

## Lampiran 1.

### A. Pemberian Dosis *N-Acetyl cysteine* (NAC)

Pemberian terapi tambahan *N-acetylcysteine* 600 mg tiga kali sehari selama 3 hari dapat menurunkan kadar hsCRP pada pasien infark miokard akut.<sup>15</sup> Sehingga pada penelitian ini pemberian dosis *N-acetylcysteine* yaitu (7,2 mg/200 grBB, 10,8 mg/200 grBB) selama 9 hari.

- Dosis I

Dosis x Berat Badan

$$= 600 \times 0.018 = 10.8 \text{ mg/200 gr BB}$$

- Dosis II

Dosis x Berat Badan

$$= 400 \times 0.018 = 7.2 \text{ mg/200 gr BB}$$

### B. Pemberian Makanan Diet Tinggi Kolesterol

Pemberian pakan pada hewan coba hiperkolestrolemia menggunakan kuning telur puyuh selama 7 hari secara peroral sebanyak 4 cc.<sup>57</sup> Sehingga pada penelitian ini pemberian pakan hiperkolestrolemia pada tikus jantan galur wistar yaitu menggunakan kuning telur puyuh selama 7 hari secara peroral sebanyak 4 cc.

### C. Prosedur Pemeriksaan:

#### Pengukuran TNF- $\alpha$ :

- 50  $\mu$ l anti tikus TNF- $\alpha$ , 100  $\mu$ l sampel atau standar ditambahkan ke plate yang berisi sumuran dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 jam.
- Sumuran pada plate dicuci sebanyak tiga kali, dan tambahkan 170  $\mu$ l streptavidin-HRP ke sumuran. diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit.

- Sumuran dicuci tiga kali lagi, dan ditambahkan 100 µl larutan kromogen (3,3', 5,5' tetramethylbenzidine) dan diinkubasi selama 15 menit.
- Reaksi dihentikan dengan menambahkan stop solution yang terdiri dari H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.
- Dibaca dalam waktu 10 menit panjang gelombang 450 nm.<sup>59</sup>

#### **Pengukuran Kolesterol Total:**

- Siapkan blangko, standart dan sampel serum darah tikus.
- Masukkan reagen kolesterol kedalam tabung hingga 1000 µl (volume 1000 µl tiap tiga tabung).
- Masukkan standar kolesterol hingga 10 µl kedalam tabung yang berisi 1000 µl reagen kolesterol.
- Masukkan sampel serum hingga 10 µl kedalam reagen kolesterol.
- Inkubasi selama 10 menit di suhu 37 °C.
- Baca pada spektrofotometer setelah 60 menit dengan panjang gelombang 546 nm.<sup>60</sup>

#### **Pengukuran Trigliserida:**

- Siapkan blangko, standart dan sampel serum darah tikus.
- Masukkan reagent trigliserida hingga 1000 µl kedalam tiga tabung (1000 µl tiap tiga tabung).
- Masukkan sampel standar trigliserida sebanyak 10 µl kedalam tabung yang berisi 1000 µl reagen kolesterol.
- Masukkan serum hingga 10 µl kedalam reagen trigliserida.
- Inkubasi selama 10 menit di suhu 37 °C.

- Baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm setelah 60 menit.<sup>60</sup>

#### **Pengukuran HDL:**

- Pembuatan *working reagent*: menyiapkan satu botol kosong untuk membuat *working reagent* yaitu menggabungkan empat bagian reagen kolesterol hingga 4000µl serta 1000 µl aquadest pada satu bagian.
- Pembuatan supernatant: dua tabung yaitu untuk tabung pertama sebagai standart hingga 500µl *working reagent*. Tabung kedua yaitu tabung sampel di masukkan 200µl serum, lalu homogenkan.
- Inkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C.
- Centrifugasi 10 menit 4000 rpm.
- Prosedur kerja kolesterol HDL : Sediakan 3 (tiga) tabung, dimasukkan 100µl larutan supernatant standart. Tabung supernatant sampel dimasukkan 100µl larutan supernatant sampel. Tabung blanko, supernatant standart, supernatant sampel di masukkan masing-masing 1000µl *working reagent*
- Inkubasi selama 10 menit suhu 37°C.
- Baca hasil dengan spektrofotometer panjang gelombang 546 nm.<sup>60</sup>

#### **LDL**

- Perhitungan kadar yang didapat dengan mengestimasi rumus Friedewald, Levy, dan Fredicson yaitu:

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{total kolestrol} - \frac{\text{Trigliserida}}{5} - \text{HDL}$$

Lampiran 2.

DOKUMENTASI PENELITIAN



Pemeriksaan kadar kolesterol sebelum pemberian kuning telur puyuh



Kuning telur puyuh



Hasil kadar kolesterol setelah pemberian kuning telur puyuh



NAC Dosis 7,2 mg dan 10,8 mg



N-Acetyl Cysteine



Tikus Kelompok Kontrol Positif



Kelompok Perlakuan 2 (setelah pemberian  
NAC 10.8mg)



Pengambilan darah sinus orbital



### Lampiran 3.

### SPSS

**Case Summaries**

Kelompok perlakuan		Kadar Kolesterol (mg/dL)	Kadar Trigliserid (mg/dL)	Kadar HDL (mg/dL)	Kadar LDL (mg/dL)	Kadar TNF alfa (ng/dL)
K1	Mean	48.6508	46.9617	71.5733	31.6233	142.8333
	N	6	6	6	6	6
	Std. Deviation	5.80902	10.08394	15.73781	7.00766	2.78687
K2	Mean	77.7783	96.3050	42.1383	49.1817	204.1667
	N	6	6	6	6	6
	Std. Deviation	6.93252	7.77184	12.21031	7.90682	3.60093
K3	Mean	72.5317	74.9567	61.3117	45.4367	177.0000
	N	6	6	6	6	6
	Std. Deviation	4.76245	8.59268	13.23923	8.79148	2.36643
K4	Mean	69.9683	53.0533	77.2967	36.4550	172.8333
	N	6	6	6	6	6
	Std. Deviation	4.91526	12.32328	13.47049	9.73489	2.92689
Total	Mean	67.2323	67.8192	63.0800	40.6742	174.2083
	N	24	24	24	24	24
	Std. Deviation	12.50318	21.90060	18.72349	10.60575	22.38396



**Tests of Normality**

	Kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar Kolesterol (mg/dL)	K1	.155	6	.200*	.966	6	.864
	K2	.197	6	.200*	.961	6	.829
	K3	.204	6	.200*	.923	6	.525
	K4	.188	6	.200*	.969	6	.887
Kadar Trigliserid (mg/dL)	K1	.220	6	.200*	.842	6	.134
	K2	.180	6	.200*	.963	6	.843
	K3	.243	6	.200*	.876	6	.252
	K4	.237	6	.200*	.845	6	.142
Kadar HDL (mg/dL)	K1	.214	6	.200*	.972	6	.908
	K2	.271	6	.191	.847	6	.149
	K3	.196	6	.200*	.962	6	.839
	K4	.197	6	.200*	.900	6	.372
Kadar LDL (mg/dL)	K1	.269	6	.200*	.875	6	.247
	K2	.234	6	.200*	.840	6	.131
	K3	.245	6	.200*	.854	6	.169
	K4	.227	6	.200*	.884	6	.290
Kadar TNF alfa (ng/dL)	K1	.191	6	.200*	.925	6	.540
	K2	.127	6	.200*	.990	6	.988
	K3	.164	6	.200*	.950	6	.739
	K4	.270	6	.194	.889	6	.310

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



**Test of Homogeneity of Variances**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar Kolesterol (mg/dL)	.105	3	20	.956
Kadar Trigliserid (mg/dL)	.578	3	20	.636
Kadar HDL (mg/dL)	.125	3	20	.944
Kadar LDL (mg/dL)	.118	3	20	.948
Kadar TNF alfa (ng/dL)	.442	3	20	.726

## One Way

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kadar Kolesterol (mg/dL)	Between Groups	2952.353	3	984.118	30.599	.000
	Within Groups	643.226	20	32.161		
	Total	3595.579	23			
Kadar Trigliserid (mg/dL)	Between Groups	9092.710	3	3030.903	31.264	.000
	Within Groups	1938.924	20	96.946		
	Total	11031.634	23			
Kadar HDL (mg/dL)	Between Groups	4295.584	3	1431.861	7.601	.001
	Within Groups	3767.509	20	188.375		
	Total	8063.093	23			
Kadar LDL (mg/dL)	Between Groups	1168.667	3	389.556	5.493	.006
	Within Groups	1418.417	20	70.921		
	Total	2587.084	23			
Kadar TNF alfa (ng/dL)	Between Groups	11349.458	3	3783.153	433.599	.000
	Within Groups	174.500	20	8.725		
	Total	11523.958	23			





## Post Hoc Test

### Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok perlakuan	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kadar Kolesterol (mg/dL)	K1	K2	-29.12750*	3.27421	.000	-35.9574	-22.2976
		K3	-23.88083*	3.27421	.000	-30.7107	-17.0510
		K4	-21.31750*	3.27421	.000	-28.1474	-14.4876
		K2	29.12750*	3.27421	.000	22.2976	35.9574
	K2	K1	29.12750*	3.27421	.000	22.2976	35.9574
		K3	5.24667	3.27421	.025	-1.5832	12.0765
		K4	7.81000*	3.27421	.027	.9801	14.6399
		K3	23.88083*	3.27421	.000	17.0510	30.7107
	K3	K1	23.88083*	3.27421	.000	17.0510	30.7107
		K2	-5.24667	3.27421	.025	-12.0765	1.5832
		K4	2.56333	3.27421	.043	-4.2665	9.3932
		K4	21.31750*	3.27421	.000	14.4876	28.1474
K4	K1	21.31750*	3.27421	.000	14.4876	28.1474	
	K2	-7.81000*	3.27421	.027	-14.6399	.9801	
	K3	-2.56333	3.27421	.043	-9.3932	4.2665	
	K2	29.12750*	3.27421	.000	22.2976	35.9574	
Kadar Trigliserid (mg/dL)	K1	K2	-49.34333*	5.68466	.000	-61.2013	-37.4853
		K3	-27.99500*	5.68466	.000	-39.8530	-16.1370

		K4	-	5.6	.29	-	5.766
			6.09167	8466	7	17.9497	3
	K2	K1	49.3433	5.6	.00	37.4	61.20
			3*	8466	0	853	13
		K3	21.3483	5.6	.00	9.49	33.20
			3*	8466	1	03	63
		K4	43.2516	5.6	.00	31.3	55.10
			7*	8466	0	937	97
	K3	K1	27.9950	5.6	.00	16.1	39.85
			0*	8466	0	370	30
		K2	-	5.6	.00	-	-
			21.34833*	8466	1	33.2063	9.4903
		K4	21.9033	5.6	.00	10.0	33.76
			3*	8466	1	453	13
	K4	K1	6.09167	5.6	.29	-	17.94
			8466	8466	7	5.7663	97
		K2	-	5.6	.00	-	-
			43.25167*	8466	0	55.1097	31.3937
		K3	-	5.6	.00	-	-
			21.90333*	8466	1	33.7613	10.0453
Kadar HDL (mg/dL)	K1	K2	29.4350	7.9	.00	12.9	45.96
			0*	2413	1	056	44
		K3	10.2616	7.9	.21	-	26.79
			7	2413	0	6.2678	11
		K4	-	7.9	.47	-	10.80
			5.72333	2413	8	22.2528	61
	K2	K0	-	7.9	.00	-	-
			29.43500*	2413	1	45.9644	12.9056
		K3	-	7.9	.02	-	-
			19.17333*	2413	5	35.7028	2.6439
		K4	-	7.9	.00	-	-
			35.15833*	2413	0	51.6878	18.6289
	K3	K1	-	7.9	.21	-	6.267
			10.26167	2413	0	26.7911	8
		K2	19.1733	7.9	.02	2.64	35.70
			3*	2413	5	39	28
		K4	-	7.9	.04	-	.5444
			15.98500	2413	7	32.5144	

	K4	K1	5.72333	7.9	.47	-	22.25
				2413	8	10.8061	28
		K2	35.1583	7.9	.00	18.6	51.68
			3*	2413	0	289	78
		K3	15.9850	7.9	.04	-	32.51
			0	2413	7	.5444	44
Kadar LDL (mg/dL)	K1	K2	-	4.8	.00	-	-
			17.55833*	6213	2	27.7006	7.4161
		K3	-	4.8	.01	-	-
			13.81333*	6213	0	23.9556	3.6711
		K4	-	4.8	.33	-	5.310
			4.83167	6213	2	14.9739	6
	K2	K1	17.5583	4.8	.00	7.41	27.70
			3*	6213	2	61	06
		K3	3.74500	4.8	.04	-	13.88
				6213	3	6.3972	72
		K4	12.7266	4.8	.01	2.58	22.86
			7*	6213	6	44	89
	K3	K1	13.8133	4.8	.01	3.67	23.95
			3*	6213	0	11	56
		K2	-	4.8	.04	-	6.397
			3.74500	6213	3	13.8872	2
		K4	8.98167	4.8	.04	-	19.12
				6213	0	1.1606	39
	K4	K1	4.83167	4.8	.33	-	14.97
				6213	2	5.3106	39
		K2	-	4.8	.01	-	-
			12.72667*	6213	6	22.8689	2.5844
		K3	-	4.8	.04	-	1.160
			8.98167	6213	0	19.1239	6
Kadar TNF alfa (ng/dL)	K1	K2	-	1.7	.00	-	-
			61.33333*	0538	0	64.8907	57.7760
		K3	-	1.7	.00	-	-
			34.16667*	0538	0	37.7240	30.6093
		K4	-	1.7	.00	-	-
			30.00000*	0538	0	33.5574	26.4426
	K2	K1	61.3333	1.7	.00	57.7	64.89
			3*	0538	0	760	07

	K3	27.1666 7*	1.7 0538	.00 0	23.6 093	30.72 40
	K4	31.3333 3*	1.7 0538	.00 0	27.7 760	34.89 07
K3	K1	34.1666 7*	1.7 0538	.00 0	30.6 093	37.72 40
	K2	- 27.16667*	1.7 0538	.00 0	- 30.7240	- 23.6093
	K4	4.16667*	1.7 0538	.02 4	.609 3	7.724 0
K4	K1	30.0000 0*	1.7 0538	.00 0	26.4 426	33.55 74
	K2	- 31.33333*	1.7 0538	.00 0	- 34.8907	- 27.7760
	K3	- 4.16667*	1.7 0538	.02 4	- 7.7240	- .6093

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG  
Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula  
Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

## Ethical Clearance

No. 14/I/2021/Komisi Bioetik

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

**Pengaruh Pemberian N-Acetyl Cysteine (NAC) Terhadap Profil lipid dan TNF alpha  
(studi in vivo pada tikus spargus dawlay yang diberi diet tinggi kolesterol)**

Peneliti Utama : Umi Rosidah  
Pembimbing : Prof. Dr. dr. H. Toufiqurrochman Nasihun, M.Kes., Sp-And  
Dr. Hj. Ir. Titiek Sumarwati, M.Kes  
Tempat Penelitian : Laboratorium IBL Fakultas Kedokteran UNISSULA

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang tertuang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2004.

Semarang, 10 Januari 2021

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan  
Fakultas Kedokteran Unissula

Ketua,

(dr. Sofwan Dahlan, Sp.F(K))



**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)**  
**INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY**  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
Jl. Raya Kaligawe KM.4, Semarang 50112  
Tel. +62246582584, email: [ibl@unissula.ac.id](mailto:ibl@unissula.ac.id)

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

**SURAT KETERANGAN**  
**No. 184/IBL-FK-SAT/2021**

Yang Bertanda tangan di bawah ini :

Nama : dr. Fikri Taufiq, M.Si.Med., Ph.D.  
Jabatan : Kepala Laboratorium Biomedik Terintegrasi FK Unissula

Menerangkan bahwa :

Nama Peneliti : Umi Residah  
NIM / NIK : 1913010145  
Fakultas : Kedokteran / Biomedik  
Universitas : Islam Sultan Agung  
Judul : Pengaruh Pemberian *N-Acetyl cysteine* (NAC) Terhadap Kadar Profil Lipid dan TNF- $\alpha$  (STudi In Vivo Pada Tikus Jantan Wistar yang Diberi Diet Tinggi Kolesterol)

Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Biomedik Terintegrasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, untuk menunjang penyusunan Tugas Akhir (TESIS) ataupun Laporan Penelitian. Adapun penelitian dilakukan pada Desember 2020 s.d. Januari 2021, dengan hasil terlampir.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Semarang, 26 Januari 2021  
Mengetahui,  
Kepala Lab. Biomedik Terintegrasi  
Fakultas Kedokteran Unissula

dr. Fikri Taufiq, M.Si.Med., Ph.D  
NIK.210111136





Lampiran : halaman 1

Hasil Penelitian Uji Kadar TNF- $\alpha$   
(ELISA)

Kelompok	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	P1	P2
1	145	202	176	172
2	140	205	179	175
3	139	199	174	169
4	143	209	180	176
5	146	207	178	175
6	144	203	175	170

Keterangan Tambahan :

Standart (ng/L)	Abs.
640	1,2686
320	1,0440
160	0,1985
80	0,1083
40	0,0956
0	0,0809

\*data absorbansi larutan standart ini sebagai acuan perhitungan kadar

Satuan konsentrasi (Kadar) ng/L.



UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)  
INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
Jl. Raya Kaligawe KML4, Semarang 50112  
Tel. +62246583584, email: [ibl@unissula.ac.id](mailto:ibl@unissula.ac.id)

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

Lampiran : halaman 2

Hasil Pemeriksaan Laboratorium

Sampel penelitian atas nama Umi Rosidah

NO	Sampel	Kolesterol Total	Trigliserida	HDL	LDL
1	Kontrol Negatif	45,96	48,04	46,45	24,08
2	Kontrol Negatif	53,225	34,78	66,79	29,58
3	Kontrol Negatif	50,8	56,98	67,54	40,89
4	Kontrol Negatif	55,64	34,78	74,67	29,81
5	Kontrol Negatif	46,77	50,27	80,56	25,87
6	Kontrol Negatif	39,51	56,92	93,43	39,51
7	Kontrol Positif	74,83	99,38	30,51	44,83
8	Kontrol Positif	80,19	90,68	38,54	41,01
9	Kontrol Positif	78,06	97,08	34,41	56,7
10	Kontrol Positif	89,25	86,96	44,05	57,75
11	Kontrol Positif	76,12	109,32	65,16	40,67
12	Kontrol Positif	68,22	94,41	40,16	54,13
13	Perlakuan 1	69,01	60,87	53,03	39,69
14	Perlakuan 1	75,89	46,92	78,31	47,17
15	Perlakuan 1	72,38	41,06	72,53	52,02
16	Perlakuan 1	73,41	63,35	86,44	52,78
17	Perlakuan 1	66,64	61,28	90,79	30,38
18	Perlakuan 1	62,48	54,84	82,68	50,58
19	Perlakuan 2	71,66	82,62	39,79	36,75
20	Perlakuan 2	77,58	71,35	59,67	44,4
21	Perlakuan 2	75,09	80,57	56,66	45,73
22	Perlakuan 2	76,74	70,99	66,42	39,18
23	Perlakuan 2	68,29	82,92	79,91	18,84
24	Perlakuan 2	65,83	61,29	65,42	33,83

(Satuan Kadar : mg/dl)