pada kelompok kontrol yang hanya diberi Na-CMC 1% pada tikus jantan didapatkan gambaran histopatologi paru yang sebagian besar sedang, sedangkan pada tikus betina didapatkan gambaran histopatologi paru yang sebagian besar ringan.
- 5.1.3.** Pada kelompok pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 400IU baik pada tikus jantan dan betina, didapatkan gambaran histopatologi paru yang sebagian besar ringan dengan median skor perdarahan dan infiltrasi tidak lebih tinggi daripada kelompok kontrol.
- 5.1.4.** Pada kelompok pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 2000IU, didapatkan gambaran histopatologi paru yang sebagian besar ringan dengan median skor perdarahan, infiltrasi, maupun penebalan yang tidak lebih tinggi daripada kelompok kontrol.
- 5.1.5.** Pada kelompok pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 4000IU, didapatkan gambaran histopatologi paru yang sebagian besar tergolong ringan serta memiliki median skor perdarahan dan infiltrasi yang tidak lebih tinggi daripada kelompok kontrol.

- 5.1.6.** Pada kelompok pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 8000IU, didapatkan gambaran histopatologi paru yang sebagian besar tergolong ringan serta memiliki median skor perdarahan dan infiltrasi yang lebih rendah daripada kelompok kontrol.
- 5.1.7.** Pada kelompok pemberian jamur tiram putih kaya vitamin D dosis 10000IU, didapatkan gambaran perdarahan yang sebagian besar berat dan memiliki median skor perdarahan tertinggi di antara dosis lainnya.

5.2. Saran

- 5.2.1.** Perlu dilakukan penelitian dengan penambahan kelompok satelit tikus untuk mengetahui *reversibilitas* efek.
- 5.2.2.** Perlu dilakukan penelitian dengan penggunaan metode atau senyawa lain untuk anastesi sebelum terminasi yang tidak mengiritasi organ yang akan diteliti.
- 5.2.3.** Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melihat aktivasi sel BALT (*bronchus-associated lymphoid tissue*).



DAFTAR PUSTAKA

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 1997, Toxicological profile for Chloroform. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service
- Ago, M., Hayashi, T., Ago, K., & Ogata, M., 2011, Two Fatalities Associated With Chloroform Inhalation. Variation Of Toxicological And Pathological Findings, *Legal Medicine*, 13(3), 156–160. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2011.01.002>
- Al-Deen, I. H. S., Twaij”, H. A. A., Al-Badr, A. A., & Istarabadib, T. A. W., 1987, Toxicologic And Histopathologic Studies Of Pleurotus Ostreatus Mushroom In Mice, *Journal Of Ethnopharmacology*, 21(8), 297–305.
- Aminah, H., Erida, Y., Yulianti, H., & Hassan, A. H., 2014, *Korelasi Ekspresi Reseptor Vitamin D (VDR) Dengan Derajat Diferensiasi Dan Stadium Adenokarsinoma Kolorektal Correlation Of Vitamin D Receptor (VDR) Expression With Differentiation Staging And Grading In Colorectal Adenocarcinoma*, 48(38), 123–128.
- Anthony L. Mescher, P., 2016, Junqueira’s Basic Histology Text And Atlas, In *Basic Histology: A Color Atlas And Text*.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S., 2014, *Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, And Signaling Mechanisms Of Malondialdehyde And 4-Hydroxy-2-Nonenal, Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>
- Berniyati, T., 2018, *Biomarker Toksisitas : Paparan Logam Tingkat Molekuler*, Airlangga University Press, Surabaya, 26-27
- BPOM., 2014, Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo 1–43, <https://doi.org/10.1017/Cbo9781107415324.004>
- Budhi R, K., Aminullah, A., Hadisaputro, S., Soemantri, A., & Suhartono, S., 2016, Kadar Oksidan Yang Tinggi Sebagai Faktor Risiko Terjadinya Hemolisis Pada Neonatus Sepsis, *Sari Pediatri*, 14(3), 198. <https://doi.org/10.14238/Sp14.3.2012.198-204>
- Cardwell, G., Bornman, J. F., James, A. P., & Black, L. J., 2018, A Review Of Mushrooms As A Potential Source Of Dietary Vitamin D, *Nutrients*, 10(10), 1–11. <https://doi.org/10.3390/Nu10101498>

- Choi, J. S., Jou, S. S., Oh, M. H., Kim, Y. H., Park, M. J., Gil, H. W., Song, H. Y., & Hong, S. Y., 2013, The Dose Of Cyclophosphamide For Treating Paraquat Induced Rat Lung Injury, *Korean J Intern Med.*, 28, 420-427. <https://doi.org/10.3904/kjim.2013.28.4.420>
- Darmawan, A., 2015, Penyakit Sistem Respirasi Akibat Kerja, *Jambi Medical Journal "Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan,"* 1(1), 68–83. <https://Online-Journal.Unja.Ac.Id/Kedokteran/Article/View/2691>
- Deepalakshmi, K., & Mirunalini, S., 2014, Toxicological Assessment Of Pleurotus Ostreatus In Sprague Dawley Rats, *International Journal Of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases,* 4(3), 139. <https://doi.org/10.4103/2231-0738.132665>
- Egra, S., Kusuma, I. W., & Arung, E. T., 2018, Kandungan Antioksidan Pada Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*), 2(September), 105–108. <https://doi.org/10.13057/Biodiv/D1601xx>
- Eroschenko, V. P., 2008, Di Fiore's Atlas Of Histology With Functional Correlations, (11th Ed.)
- Fatimah, A. D., Soemarwoto, R. A., & Karima, N., 2019, Suplementasi Vitamin D Sebagai Pencegahan Eksaserbasi Akut Pada Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK) Vitamin D, *Majority*, 8(2), 193–199.
- Frangež, R., Šuput, D., Molgó, J., & Benoit, E., 2017, Ostreolysin A/Pleurotolysin B And Equinatoxins: Structure, Function And Pathophysiological Effects Of These Pore-Forming Proteins, *Toxins*, 9(4), 1–10. <https://doi.org/10.3390/Toxins9040128>
- Gorman, S., Buckley, A. G., Ling, K. M., Berry, L. J., Fear, V. S., Stick, S. M., Larcombe, A. N., Kicic, A., & Hart, P. H., 2017, Vitamin D Supplementation Of Initially Vitamin D-Deficient Mice Diminishes Lung Inflammation With Limited Effects On Pulmonary Epithelial Integrity, *Physiological Reports*, 5(15), 1–12. <https://doi.org/10.14814/Phy2.13371>
- Hadrawi, J., 2014, Kandungan Lignin, Selulosa, dan Hemiselulosa Limbah Baglog Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostratus*) Dengan Masa Inkubasi Yang Berbeda Sebagai Bahan Pakan Ternak, Universitas Hasanuddin, <http://dx.doi.org/10.1016/J.Scitotenv.2014.10.007>
- Herdiani, N., & Putri, E. B. P., 2018, Gambaran Histopatologi Paru Tikus Wistar Setelah Diberi Paparan Asap Rokok, *Medical And Health Science Journal*, 2(2), 7–14. <https://doi.org/10.33086/Mhsj.V2i2.583>

- Hussaana, A., Arum, R., Naufal, Faris Labib, & Catur, I., 2019, *Pengaruh Jamur Tiram Putih (Pleurotus Ostreatus) Kaya Vitamin D Terhadap Kadar Mda (Malondialdehid) Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur Streptozotocin (Stz)*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Unissula. Semarang
- Hussaana, A., & Revoni, R. F., 2018, *Pengaruh Lama Penyinaran Sinar Uvb Terhadap Kadar Vitamin D2 Pada Jamur Tiram Putih (Pleurotus Ostreatus)*, Universitas Islam Sultan Agung, [Http://Repository.Unissula.Ac.Id/Id/Eprint/13365](http://Repository.Unissula.Ac.Id/Id/Eprint/13365)
- Jaya, B. P. D., 2017, *Efek Antioksidan Taurine Dan Jamur Tiram (Pleurotus Ostreatus (Jacq.) P. Kumm) Terhadap Stres Oksidatif Pada Beberapa Organ Homeostasis Mencit Yang Diinduksi Paraquat*.
- Jiang, Q., Zhang, M., & Mujumdar, A. S., 2020, *UV Induced Conversion During Drying Of Ergosterol To Vitamin D In Various Mushrooms: Effect Of Different Drying Conditions*. January.
- Juliana, J., Afriani, Y., Inayah, I., Gizi, P. S. S., Kesehatan, F. I., & Yogyakarta, U. R., 2018, The Effects Of Oyster Mushroom Juice (Pleurotus Ostreatus) On Malondialdehyde Levels Of Soccer Athletes, *Ilmu Gizi Indonesia*, 02(01), 7–12.
- Juntes, P., Rebolj, K., Sepčić, K., Maček, P., Cecilija Žužek, M., Cestnik, V., & Frangež, R., 2009, Ostreolysin induces sustained contraction of porcine coronary arteries and endothelial dysfunction in middle- and large-sized vessels, *Toxicon*, 54(6), 784–792. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.06.005>
- Kalra, S. S., & Shanahan, C. M., 2012, Vascular Calcification And Hypertension: Cause And Effect. *Annals Of Medicine*, 44(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.3109/07853890.2012.660498>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster., J. C., 2013, Buku Ajar Patologi Robbins. In *Journal Of Chemical Information And Modeling* (9th Ed.), Elsevier, Singapura
- Kurniawan, J., Erly, E., & Semiarty, R., 2015, Pola Kepekaan Bakteri Penyebab Pneumonia Terhadap Antibiotika Di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Dr. M. Djamil Padang Periode Januari Sampai Desember 2011, *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(2), 562–566. <https://doi.org/10.25077/jka.v4i2.300>
- Lestari, E., & Santoso, Y., 2016, Pengaruh Suplemen Vitamin D Terhadap Jumlah Eosinofil Jaringan Paru Penderita Alergi Studi Eksperimental Pada Mencit Balb/C Yang Diinduksi Ovalbumin, *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5(4), 761–771.

- Lim, K., & Thadhani, R., 2020, Vitamin D Toxicity. *Brazilian Journal Of Nephrology*, 42(2), 238–244. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-Jbn-2019-0192>
- Maranatha, T. I., Herdiman, H., & Wargasetia, T. L., 2017, Suplementasi Vitamin D 3 Dosis Tinggi Menurunkan Kalsifikasi Tulang Femur Pada Janin Mencit High Dose Vitamin D3 Supplementation Decrease Calcification Of The Femur Bone In Fetal Mice. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 29, No. 3, 29(3), 185–189.
- Meles, D. K., 2010, Peran Uji Praklinik Dalam Bidang Farmakologi, In *Pusat Penerbitan Dan Percetakan Unair (AUP)*.
- Morris-Quevedo, H. J., Llauradó-Maury, G., Bermúdez-Savón, R. C., Cos, P., Lebeque-Pérez, Y., Beltrán-Delgado, Y., Tamayo-Ortega, V., Fong-Lores, O., Marcos-Albear, J., & Gaime-Perraud, I., 2018, Evaluation Of The Immunomodulatory Activity Of Bioproducts Obtained From The Edible-Medicinal Mushroom *Pleurotus Ostreatus*, *Biotecnología Aplicada*, 35(3), 3511–3514.
- Muljadi, J. P., Givano, M. R., Fauzi, R. A., Buntoro, J., Irianiwati, Mustofa, & Sholikhah, E. N., 2014, Gambaran Histopatologi Hepar, Paru Dan Ginjal Mencit Swiss Setelah Pemberian Dosis Tunggal Ekstrak Terstandar Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia*, Jack.), *Prosiding "Simposium Nasional Peluang dan Tantangan Obat Tradisional Dalam Pelayanan Kesehatan Formal,"* 10–20.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., & Rodwell, V. W., 2003, *Harper's Illustrated Biochemistry*, (27th ed), McGraw-Hill Companies, New York.
- Nasution, J., 2016, Kandungan Karbohidrat Dan Protein Jamur Tiram Putih (. *Jurnal Eksakta*, Vol.1(No.1), 38–41. [Http://jurnal.um-tapsel.ac.id/index.php/eksakta/article/viewfile/48/48](http://jurnal.um-tapsel.ac.id/index.php/eksakta/article/viewfile/48/48)
- Nicod, L. P., 2005, Lung defences: An overview. *European Respiratory Review*, 14(95), 45–50. <https://doi.org/10.1183/09059180.05.00009501>
- Nurpangestu, B., Kharimah, Y., Linggasati, F., & Bahrudin, M., 2019, The Effect Of E-Cigarette And A Conventional Cigarette To The Alveolus On Wistar Male Rats, *International Journal Of Advances In Applied Sciences*, 8(4), 251. <https://doi.org/10.11591/ijaas.v8.i4.pp251-256>
- Paramita, & Louisa, M., 2017, Berbagai Manfaat Vitamin D, *Cermin Dunia Kedokteran*, 44(10), 736–740. <https://indonesianjournalofclinicalpathology.org/index.php/patologi/article/view/1265/985>

- Pradana, M. D. G., 2019, *Pengaruh Jamur Tiram Putih (Pleurotus Ostreatus) Yang Dipapar Sinar Uv-B Terhadap Kalsium Serum*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Unissula. Semarang
- Purbowati. (2014). *Pengaruh Pemberian Jamur Tiram Putih (Pleurotus Ostreatus) Terhadap Kadar Glukosa Darah, Profil Lipid Dan Kadar Mda Pada Tikus (Rattus Norvegicus) Diabetes Melitus*, *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, vol. 4, no. 2, pp. 131-137, <https://doi.org/10.14710/jgi.4.2.131-137>
- Puspitasari, R. L., & Pangeran, M. H., 2015, *Pleurotus Ostreatus Sebagai Nutrisi Pertumbuhan Pada Mus Musculus*, *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam*, 165–170.
- Rahimah, S. B., Sastramihardja, H. S., & Sitorus, T. D., 2010, *Efek Antioksidan Jamur Tiram Putih Pada Kadar Malondialdehid dan Kepadatan Permukaan Sel Paru Tikus Yang Terpapar Asap Rokok*, *Majalah Kedokteran Bandung*, 42(4), 195–200. <https://doi.org/10.15395/Mkb.V42n4.36>
- Rampengan, S., 2014, *Edema Paru Kardiogenik Akut*, *Jurnal Biomedik*, 6(3), 149–156. <https://doi.org/10.35790/jbm.6.3.2014.6320>
- Rohi Bire, I., Bagus Oka Winaya, I., & Agung Ayu Mirah Adi, A., 2018, *Perubahan Histopatologi Hati Dan Paru Mencit Pascainduksi Dengan Zat Karsinogenik Benzo(A)Piren (Hispathological Changes Of Mice Liver And Lung Post Induction With Carsinogenic Substances Benzo(A)Pyrene)*, *Indonesia Medicus Veterinus*, 7(6), 634–642. <https://doi.org/10.19087/Imv.2018.7.6.634>
- Roselyn, A. P., Widiastuti, E. L., Susanto, G. N., & ' S., 2017, *Pengaruh Pemberian Taurin Terhadap Gambaran Histopatologi Paru Mencit (Mus Musculus) Yang Diinduksi Karsinogen Benzo(A)Piren Secara In Vivo*, *Jurnal Natur Indonesia*, 17(1), 22. <https://doi.org/10.31258/Jnat.17.1.22-32>
- Rosyid, A. N., & Marhana, I. A., 2018, *Faal Paru Difusi*, *Jurnal Respirasi*, 4(2), 61. <https://doi.org/10.20473/Jr.V4-I.2.2018.61-70>
- Ruslan, K., Reza, R. A., & Damayanti, S., 2011, *Effect Of Ultraviolet Radiation On The Formation Of Ergocalciferol (Vitamin D2) In Pleurotus Ostreatus*, *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*, 13(2), 255–261.
- Sallese, A., Suzuki, T., Mccarthy, C., Bridges, J., Filuta, A., Arumugam, P., Shima, K., Ma, Y., Wessendarp, M., Black, D., Chalk, C., Carey, B., & Trapnell, B. C., 2017, *Targeting Cholesterol Homeostasis In Lung Diseases*, *Scientific Reports*, 7(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/S41598-017-10879-W>

- Sánchez, C., 2017, Reactive Oxygen Species And Antioxidant Properties From Mushrooms, *Synthetic And Systems Biotechnology*, 2(1), 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.synbio.2016.12.001>
- Sholihah, W., 2019, Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima Javanica*) Terhadap Histopatologi Jantung Dan Paru-Paru Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). [https://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/91603/Wardaniyatus Sholihah-150210103005.pdf?sequence=1](https://repository.unej.ac.id/bitstream/handle/123456789/91603/Wardaniyatus%20Sholihah-150210103005.pdf?sequence=1)
- Stevani, H., 2016, *Praktikum Farmakologi*, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Sudira, W., Merdana, M., Winaya, I. B. O., & Parnayasa, I. K., 2019, Perubahan Histopatologi Ginjal Tikus Putih Yang Diberikan Ekstrak Sarang Semut Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik, *Buletin Veteriner Udayana*, 21, 136. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2019.v11.i02.p05>
- Sumarmi., 2006, Botani Dan Tinjauan Gizi Jamur Tiram Putih. *Jurnal Inovasi Pertanian*, 4(2).
- Susianti., 2013, Pengaruh Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella Sativa L .*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar, Paru, Dan Testis Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Gentamisin The Effect Of Black Cumin (*Nigella Sativa L .*) Extract To The Histopathological Appear, *Sainsmat*, II(2), 107–118.
- Szapiel, S. V., Elson, N. A., Fulmer, J. D., Hunninghake, G. W., & Crystal, R. G. (1979). Bleomycin-Induced Interstitial Pulmonary Disease In The Nude, Athymic Mouse. *American Review Of Respiratory Disease*, 120(4), 893–899. <https://doi.org/10.1164/arrd.1979.120.4.893>
- Tohomi, K. L., Iswahyudi, & Wahdaningsih, S., 2014, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Buas- Buas (*Premna Cordifolia Linn.*) Terhadap Gambaran Histopatologi Paru Tikus (*Rattus Norvegicus*) Wistar Jantan Pasca Paparan Asap Rokok, In *Journal Of Chemical Information And Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Wahyuni, Y., 2015, Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis Jacq .*) Menggunakan Mencit Jantan, <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/17586>
- Waskitha, M. P., Setiasih, N. L. E., Samsuri, S., & Berata, I. K., 2020, Histopatologi Paru-Paru Tikus Putih Betina Akibat Pemberian Imbuhan Ragi Tape Pada Pakan Tikus, *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(5), 662–671. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.9.5.662>

- Widiastuti, E. L., Nurcahyani, E., & Jaya, B. P., 2018, Uji Antioksidan Taurine Dan Ekstrak Jamur Tiram Terhadap Efek Oksidan Paraquat Pada Jaringan Paru Mencit Jantan (Mus Musculus). *Prosiding Seminar Nasional Biologi Xxiv Pbi Manado*, 1(1), 101–109. [Http://Repository.Lppm.Unila.Ac.Id/7974/1/Prosiding PBI.Pdf](http://Repository.Lppm.Unila.Ac.Id/7974/1/Prosiding%20PBI.Pdf)
- Widodo, N., 2007, *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Yang Terkandung Dalam Jamur Tiram Putih (Pleuratus Ostreatus)*, Undergraduate Thesis, Universitas Negeri Semarang.
- Widyaningrum, S., & Hariadi, S., 2008, *Penyakit Paru Yang Diinduksi Obat (Drug-Induced Lung Disease)*, *Majalah Kedokteran Respirasi*, 2(1)
- Widyastuti, N., 2019, Pengolahan Jamur Tiram (Pleurotusl Ostreatus) Sebagai Alternatif Pemenuhan Nutrisi, *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia*, 15(3), 1–7. <https://doi.org/10.29122/jsti.v15i3.3391>
- Widyastuti, N., & Istini, S., 2004, Optimasi Proses Pengeringan Tepung Jamur Tiram Putih (Pleurotus Ostreatus), *Jifi.Ffup.Org*, 2(I), 8–11. [Http://Jifi.Ffup.Org/Wp-Content/Uploads/2012/03/Netty..Optimasi.Pdf](http://jifi.fffup.org/wp-content/uploads/2012/03/Netty..Optimasi.Pdf)
- Yancey, A. L., Watson, H. L., Cartner, S. C., & Simecka, J. W., 2001, Gender Is A Major Factor In Determining The Severity Of Mycoplasma Respiratory Disease In Mice, *Infection And Immunity*, 69(5), 2865–2871. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.5.2865-2871.2001>
- Yildiz, H., Kosovali, B. D., & Demir, M. V., 2018, Hypercalcemia And Hypertensive Pulmonary Edema Associated With Vitamin D Toxicity: A Case Report. *Kuwait Medical Journal*, 50(4), 467–469.
- Yulianto, & Amaloyah, N., 2017, *Toksikologi Lingkungan*, Electronic Thesis, Poltekkes Kemenkes Jakarta