

TABEL KONVERSI

	20 g Mencit	200 g Tikus	400 g Marmot	1,5 kg Kelinci	1 kg Kucing	4kg Kera	12 kg Anjing	70 kg Manusia
20 g mencit	1,00	7,00	12,29	27,80	23,70	64,10	124,20	287,90
200 g Tikus	0,14	1,00	1,74	3,30	4,20	9,20	17,80	56,00
400 g Marmot	0,08	0,57	1,00	2,25	2,0	5,20	10,20	31,50
1,5 kg Kelinci	0,04	0,25	1,44	1,00	1,08	2,40	4,50	14,20
1 kg Kucing	0,03	0,23	0,41	0,92	1,00	2,20	4,10	13,00
4 kg Kera	0,016	0,11	0,19	0,42	0,5	1,00	1,90	6,10
12 kg Anjing	0,008	0,06	0,10	0,22	0,2	0,52	1,00	3,10
70 kg Manusia	0,0026	0,018	0,31	0,07	0,13	0,16	0,32	1,00

(Sumber : Wahyuningsih⁶³)



LAMPIRAN 2

BERAT BADAN TIKUS (gram)

Sebelum Perlakuan			
Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	Kelompok IV
I (1) : 350 gr	II (1) : 350 gr	III (1) : 340 gr	IV (1) : 320 gr
I (2) : 330 gr	II (2) : 330 gr	III (2) : 350 gr	IV (2) : 350 gr
I (3) : 350 gr	II (3) : 350 gr	III (3) : 330 gr	IV(3) : 350 gr
I (4) : 330 gr	II (4) : 350 gr	III (4) : 340 gr	IV (4) : 340 gr
I (5) : 340 gr	II (5) : 320 gr	III (5) : 330 gr	IV (5) : 340 gr
I (6) : 350 gr	II (6) : 330 gr	III (6) : 340 gr	IV (6) : 340 gr
Setelah Perlakuan			
Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	Kelompok IV
I (1) : 340 gr	II (1) : 330 gr	III (1) : 300 gr	IV (1) : 310 gr
I (2) : 330 gr	II (2) : 340 gr	III (2) : 290 gr	IV (2) : 290 gr
I (3) : 340 gr	II (3) : 320 gr	III (3) : 270 gr	IV(3) : 260 gr
I (4) : 320 gr	II (4) : 310 gr	III (4) : 290 gr	IV (4) : 250 gr
I (5) : 330 gr	II (5) : 300 gr	III (5) : 280 gr	IV (5) : 260 gr
I (6) : 320 gr	II (6) : 310 gr	III (6) : 290 gr	IV (6) : 250 gr

LAMPIRAN 3

HASIL KOLESTEROL TIKUS (mg/dL)

Sebelum Pemberian Diet Tinggi Kolesterol (9 November 2020)			
Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	Kelompok IV
I (1) : 118	II (1) : 139	III (1) : 137	IV (1) : 100
I (2) : 133	II (2) : 114	III (2) : 114	IV (2) : 110
I (3) : 120	II (3) : 110	III (3) : 122	IV(3) : 124
I (4) : 118	II (4) : 134	III (4) : 115	IV (4) : 132
I (5) : 107	II (5) : 111	III (5) : 100	IV (5) : 103
I (6) : 121	II (6) : 120	III (6) : 130	IV (6) : 101
Setelah Pemberian Diet Tinggi Kolesterol (22 November 2020)			
Kelompok I	Kelompok II	Kelompok III	Kelompok IV
I (1) : 114	II (1) : 200	III (1) : 211	IV (1) : 280
I (2) : 130	II (2) : 244	III (2) : 230	IV (2) : 240
I (3) : 122	II (3) : 260	III (3) : 223	IV(3) : 216
I (4) : 117	II (4) : 224	III (4) : 260	IV (4) : 220
I (5) : 104	II (5) : 253	III (5) : 249	IV (5) : 251
I (6) : 120	II (6) : 210	III (6) : 217	IV (6) : 234

LAMPIRAN 4

PERHITUNGAN PEMBUATAN LARUTAN DOSIS NAC

Dosis NAC = 100 mg/70 kgBB dan 200 mg/70 kgBB

Faktor konversi pada tikus = 0,018

Berat rata-rata tikus dewasa = 350 gram

Konversi dosis NAC pada tikus

$$100 \text{ mg} \times 0,018 = 1,8 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB tikus}$$

$$200 \text{ mg} \times 0,018 = 3,6 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB tikus}$$

Dosis untuk kelompok 3

$$\frac{350 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 1,8 \text{ mg} = 3,14 \text{ mg/ekor}$$

Stok larutan

$$3,14 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 14 \text{ hari} = 264,6 \text{ mg} = 0,2646 \text{ gram}$$

$$\text{sonde @ } 1 \text{ ml} \times 6 \text{ ekor} \times 14 \text{ hari} = 84 \text{ ml}$$

Dosis untuk kelompok 4

$$\frac{350 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 3,6 \text{ mg} = 6,3 \text{ mg/ekor}$$

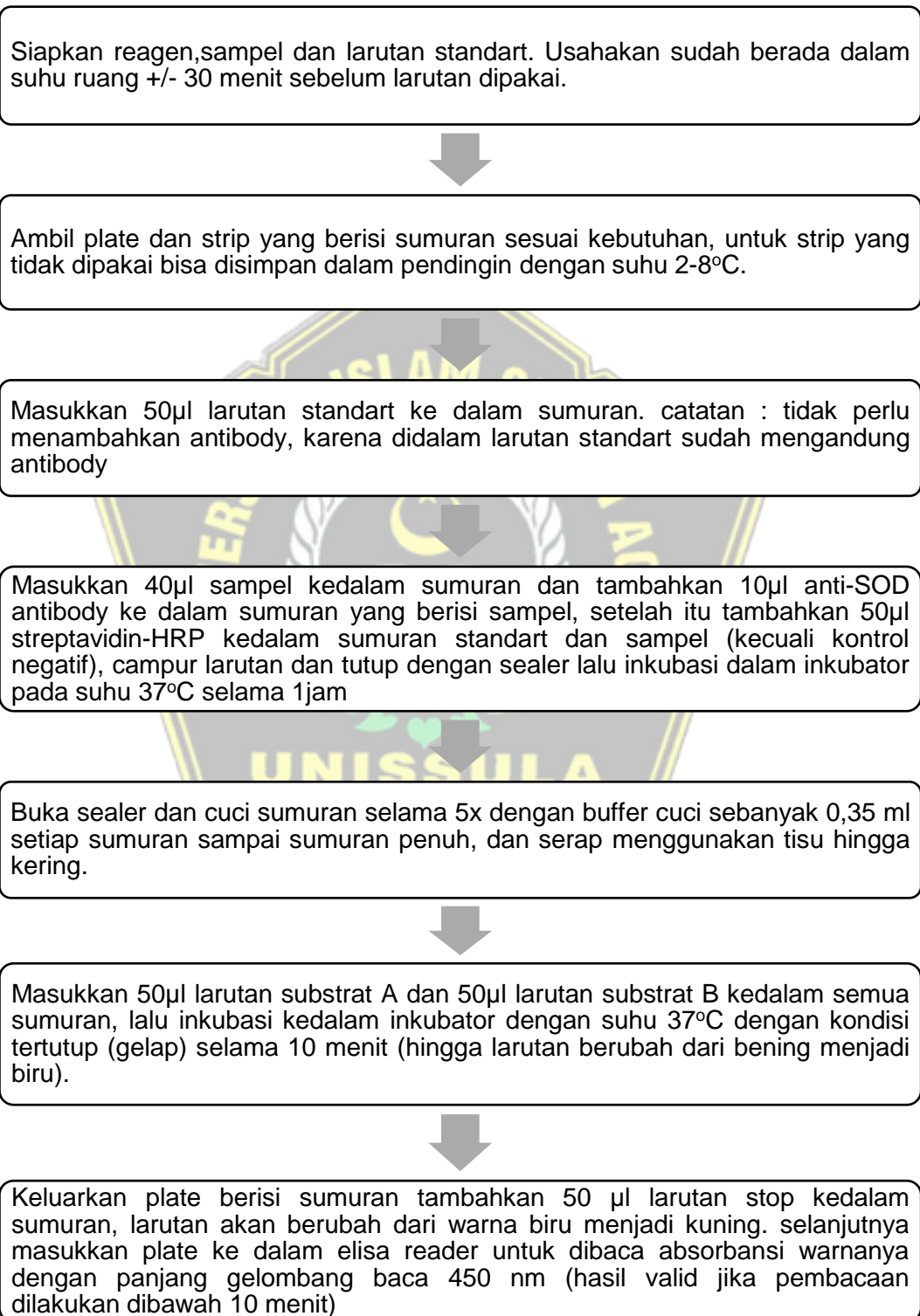
Stok larutan

$$6,3 \text{ mg} \times 6 \text{ ekor} \times 14 \text{ hari} = 529,2 \text{ mg} = 0,5292 \text{ gram}$$

$$\text{sonde @ } 1 \text{ ml} \times 6 \text{ ekor} \times 14 \text{ hari} = 84 \text{ ml}$$

LAMPIRAN 5

PROTOKOL PEMERIKSAAN *SUPEROXIDE DISMUTASE* (SOD) METODE ELISA



PROTOKOL PEMERIKSAAN HORMON TESTOTERON METODE ELISA

Siapkan reagen, sampel dan larutan standart. Usahakan sudah berada dalam suhu ruang +/- 30 menit sebelum larutan dipakai.

Ambil plate dan strip yang berisi sumuran sesuai kebutuhan, untuk strip yang tidak dipakai bisa disimpan dalam pendingin dengan suhu 2-8°C.

Masukkan 50µl larutan standart ke dalam sumuran. catatan : tidak perlu menambahkan antibody, karena didalam larutan standart sudah mengandung antibody

Masukkan 40µl sampel kedalam sumuran dan tambahkan 10µl anti- testosteron antibody ke dalam sumuran yang berisi sampel, setelah itu tambahkan 50µl streptavidin-HRP kedalam sumuran standart dan sampel (kecuali kontrol negatif), campur larutan dan tutup dengan sealer lalu inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1jam

Buka sealer dan cuci sumuran selama 5x dengan buffer cuci sebanyak 0,35 ml setiap sumuran sampai sumuran penuh, dan serap menggunakan tisu hingga kering.

Masukkan 50µl larutan substrat A dan 50µl larutan substrat B kedalam semua sumuran, tutup plate menggunakan sealer, lalu inkubasi kedalam inkubator dengan suhu 37°C dengan kondisi tertutup (gelap) selama 10 menit (hingga larutan berubah dari bening menjadi biru).

Keluarkan plate berisi sumuran tambahkan 50 µl larutan stop kedalam sumuran, larutan akan berubah dari warna biru menjadi kuning. selanjutnya masukkan plate ke dalam elisa reader untuk dibaca absorbansi warnanya dengan panjang gelombang baca 450 nm (hasil valid jika pembacaan dilakukan dibawah 10 menit)

LAMPIRAN 6

DOKUMENTASI KEGIATAN PENELITIAN



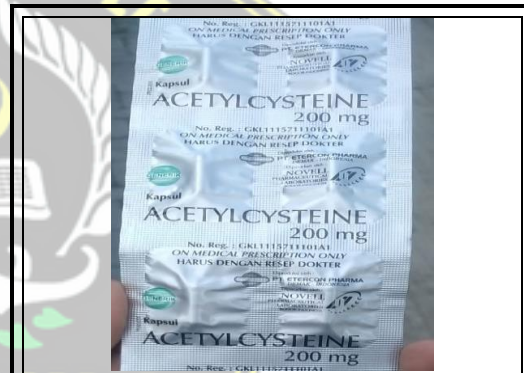
Pembagian tikus *sparague dawley* secara random menjadi 4 Kelompok



Bahan-bahan makanan diet tinggi kolesterol



Larutan Dosis NAC 100 mg dan 200 mg



Obat Acetylcysteine yang dibeli dari Kimia Farma



Pemberian diet tinggi kolesterol melalui oral dengan cara di Sonde



Pemberian larutan dosis NAC melalui oral dengan cara di Sonde



Pengambilan darah tikus melalui sinus orbital



Darah tikus ditampung ke dalam tabung vacuuh tutup merah



Kemudian darah di sentrifuge untuk mendapatkan serum



Pengambilan serum yang ditampung ke dalam tabung eppendof



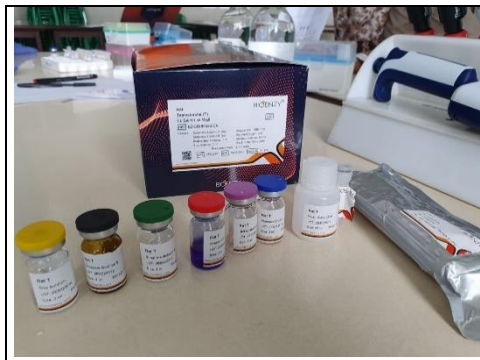
Alat dan Bahan untuk pemeriksaan MDA



Spektrofotometer UV-VIS untuk membaca absorbansi



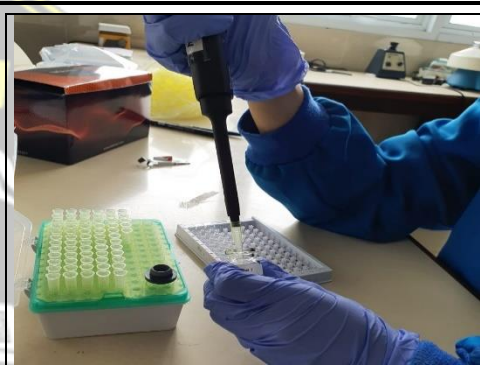
Kit Reagen Pemeriksaan SOD rat
(ELISA)



Kit Reagen Pemeriksaan Testosteron
rat (ELISA)



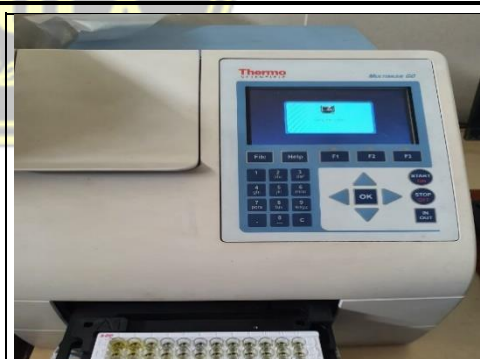
Serum tikus yang berjumlah 24
sampel



Memasukkan serum dan reagen ke
dalam wel/sumuran



Wel/sumuran untuk pemeriksaan
SOD dan Testosteron



ELISA reader merek Thermo
Scientific

LAMPIRAN 7
OLAH DATA SPSS

1. Rerata (Mean) dan Standar Deviasi

- **Kadar SOD**

		Statistics			
		Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4
N	Valid	6	6	6	6
	Missing	6	6	6	6
Mean		2.267	1.850	2.183	2.317
Std. Deviation		.1751	.1643	.3710	.2639

- **Kadar MDA**

		Statistics			
		Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4
N	Valid	6	6	6	6
	Missing	0	0	0	0
Mean		1.500	2.733	1.600	1.867
Std. Deviation		.9879	.4676	1.1189	.8477

- **Kadar Testosteron**

		Statistics			
		Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4
N	Valid	6	6	6	6
	Missing	0	0	0	0
Mean		299.17	277.83	286.00	299.83
Std. Deviation		14.077	8.495	10.178	17.337

2. Uji Normalitas (Shapiro Wilk)

- Kadar SOD

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok 1	.185	6	.200*	.974	6	.918
Kelompok 2	.319	6	.056	.683	6	.004
Kelompok 3	.290	6	.125	.891	6	.326
Kelompok 4	.291	6	.124	.908	6	.423

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

a. Lilliefors Significance Correction

- Kadar MDA

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok 1	.286	6	.136	.767	6	.029
Kelompok 2	.279	6	.159	.908	6	.421
Kelompok 3	.204	6	.200*	.957	6	.793
Kelompok 4	.225	6	.200*	.961	6	.824

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

a. Lilliefors Significance Correction

- Kadar Testosteron

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kelompok 1	.164	6	.200*	.981	6	.956
Kelompok 2	.228	6	.200*	.912	6	.448
Kelompok 3	.255	6	.200*	.909	6	.431
Kelompok 4	.186	6	.200*	.963	6	.843

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

a. Lilliefors Significance Correction

3. Uji Homogenitas (Levene test)

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
SOD (ng/ml)	1.891	3	20	.164
MDA (mg/dL)	2.102	3	20	.132
Testosteron (ng/L)	.645	3	20	.595

Jadi dapat disimpulkan bahwa

- Kadar SOD menunjukkan tidak normal dan homogen sehingga dilakukan uji Kruskal Wallis kemudian dilanjut dengan uji Man Whitney
- Kadar MDA menunjukkan tidak normal dan homogen sehingga dilakukan uji Kruskal Wallis kemudian dilanjut dengan uji Man Whitney
- Kadar Testosteron menunjukkan normal dan homogen sehingga dilakukan uji One Way Anova $p < 0,05$ dilanjut dengan uji post hoc dengan uji Tukey

4. Uji Kruskal Wallis

	SOD (ng/ml)	MDA (mg/dL)
Chi-Square	8.749	7.967
df	3	3
Asymp. Sig.	.033	.047

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

5. Uji Perbedaan (*Mann Whitney*) Kelompok Penelitian dengan Kadar SOD

-K1 dengan K2

Test Statistics ^a	
	SOD (ng/ml)
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	22.500
Z	-2.714
Asymp. Sig. (2-tailed)	.007
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.004 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.

- K2 dengan K3

Test Statistics ^a	
	SOD (ng/ml)
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	28.500
Z	-1.737
Asymp. Sig. (2-tailed)	.082
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.093 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.

- K1 dengan K3

Test Statistics ^a	
	SOD (ng/ml)
Mann-Whitney U	16.500
Wilcoxon W	37.500
Z	-.245
Asymp. Sig. (2-tailed)	.806
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.818 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.

- K2 dengan K4

Test Statistics ^a	
	SOD (ng/ml)
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-2.441
Asymp. Sig. (2-tailed)	.015
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.015 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.

- K1 dengan K4

Test Statistics ^a	
	SOD (ng/ml)
Mann-Whitney U	14.500
Wilcoxon W	35.500
Z	-.566
Asymp. Sig. (2-tailed)	.571
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.589 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.

- K3 dengan K4

Test Statistics ^a	
	SOD (ng/ml)
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	33.000
Z	-.969
Asymp. Sig. (2-tailed)	.332
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.394 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.

6. Uji Perbedaan (*Mann Whitney*) Kelompok Penelitian dengan Kadar MDA

- - K1 dengan K2

Test Statistics ^a	
	MDA (mg/dL)
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-2.576
Asymp. Sig. (2-tailed)	.010
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- K2 dengan K3

Test Statistics ^a	
	MDA (mg/dL)
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	26.500
Z	-2.009
Asymp. Sig. (2-tailed)	.045
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.041 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- K1 dengan K3

Test Statistics ^a	
	MDA (mg/dL)
Mann-Whitney U	17.000
Wilcoxon W	38.000
Z	-.161
Asymp. Sig. (2-tailed)	.872
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.937 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- K2 dengan K4

Test Statistics ^a	
	MDA (mg/dL)
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	25.500
Z	-2.169
Asymp. Sig. (2-tailed)	.030
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.026 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- K1 dengan K4

Test Statistics ^a	
	MDA (mg/dL)
Mann-Whitney U	17.000
Wilcoxon W	38.000
Z	-.161
Asymp. Sig. (2-tailed)	.872
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.937 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- K3 dengan K4

Test Statistics ^a	
	MDA (mg/dL)
Mann-Whitney U	17.000
Wilcoxon W	38.000
Z	-.161
Asymp. Sig. (2-tailed)	.872
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.937 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

7. Uji One Way Anova pada Kadar Testosteron

ANOVA

Testosteron (ng/L)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2056.458	3	685.486	4.065	.021
Within Groups	3372.500	20	168.625		
Total	5428.958	23			

8. Uji Post Hoc dengan Uji Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Testosteron (ng/L)

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	21.333*	7.497	.045	.35	42.32
	K3	13.167	7.497	.323	-7.82	34.15
	K4	-.667	7.497	1.000	-21.65	20.32
K2	K1	-21.333*	7.497	.045	-42.32	-.35
	K3	-8.167	7.497	.700	-29.15	12.82
	K4	-22.000*	7.497	.038	-42.98	-1.02
K3	K1	-13.167	7.497	.323	-34.15	7.82
	K2	8.167	7.497	.700	-12.82	29.15
	K4	-13.833	7.497	.283	-34.82	7.15
K4	K1	.667	7.497	1.000	-20.32	21.65
	K2	22.000*	7.497	.038	1.02	42.98
	K3	13.833	7.497	.283	-7.15	34.82

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