

PERBEDAAN METODE INDUKSI ATEROSKLEROSIS

TERHADAP KADAR KATALASE

Studi Eksperimen pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*)

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



oleh

Khofifah Ayustyaningrum

30101900111

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2023

SKRIPSI
PERBEDAAN METODE INDUKSI ATEROSKLEROSIS
TERHADAP KADAR KATALASE
Studi Eksperimen pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Khofifah Ayustyaningrum

30101900111

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 8 Februari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Kamilia Dwi Utami, M.Biomed

Anggota Tim Penguji



dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc

Pembimbing II



dr. Conita Yuniarifa, M.Biomed



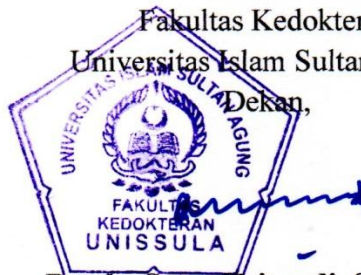
dr. Naili Sofi Riasari, Sp.N

Semarang, 8 Februari 2023

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : **Khofifah Ayustyaningrum**

Nim : **30101900111**

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

“Perbedaan Metode Induksi Aterosklerosis Terhadap Kadar Katalase : Studi Eksperimen pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*)”

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

Semarang, 13 Februari 2023

Yang menyatakan,



Khofifah Ayustyaningrum

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirrabbi'l'alamin, segala puji bagi Allah Tuhan Yang Maha Kuasa atas limpahan rahmat, hidayah dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Perbedaan Metode Induksi Aterosklerosis Terhadap Kadar Katalase : Studi Eksperimen pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*)”** dengan tepat waktu. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Terselesaikannya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari doa, dukungan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF., S.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Kamilia Dwi Utami, M.Biomed selaku dosen pembimbing I dan dr. Conita Yuniarifa, M. Biomed selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
3. dr. Ulfah Dian Indrayani M.Sc. selaku dosen penguji I dan dr. Naili Sofi Riasari, Sp.N selaku dosen penguji II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.

4. dr. Qorry Amanda, M.Biomed selaku dosen yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk waktu, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan masukan dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Kepala Bagian Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada beserta staf dan jajarannya yang telah membantu dan menyediakan tempat untuk penelitian ini dari awal hingga selesai.
6. Kedua orang tua yang saya sayangi dan saya cintai Bapak Kusmin Nuryadin, Ibu Siti Hikmah, serta keluarga besar yang telah memberikan doa, semangat, serta dukungan moral, dan spiritual selama penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan di waktu mendatang. Besar harapan saya skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi serta bermanfaat bagi pembaca.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Semarang, 13 Februari 2023

Khofifah Ayustyaningrum

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Katalase	6
2.1.1 Pengertian Katalase.....	6
2.1.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Katalase.....	8
2.2. Aterosklerosis	9
2.2.1. Pengertian Aterosklerosis	9
2.2.2. Patogenesis Aterosklerosis.....	11
2.2.3. Aterosklerosis pada Hewan.....	13
2.3. Hubungan Merokok terhadap Kadar Katalase	14
2.4. Hubungan Injeksi Adrenalin dan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Katalase	15
2.5. Kerangka Teori.....	17
2.6. Kerangka Konsep	18

2.7. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	19
3.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	19
3.2.1. Variabel Penelitian	19
3.2.1.1. Variabel Bebas.....	19
3.2.1.2. Variabel Tergantung.....	19
3.2.2. Definisi Operasional.....	19
3.2.2.1. Metode Induksi.....	19
3.2.2.2. Kadar Katalase.....	21
3.3. Subjek uji.....	21
3.3.1. Kriteria Inklusi	23
3.3.2. Kriteria Drop Out.....	23
3.4. Instrumen dan Bahan.....	24
3.4.1. Instrumen	24
3.4.2. Bahan	24
3.5. Cara Penelitian.....	25
3.5.1. Pembagian Kelompok Penelitian	25
3.5.2. Pembuatan Pakan Standar.....	25
3.5.3. Injeksi Adrenalin.....	26
3.5.4. Pemberian Diet Kuning Telur.....	26
3.5.5. Paparan Asap Rokok.....	27
3.5.6. Perlakuan Terhadap Hewan Coba.....	27
3.5.7. Prosedur Pengambilan Darah Tikus.....	29
3.5.8. Pengukuran Kadar Katalase	29
3.6. Alur Penelitian.....	31
3.7. Tempat dan Waktu Penelitian	32
3.8. Analisa Hasil	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Hasil Penelitian.....	32
4.2. Pembahasan.....	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
5.1. Kesimpulan.....	41
5.2. Saran.....	41

DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	43



DAFTAR SINGKATAN

KAT	: Katalase
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid</i>
eNOS	: <i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
GPx	: <i>Glutation Peroksidase</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular Cell Adhesion Molecule - 1</i>
IL-1	: <i>Interleukin - 1</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
OECD	: <i>Organisation for Economic Co-operation and Development</i>
Ox-LDL	: <i>Oxidized Low-Density Lipoprotein</i>
PAH	: <i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbons</i>
PJK	: <i>Penyakit Jantung Koroner</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoksida Dismutase</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule - 1</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Formulasi pakan standar AIN-93M	25
Tabel 4.1. Normalitas Sebaran Data, Homogenitas dan Hasil <i>One Way Anova</i> Kadar Katalase	34
Tabel 4.2. Hasil Uji <i>Post Hoc Bonferroni</i> terhadap Kadar Katalase Keempat Kelompok.....	35



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Reaksi Kimia Katalase	7
Gambar 2.2. Patogenesis Aterosklerosis	12
Gambar 2.3. Kerangka Teori Penelitian.....	18
Gambar 2.4. Kerangka Konsep Penelitian	18
Gambar 3.1. Pembagian Kelompok Perlakuan	22
Gambar 3.2. Alur Penelitian.....	31
Gambar 4.1. Grafik rerata kadar katalase antar kelompok perlakuan.....	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Perhitungan Kadar Katalase.....	48
Lampiran 2. Hasil Perhitungan Rata-Rata Kadar Katalase dan Standar Deviasi dengan Uji Deskriptif.....	49
Lampiran 3. Hasil Analisis Uji Normalitas dan Homogenitas Data Kadar Katalase dengan <i>Saphiro-Wilk</i> dan <i>Levene Test</i>	51
Lampiran 4. Hasil Uji Analisis Statistik Parametrik <i>One Way Anova</i> dan <i>Post Hoc Bonferroni</i>	52
Lampiran 5. Proses Penelitian.....	53
Lampiran 6. <i>Ethical Clearance</i>	54
Lampiran 7. Surat Selesai Penelitian.....	54



INTISARI

Aterosklerosis merupakan kondisi yang disebabkan oleh proses inflamasi kronis yang mengakibatkan pembentukan plak pembuluh darah. Merokok, diet tinggi lemak dan injeksi adrenalin merupakan faktor resiko terjadinya stres oksidatif, hal tersebut akan menyebabkan penurunan antioksidan endogen yaitu katalase. Penelitian mengenai induksi aterosklerosis dengan penanda katalase sudah pernah dilakukan namun hal kontradiktif terjadi yaitu terdapat penurunan kadar katalase tetapi tidak sampai memperlihatkan timbulnya plak aterosklerotik hal ini menjadi alasan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Design* ini menggunakan tikus jantan galur wistar sebanyak 24 ekor dibagi 4 kelompok dan diberi perlakuan selama 28 hari. K(-) diberi pakan standar dan air, K1 diberi pakan standar, air dan injeksi adrenalin dilanjutkan diet kuning telur, K2 diberi pakan standar, air dan paparan asap rokok, K3 diberi pakan standar, air, injeksi adrenalin, diet kuning telur dan paparan asap rokok. Penelitian dilakukan di Laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada.

Hasil rerata kadar katalase yaitu K(-) $5,40 \pm 0,063$ U/mL, K1 $1,87 \pm 0,416$ U/mL, K2 $1,81 \pm 0,050$ U/mL, K3 $1,65 \pm 0,052$ U/mL. Data dianalisis uji *One Way Anova*, hasilnya terdapat perbedaan kadar katalase antar kelompok $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Kemudian dianalisis uji *Post Hoc*, hasilnya seluruh kelompok terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) kecuali pada K1 dibandingkan dengan K2 dengan tidak terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p = 0,332$ ($p > 0,05$).

Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar.

Kata Kunci: Aterosklerosis, Katalase, Diet Tinggi Lemak, Injeksi Adrenalin, Asap rokok.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Aterosklerosis merupakan penyakit arteri kronis yang menjadi penyebab utama kematian di dunia. Adanya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan yang diproduksi tubuh akan menyebabkan tubuh mengalami stres oksidatif. Stres oksidatif akan mengakibatkan kerusakan jaringan yang akan memicu terjadinya reaksi inflamasi yang akhirnya dapat menyebabkan terjadinya kerusakan membran sel (Santosa dan Baharuddin, 2020). Kebiasaan merokok, diet tinggi lemak dan injeksi adrenalin mengandung radikal bebas kuat yang merupakan faktor resiko terjadinya stres oksidatif yang akan menyebabkan penurunan antioksidan enzimatik di dalam tubuh salah satunya katalase (Agustin dan Lisdiana, 2021). Penelitian mengenai induksi aterosklerosis dengan penanda katalase ini sudah pernah dilakukan, namun terdapat hal kontradiktif mengenai teori terjadi, hasil penelitian memperlihatkan adanya penurunan kadar katalase tetapi tidak sampai memperlihatkan timbulnya plak aterosklerotik (Poznyak *et al.*, 2020). Hal ini menjadi alasan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase.

Penyakit kardiovaskuler, terutama yang disebabkan oleh aterosklerosis, menjadi penyebab kematian pertama di dunia (Santosa dan Baharuddin, 2020). Pada tahun 2019 *World Health Organization* (WHO)

menyatakan bahwa penyakit kardiovaskuler menyebabkan 17,9 juta kematian, dari kematian tersebut 85% disebabkan oleh penyakit jantung koroner dan stroke (WHO, 2021). Data Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2020) menyebutkan Indonesia memiliki angka kematian akibat aterosklerosis sebanyak 50%, sedangkan data Dinkes Kota Semarang, Jawa Tengah menyebutkan kasus tertinggi penyakit tidak menular tahun 2015-2019 yaitu penyakit hipertensi (232.180 kasus) dan obesitas (23.376 kasus) yang merupakan faktor risiko pemicu terjadinya aterosklerosis (Dinkes Semarang, 2019).

Aterosklerosis menjadi dasar patologi dan kondisi pra-gejala terjadinya penyakit kardiovaskuler, sehingga penelitian menggunakan hewan coba dapat memberikan banyak informasi mengenai proses patofisiologi aterosklerosis, pencegahan, dan pengobatannya (Getz & Reardon, 2015). Metode induksi aterosklerosis yang sering dilakukan pada hewan coba tikus adalah dengan diet tinggi lemak dan kolesterol, pada umumnya tikus tidak merespon baik terhadap diet kolesterol karena kadar HDL plasma yang lebih tinggi, maka diperlukan kombinasi faktor risiko diet tinggi kolesterol dan pemicu terjadinya jejas endotel sehingga dapat mempercepat proses terjadinya plak (Golfroush *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan oleh Radakovic *et al.* (2018) pada tikus yang diberi injeksi adrenalin menunjukkan bahwa adrenalin dapat menginduksi stres oksidatif. Penelitian Sutejo *et al.* (2017) membuktikan bahwa induksi berupa injeksi inisial adrenalin intravena dengan dosis 0,006 mg/200 gBB

dan kuning telur bebek sebanyak 5 g/200 gBB mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid inilah yang menjadi dasar terjadinya aterosklerosis. Pada penelitian tersebut membuktikan bahwa aterosklerosis terjadi sebagai respon inflamasi dan bukan merupakan akibat sederhana dari akumulasi lipid. Penelitian sebelumnya memberikan kesimpulan bahwa terdapat lebih dari 60% kematian yang disebabkan penyakit jantung koroner pada pasien perokok (Saleh dan Ambrose, 2018). Penelitian Agustin dan Lisdiana (2021) berhasil membuktikan bahwa paparan asap rokok kretek sebanyak 3 batang selama 30 hari dapat menurunkan kadar katalase terendah dibandingkan dengan pemberian rokok elektrik dosis nikotin 3 mg, 6 mg, 9 mg selama 30 hari. Hal ini karena terjadi kerusakan sel dan terjadi penghambatan biosintesis katalase di hati secara bermakna yang mengakibatkan katalase berdifusi ke dalam darah. Sehingga, jumlah katalase di darah menurun setelah diberi paparan rokok kretek.

Penelitian terkait metode induksi aterosklerosis dengan menggunakan salah satu faktor paparan asap rokok, diet tinggi lemak atau injeksi adrenalin terhadap kadar katalase sudah dilakukan, tetapi belum terdapat penelitian yang menggabungkan tiga dari metode induksi tersebut terhadap kadar katalase. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus wistar. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan paparan asap rokok pada hewan coba dengan mengacu pada OECD *Guideline* no. 412 tentang toksisitas inhalasi subakut, yakni selama

28 hari (OECD, 2018). Induksi dengan menggunakan injeksi adrenalin serta diet kuning telur dilakukan secara intermitten selama 28 hari dengan mengacu pada saran penelitian sebelumnya, yakni dengan memperpanjang masa perlakuan induksinya (Amanda *et al.*, 2022; Kusuma *et al.*, 2016)

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui kadar katalase tikus yang induksi dengan injeksi adrenalin disertai oleh diet kuning telur selama 28 hari

1.3.2.2. Mengetahui kadar katalase tikus yang induksi dengan paparan asap rokok selama 28 hari terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar

1.3.2.3. Mengetahui kadar katalase tikus yang induksi dengan injeksi adrenalin disertai diet kuning telur dan paparan asap

rokok selama 28 hari terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar

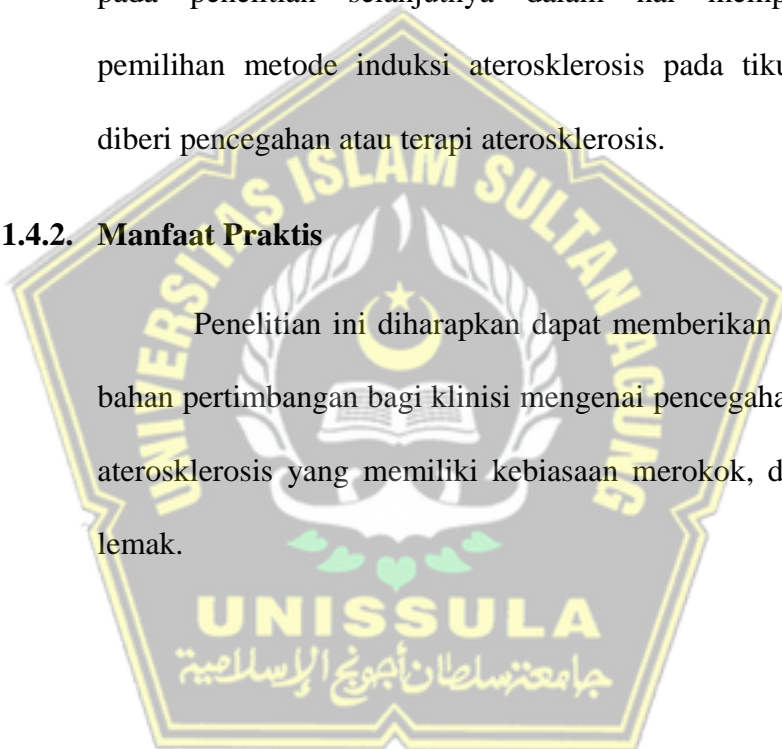
1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi pada penelitian selanjutnya dalam hal mempertimbangkan pemilihan metode induksi aterosklerosis pada tikus yang akan diberi pencegahan atau terapi aterosklerosis.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan bahan pertimbangan bagi klinisi mengenai pencegahan pada pasien aterosklerosis yang memiliki kebiasaan merokok, dan diet tinggi lemak.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Katalase

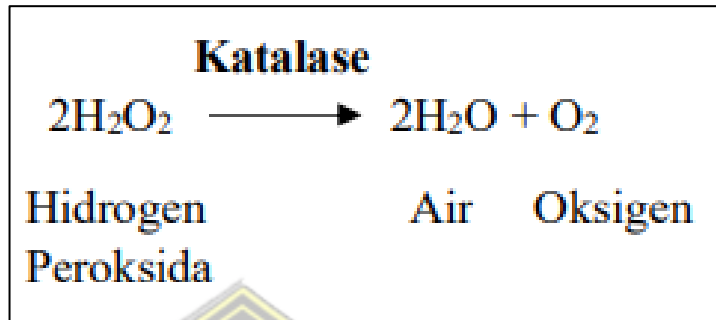
2.1.1 Pengertian Katalase

Ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh disebut dengan stres oksidatif (Haerani *et al.*, 2018). Keadaan tersebut menyebabkan tubuh memerlukan antioksidan yang dapat menangkap dan menetralkan radikal bebas, sehingga reaksi-reaksi lanjutan yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif dapat berhenti dan kerusakan sel dapat dihindari. Tubuh dapat memproduksi sendiri antioksidan (antioksidan endogen) yang berupa enzim seperti Katalase (KAT), Superoksida Dismutase (SOD) dan Glutathion Peroksidase (GPx) (Parwata, 2016).

Salah satu antioksidan endogen yang paling penting adalah Katalase (KAT). Katalase banyak ditemukan di beberapa organ seperti ginjal, hepar, dan sumsum tulang, akan tetapi yang paling banyak terdapat di hepar (Josephine *et al.*, 2020). Enzim katalase merupakan salah satu golongan hidroperekhidase, enzim ini memiliki peran penting dalam menghambat terbentuknya ROS. Katalase berfungsi untuk memecah dua molekul H₂O₂ (hidrogen peroksida) menjadi satu molekul O₂ (oksigen) dan dua molekul

H₂O (air). Reaksi kimia katalase yang terjadi adalah seperti

Gambar 2.1



Gambar 2.1. Reaksi Kimia Katalase (Nandi *et al.*, 2019).

ROS yang terdapat didalam tubuh terdiri dari superoksida (O₂⁻), hidroksil (OH⁻), hidrogen peroksida (H₂O₂). Radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida. Superoksida (O₂⁻) akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H₂O₂). Hidrogen ini dalam tahap propagasi akan diubah menjadi radikal hidroksil (OH⁻). Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel sehingga sel mengalami kerusakan. Keadaan ini kalau dibiarkan terus akan menyebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan endogen salah satunya katalase yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif (Parwata, 2016).

2.1.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Katalase

Kadar katalase dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu inhibitor, suhu, pH dan konsentrasi substrat (Sharma dan Ahmad, 2014).

Faktor yang mempengaruhi kadar katalase adalah sebagai berikut :

1. Inhibitor

Inhibitor adalah molekul yang dapat menurunkan aktivitas enzim. Kadar katalase dipengaruhi oleh molekul lain, contoh inhibitor adalah karbon monoksida, yodium, asetat, sianida, fluorida (Sharma dan Ahmad, 2014).

2. Suhu

Suhu optimum katalase adalah 40°C, kenaikan suhu diatas suhu optimum dapat mengakibatkan terjadinya perubahan struktur atau denaturasi (Sharma dan Ahmad, 2014).

3. pH

pH optimum katalase adalah 7, diluar pH optimum tersebut baik kenaikan atau penurunan pH menyebabkan penurunan aktivitas katalase. Katalase akan mengalami denaturasi pada pH diatas 10 (Sharma dan Ahmad, 2014).

4. Konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat mempengaruhi laju reaksi, karena semakin tinggi konsentrasi substrat yang ada maka semakin tinggi aktivitas enzim atau kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut. Penambahan konsentrasi substrat dalam jumlah tertentu tidak meningkatkan kecepatan reaksi enzim, melainkan dapat menurunkan aktivitas enzim atau kecepatan reaksi. Dalam hal ini, substrat yang ditambahkan tersebut akan menjadi inhibitor dalam reaksi enzimatik (Elawati *et al.*, 2018).

2.2. Aterosklerosis

2.2.1. Pengertian Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan kategori penyakit inflamasi kronis progresif yang disebut ateroma (plak aterosklerotik). Plak aterosklerotik adalah lesi berupa penonjolan yang terdiri atas pusat massa lemak yang lunak (terutama kolesterol dan ester kolesterol) ditutupi oleh jaringan ikat. Plak aterosklerotik dapat menyumbat lumen pembuluh darah dan rentan terhadap ruptur, sehingga menghasilkan trombosis pembuluh darah yang berbahaya. Aterosklerosis tidak hanya dasar patologi pada setiap kejadian penyakit kardiovaskuler, akan tetapi juga sebagai *pre-symptom* pada sebagian besar penyakit. Perempuan premenopause yang tidak memiliki faktor predisposisi lain, seperti diabetes,

hiperlipidemia, atau hipertensi berat lebih terlindungi dari risiko aterosklerosis dibandingkan dengan laki-laki dengan usia yang sama. Setelah memasuki fase menopause insidens penyakit yang berkaitan dengan aterosklerosis akan meningkat (Kumar *et al.*, 2017).

1. Faktor Risiko Utama yang Dapat Dimodifikasi

a. Hiperlipidemia

Hal yang berperan pada kondisi ini adalah adanya LDL plasma yang tinggi dan HDL plasma yang rendah. Kadar HDL yang tinggi akan menurunkan risiko terjadinya aterosklerosis (Kumar *et al.*, 2017).

b. Hipertensi

Hipertensi merupakan faktor risiko utama lainnya yang dapat meningkatkan risiko PJK sekitar 60%. Hipertensi juga merupakan penyebab utama hipertrofi ventrikel kiri, yang juga berkontribusi terhadap iskemia miokardium (Kumar *et al.*, 2017).

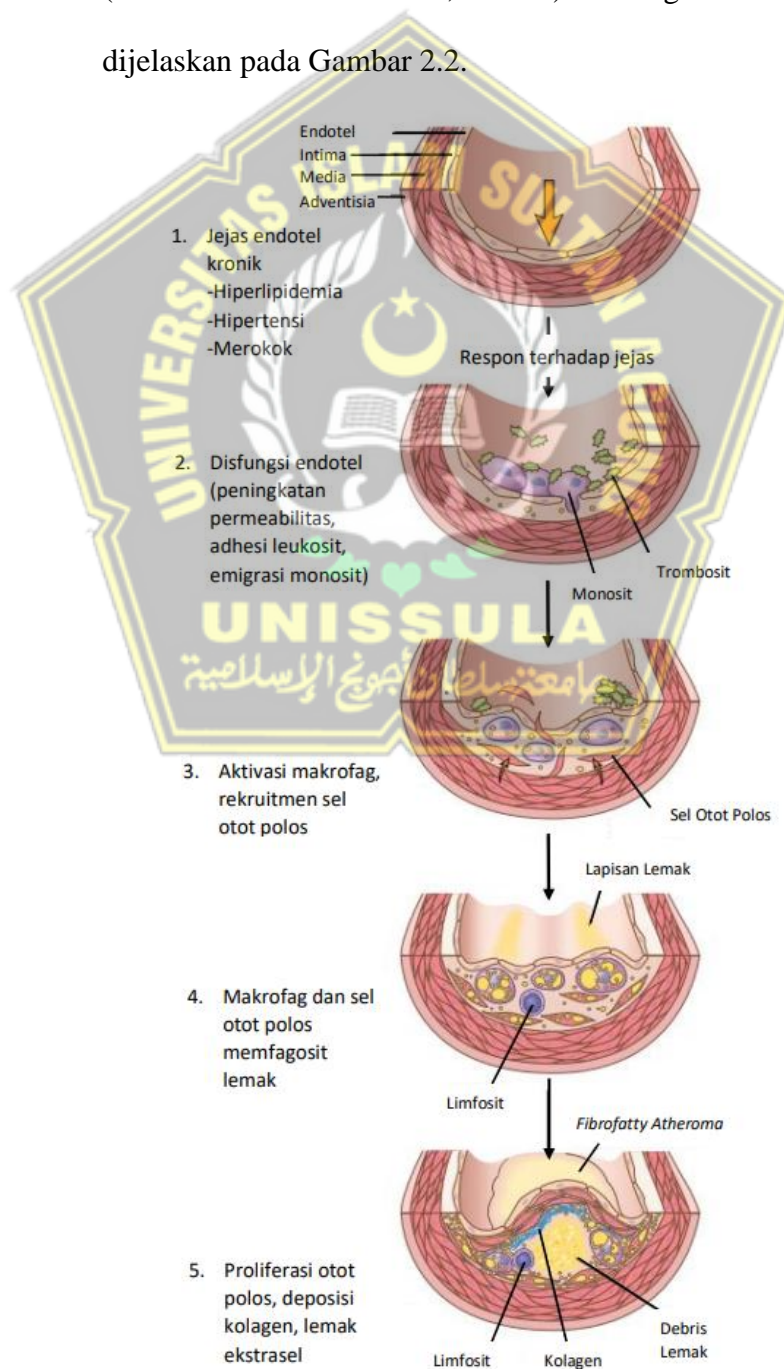
c. Merokok

Merokok adalah faktor risiko yang berperan besar pada pria dan mungkin pula berperan pada peningkatan insidensi dan keparahan aterosklerosis pada perempuan. Merokok satu bungkus atau lebih sehari selama bertahun-tahun dapat menggandakan tingkat

kematian yang terkait Penyakit Jantung Koroner atau PJK (Kumar *et al.*, 2017).

2.2.2. Patogenesis Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan proses inflamasi yang berdasarkan gejala klinisnya dibagi menjadi beberapa tahap (Kowara dan Cudnoch, 2021). Patogenesis aterosklerosis dijelaskan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Patogenesis Aterosklerosis (Kumar *et al.*, 2017).

Tahap inisiasi dimulai dengan masuknya leukosit mononuklear ke tunika intima. *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule-1* (VCAM-1) dan *E-selectin* yang merupakan molekul adhesi diekspresikan pada permukaan sel endotel dibawah efek stimulus aterogenik, lalu akan memediasi adhesi leukosit dan limfosit T ke tunika intima. Monosit akan berubah menjadi makrofag. Pada keadaan hiperlipidemia kronik, lipoprotein akan terakumulasi dalam intima dan akan teroksidasi. Kejadian ini dipicu oleh radikal bebas dan makrofag. LDL yang teroksidasi memicu terjadinya pelepasan kemokin dan sitokin yang memperberat inflamasi. Makrofag kemudian akan menangkap LDL yang teroksidasi dan membentuk sel busa atau *foam cell* (Prameswari, 2020).

Tahap selanjutnya yaitu tahap progresi. Ateroma yang sedang terbentuk ikut terakumulasi pada otot polos. Sel otot polos kaya akan kolagen yang berguna untuk melindungi stabilitas plak. Penurunan aktivitas sintesis sel otot polos dapat membahayakan stabilitas plak. Kekurangan sel otot polos pada lokasi ruptur berkaitan dengan proses apoptosis. Ateroma yang terbentuk seringkali menyebabkan kalsifikasi yang mempengaruhi stabilitas

plak. Plak ateromatosa tersusun dari makrofag, sel otot polos, sel T, matriks ekstraseluler termasuk lipid, kolagen, proteoglikan dan serat elastis (Prameswari, 2020). Tahap komplikasi terjadi disaat plak yang stenosis menyebabkan oklusi pembuluh darah, menurunkan aliran darah dan dapat menyebabkan iskemia pada miokardium jika plak menutupi lumen sebesar 70% (Prameswari, 2020).

2.2.3. Aterosklerosis pada Hewan

Penelitian hewan coba yang berhasil diinduksi aterosklerosis dengan baik contohnya adalah tikus dan mencit. Terdapat beberapa kerugian diantaranya yaitu lokasi plak aterosklerosis pada tikus dan mencit lebih sering pada aorta, sedangkan pada manusia lebih sering pada arteri koroner dan tingginya kadar HDL alamiahnya menyebabkan resistensi progresi plak (Golforoush *et al.*, 2020). Selain itu, untuk menginduksinya supaya menderita aterosklerosis harus diberi injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak ekstrim yang toksik dan disertai dengan modifikasi faktor risiko lain seperti pemberian paparan asap rokok (Ali *et al.*, 2012).

Tikus Sprague-Dawley dan Wistar sering digunakan sebagai hewan coba penelitian aterosklerosis, akan tetapi tikus wistar dinilai lebih baik untuk digunakan sebagai model hewan coba aterosklerosis, karena tikus wistar lebih cepat mengalami

penambahan ukuran sel adiposa, peningkatan berat badan, dan peningkatan kadar trigliserid di atas nilai normal (Marques *et al.*, 2016).

2.3. Hubungan Merokok terhadap Kadar Katalase

Rokok mengandung 4800 macam zat kimia yang dapat mempengaruhi fungsi tubuh yaitu nikotin, karbon monoksida, nitrogen oksida, hidrogen sianida, tar, ammonia, akrolein, benzene dan etanol. Zat kimia nikotin dalam hal peradangan pada pembuluh darah, memiliki banyak peran dalam menginduksi aterosklerosis, diantaranya nikotin terbukti meningkatkan tekanan darah dan nadi yang mengakibatkan terbentuknya jejas endotel. Nikotin menginhibisi aktivasi *Nitric Oxide Synthase* (eNOS) dan menurunkan produksi *Nitric Oxide* (NO). Nikotin meningkatkan ekspresi molekul adhesi pada sel endotel, seperti *Intercellular Adhesion Molecular-1* (ICAM-1) dan *E-selectin* yang akan meningkatkan ikatan dan perpindahan monosit dari sirkulasi darah ke dinding pembuluh darah. Nikotin menstimulasi langsung makrofag sehingga menghasilkan lebih banyak sitokin inflamasi, terutama jenis TNF-Alfa, IL-1 Beta dan kemokin yang mendukung terciptanya keadaan proinflamasi pada ruang subendotel.

Zat *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) yang terdapat di rokok juga menginduksi aterosklerosis dengan menurunkan kemampuan

regulasi normal perpindahan kolesterol (Agustin dan Lisdiana, 2021). Bakhtiari *et al.* (2015) pada penelitiannya menyimpulkan bahwa kadar antioksidan endogen lebih rendah pada perokok bila dibandingkan dengan bukan perokok. Agustin dan Lisdiana (2021) pada penelitiannya menyimpulkan bahwa paparan asap rokok kretek berpengaruh terhadap kadar katalase.

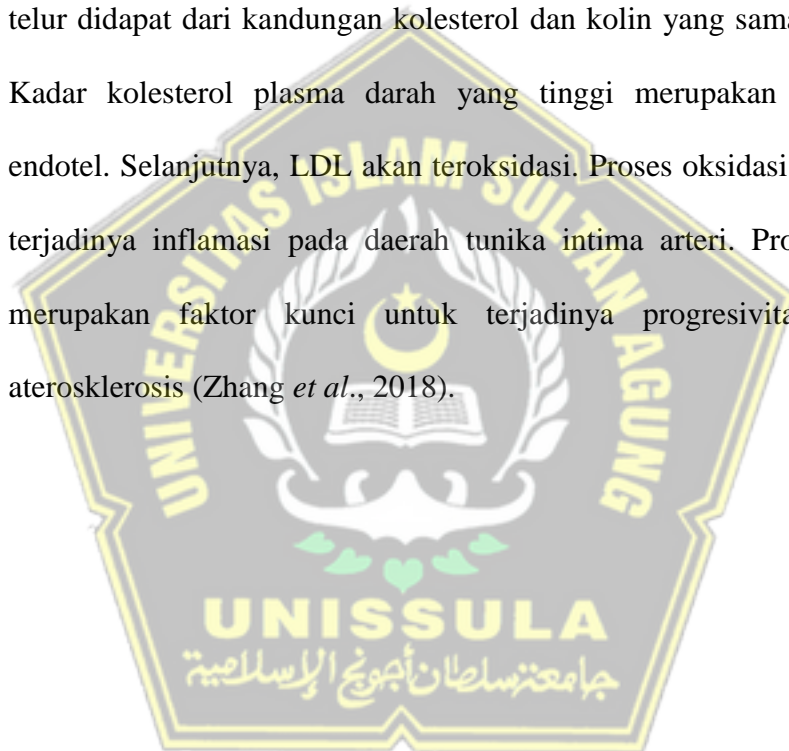
2.4. Hubungan Injeksi Adrenalin dan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Katalase

Ketidakseimbangan lemak darah yang terdiri dari *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL) dan trigliserida disebut dislipidemia. Pada relevansi klinis, hiperlipidemia dikaitkan dengan kenaikan kadar LDL, penurunan kadar HDL dan kenaikan kadar trigliserida dalam darah. Kolesterol LDL yang akan membawa kolesterol dari hepar menuju ke seluruh tubuh, sedangkan kolesterol HDL yang membawa kolesterol dari seluruh jaringan dan organ tubuh kembali ke hepar (Zhang *et al.*, 2018).

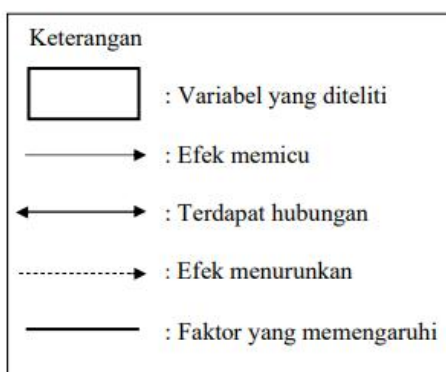
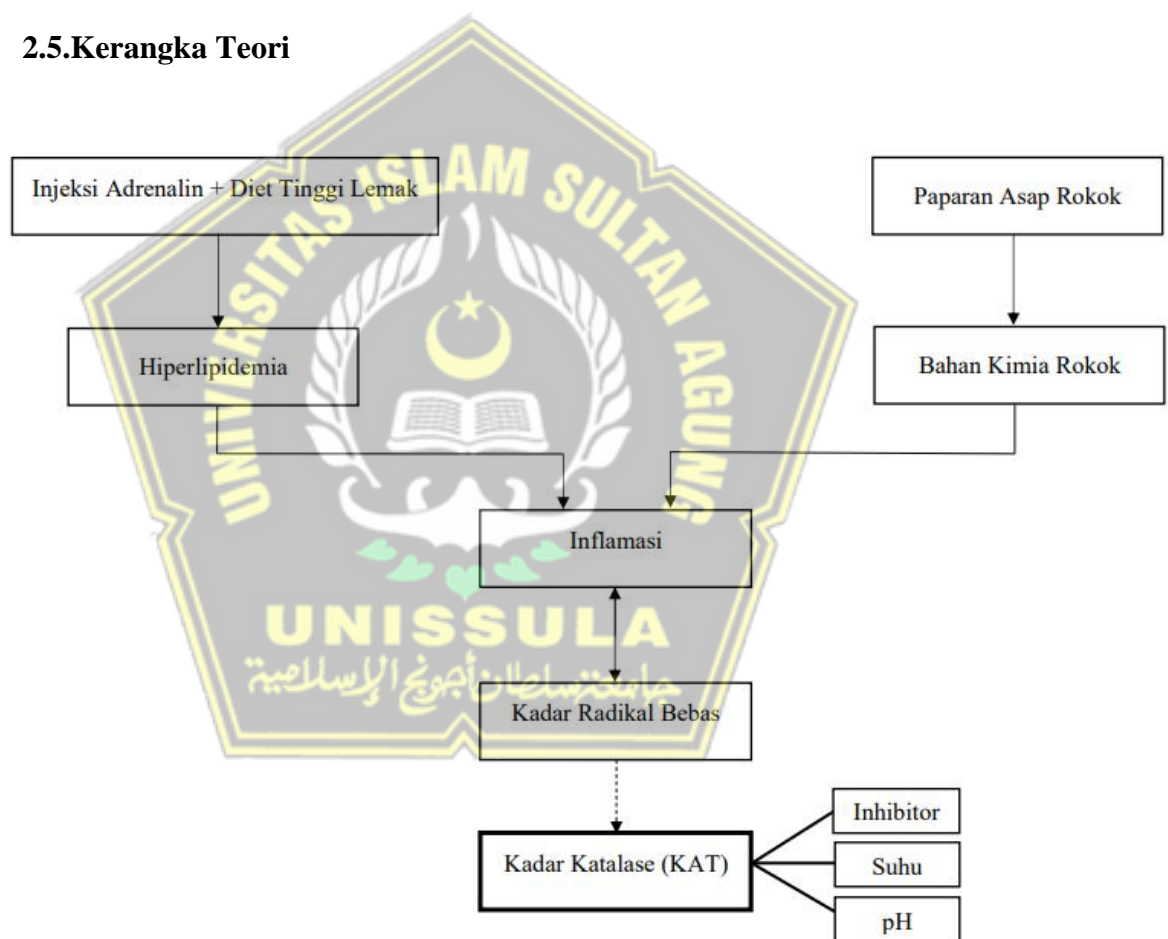
Berkembangnya lesi aterosklerosis dipicu oleh *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang masuk dan mengalami retensi pada daerah subendotel. LDL yang telah masuk ke dalam celah subendotel akan berinteraksi dengan matriks proteoglikan yang memicu terjadinya retensi dan modifikasi LDL menjadi toksik. Modifikasi LDL pada daerah subendotel selanjutnya akan menyebabkan aktivasi sel endotel dan inflamasi arteri. Partikel makromolekul LDL masuk ke celah sub endotel

tunika intima melalui taut antar sel endotel yang bocor atau vesikel yang terjadi akibat sel endotel yang rusak integritasnya atau mati (jejas endotel) dan terjadi akumulasi pada dinding arteri tunika intima dan media menjadi prekursor penyakit aterosklerosis (Zhang *et al.*, 2018).

Kondisi hiperlipidemia meningkatkan oksidasi LDL dan mengganggu fungsi endotel. Efek proaterosklerotik yang dimiliki kuning telur didapat dari kandungan kolesterol dan kolin yang sama-sama tinggi. Kadar kolesterol plasma darah yang tinggi merupakan pemicu jejas endotel. Selanjutnya, LDL akan teroksidasi. Proses oksidasi akan memicu terjadinya inflamasi pada daerah tunika intima arteri. Proses inflamasi merupakan faktor kunci untuk terjadinya progresivitas pada lesi aterosklerosis (Zhang *et al.*, 2018).



2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.3. Kerangka Teori Penelitian

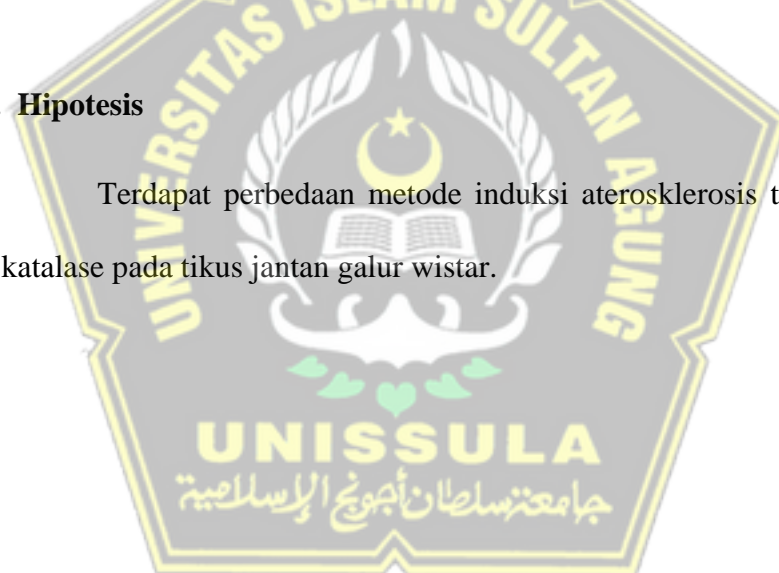
2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep Penelitian

2.7. Hipotesis

Terdapat perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar.





BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan pendekatan *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan tikus jantan galur wistar sebagai binatang percobaan objek penelitian.

3.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

Metode induksi aterosklerosis

3.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar Katalase

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Metode Induksi

a. Injeksi Adrenalin

Pemberian satu kali injeksi adrenalin pada hari pertama perlakuan secara intravena dengan dosis injeksi 0.006 mg/200 grBB (Maris *et al.*, 2016). Skala pengukuran injeksi adrenalin adalah skala nominal, karena terdapat kelompok perlakuan yang diberi dan tidak diberi perlakuan.

Satuan : mg/grBB

Skala : Nominal

b. Diet tinggi lemak

Pemberian 10 gr/200 grBB kuning telur bebek lewat sonde lambung setiap dua hari sekali (Pratiwi *et al.*, 2014). Skala pengukuran injeksi adrenalin adalah skala nominal, karena terdapat kelompok perlakuan yang diberi dan tidak diberi perlakuan.

Satuan : gr/grBB

Skala : Nominal

c. Paparan Asap Rokok

Pemaparan asap rokok empat batang rokok per jam, lima kali sehari, lima hari per minggu setiap senin sampai jumat.

Total batang rokok adalah 20 batang per hari, maka total selama 28 hari perlakuan adalah 400 batang rokok. Rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg per batang rokok dipasang pada pipa disambungkan ke *smoking pump* sehingga asap rokok masuk ke dalam *smoking chamber* dan dihirup oleh tikus yang ada di dalamnya

(Bocalini *et al.*, 2020). Skala pengukuran injeksi adrenalin adalah skala nominal, karena terdapat kelompok perlakuan yang diberi dan tidak diberi perlakuan.

Satuan : batang per hari

Skala : Nominal

3.2.2.2. Kadar Katalase

Kadar antioksidan dalam tikus yang diukur pada plasma dengan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 240 nm, dan dihitung menggunakan rumus dengan satuan U/mL (Agustin dan Lisdiana, 2021). Skala pengukuran kadar katalase adalah skala rasio, karena pada kadar katalase menyatakan kuantitas yang absolut dan hasil dari kadar katalase dapat digunakan untuk keperluan analisis dalam penelitian.

Satuan : U/mL

Skala : Rasio

3.3. Subjek uji

Penelitian ini menggunakan subjek uji tikus jantan galur wistar. Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer sebagai berikut (Krisnawati, 2017) :

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(4 - 1)(r - 1) \geq 15$$

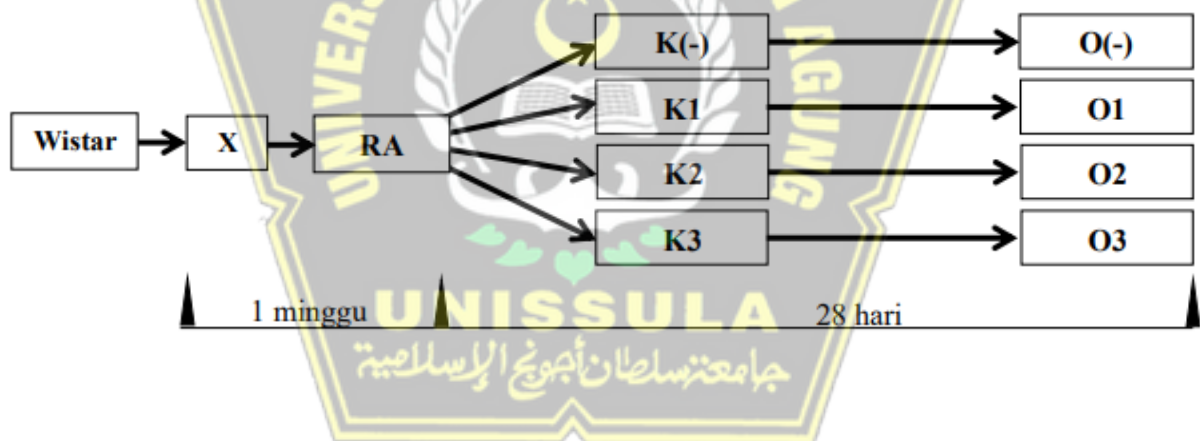
$$r \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

r = jumlah sampel

Penelitian ini menggunakan 6 ekor tikus pada setiap kelompok perlakuan sebagai antisipasi apabila terdapat drop out selama adaptasi dan perlakuan. Perlakuan pada penelitian ini dilakukan pada 4 kelompok, yaitu Kelompok kontrol (K(-)), Kelompok perlakuan 1 (K1), Kelompok perlakuan 2 (K2) dan Kelompok perlakuan 3 (K3). Pembagian subjek uji pada masing-masing kelompok dilakukan secara acak atau *random allocation*. Sehingga berdasarkan ketentuan tersebut didapatkan jumlah sampel keseluruhan adalah 24 sampel. Pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :



Gambar 3.1. Pembagian Kelompok Perlakuan

Keterangan :

X : Waktu adaptasi

RA : Random alokasi

K(-) : Kelompok kontrol tikus wistar yang hanya diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama 28 hari

- K1 : Kelompok perlakuan tikus wistar yang diinjeksi adrenalin dengan diet tinggi lemak pada hari pertama.
- K2 : Kelompok perlakuan tikus wistar yang terpapar asap rokok selama 28 hari.
- K3 : Kelompok perlakuan tikus wistar yang diinjeksi adrenalin dengan diet tinggi lemak dan paparan asap rokok selama 28 hari.
- O(-) : Output kelompok kontrol. Hasil pemeriksaan kadar CAT tikus wistar kelompok K(-).
- O1 : Output kelompok perlakuan 1. Hasil pemeriksaan kadar CAT tikus wistar K1.
- O2 : Output kelompok perlakuan 2. Hasil pemeriksaan kadar CAT tikus wistar K2.
- O3 : Output kelompok perlakuan 3. Hasil pemeriksaan kadar CAT tikus wistar K3.

3.3.1. Kriteria Inklusi

1. Tikus berumur 40 minggu
2. Berat badan tikus 180-200 gram
3. Tikus yang sehat, gerak aktif dan tidak terdapat kelainan anatomis pada tikus

3.3.2. Kriteria Drop Out

1. Tikus mengalami penurunan berat badan atau mati maka akan dikeluarkan dari penelitian

3.4. Instrumen dan Bahan

3.4.1 Instrumen

1. Alat-alat untuk pemeliharaan hewan terdiri atas kandang hewan, wadah pakan standar, wadah air minum dan timbangan hewan
2. Kotak berlubang, *disposable syringe* kapasitas 1 ml dengan jarum 25 gauge untuk injeksi adrenalin
3. Sonde lambung untuk pemberian diet kuning telur
4. Kandang tikus yang sudah dimodifikasi untuk pemberian paparan asap rokok
5. Alat untuk untuk bedah tikus terdiri atas papan wax, jarum, pinset, pinset chirurgis, gunting, scalpel, penyemprot alkohol
6. Spektrofotometer untuk mengukur kadar katalase

3.4.2 Bahan

1. Tikus jantan galur wistar umur 40 minggu, bobot 180-200 gram, sehat, aktivitas dan tingkah laku normal
2. Rokok kretek
3. Kuning telur bebek
4. Adrenalin
5. Pakan hewan standar AIN 93

6. Air minum *ad libitum*
7. Plasma darah tikus jantan galur wistar
8. Bahan untuk pengukuran kadar katalase terdiri atas lisat, larutan induk, larutan standar

3.5. Cara Penelitian

3.5.1 Pembagian Kelompok Penelitian

Tikus yang digunakan berjumlah 24 ekor, tikus yang masuk ke dalam kriteria inklusi dan telah melewati tahap penyesuaian selama 7 hari dibagi ke dalam 4 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan 1 terdiri dari 6 ekor tikus, kelompok perlakuan 2 terdiri dari 6 ekor tikus, kelompok perlakuan 3 terdiri dari 6 ekor tikus dan kelompok perlakuan 3 terdiri dari 6 ekor tikus.

3.5.2 Pembuatan Pakan Standar

Pemberian minuman dilakukan secara *ad libitum* dan pakan standar diberikan berdasarkan diet murni AIN-93M (Maiara *et al.*, 2020). Komposisi pakan standar AIN-93M seperti yang tercantum pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Formulasi pakan standar AIN-93M (Widayanti *et al.*, 2020)

BAHAN	(g/kg diet)
Cornstarch	465.992
Casein (>85% protein)	140.000
Dextrinized cornstarch (90-94% tetrasaccharides)	155.000
Sucrose	100.000

Soybean oil (no additives)	40.000
Fiber	50.000
Mineral mix (AIN-93G-MX)	35.000
Vitamin mix (AIN-93-VX)	10.000
L-cystine	1.800
Choline Bitartrate (41.1% choline)	2.500
Tert-Butylhydroquinone (TBHQ), mg	8.0

3.5.3 Injeksi Adrenalin

Injeksi inisial adrenalin secara intravena pada ekor tikus dilakukan dengan cara: 1) tikus dimasukkan ke dalam kotak berlubang dan ekor tikus ditarik keluar melalui lubang kotak, 2) ekor tikus dikompres dengan kapas yang dibasahi air hangat selama sekitar 5 menit agar terjadi vasodilatasi vena, 3) injeksi adrenalin dengan cara ujung jarum dimasukkan ke dalam vena dengan kemiringan 15 derajat dan lakukan aspirasi, bila dalam tabung syringe terdapat darah berarti ujung jarum sudah masuk ke dalam vena, injeksikan adrenalin dengan dosis 0.006 mg/200 grBB per kali dilakukan secara perlahan-lahan. Injeksi adrenalin dilakukan pada semua tikus pada hari pertama saja (Ahiskalioglu *et al.*, 2016; Maris *et al.*, 2016).

3.5.4 Pemberian Diet Kuning Telur

Pembuatan diet kuning telur dilakukan dengan cara; 1) kuning telur dipisahkan dari putih telur, 2) kuning telur dikocok secara perlahan untuk mendapatkan emulsinya, 3) menimbang

emulsi kuning telur. Pemberian diet kuning telur sebesar 10 gr/200 grBB per dua hari sekali yang diberikan secara oral melalui sonde lambung. Pemberian diet kuning telur diberikan pada semua tikus mulai hari kedua sampai dengan hari terakhir perlakuan, sebelum didekapitasi (Feriohadi *et al.*, 2022; Pratiwi *et al.*, 2014).

3.5.5 Paparan Asap Rokok

Tahapan paparan asap rokok dilakukan dengan terlebih dahulu mempersiapkan peralatan yang digunakan dalam paparan ini yaitu *smoking pump* yang dirangkai dengan *smoking chamber*. Proses paparan dilakukan setiap pagi menggunakan paparan asap rokok 20 batang perhari pada masing-masing kelompok perlakuan 2 (K2) dan kelompok perlakuan 3 (K3) selama 28 hari. Enam ekor tikus dari kelompok perlakuan 2 (K2) dan kelompok perlakuan 3 (K3) dimasukkan dalam *smoking chamber* melalui bagian atas, kemudian ditutup kembali. Rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg per batang rokok dipasang pada pipa yang dihubungkan dengan *smoking pump*. Rokok dibakar menggunakan korek api dan *pump* dinyalakan, sehingga asap rokok masuk ke dalam *smoking chamber* (Batubara *et al.*, 2013; Simatauw dan Unitly, 2019; Bocalini *et al.*, 2020).

3.5.6 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Seluruh sampel tikus wistar akan dikandangkan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Selama penelitian berlangsung sampel akan mendapatkan pakan dan air minum standar yang sama. Untuk adaptasi, sampel hanya akan diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama tujuh hari pertama (Maiara *et al.*, 2020). Pada hari selanjutnya sampel akan dibagi secara acak ke dalam empat kelompok sebagai berikut:

1. Kelompok Kontrol (K(-))

Kelompok kontrol negatif hanya akan diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama 28 hari.

2. Kelompok Perlakuan 1 (K1)

Kelompok perlakuan 1 akan diberikan pakan standar, air minum *ad libitum* dan injeksi adrenalin 0.006 mg/200 grBB dengan diet tinggi lemak 10 gr/200 grBB pada hari pertama.

3. Kelompok Perlakuan 2 (K2)

Kelompok perlakuan 2 akan diberikan pakan standar, air minum *ad libitum* dan paparan asap rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg per batang rokok selama 28 hari.

4. Kelompok Perlakuan 3 (K3)

Kelompok perlakuan 3 akan diberikan pakan standar, air minum *ad libitum*, injeksi adrenalin 0.006 mg/200 grBB dengan diet tinggi lemak 10 gr/200 grBB dan paparan asap rokok kretek

dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg per batang rokok selama 28 hari.

3.5.7 Prosedur Pengambilan Darah Tikus

Tikus difiksasi pada posisi supinasi, lalu di anestesi dengan ketamin intramuskular dosis 40 mg/kgBB. Tikus dilakukan pembedahan secara vertikal. Darah diambil melalui jantung lewat pungsi ventrikel kiri dengan spuit 5 cc, selanjutnya dimasukkan ke vacutainer yang sudah diberi EDTA. Darah dibiarkan mengalir ke tabung sejumlah 5 cc kemudian bolak balik secara perlahan Sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama lima belas menit di suhu ruangan pisahkan plasmanya, masukkan kedalam microtube. Kemudian disentrifugasi kembali sepuluh menit dengan kecepatan 6.000 rpm, selanjutnya ambil supernatannya. Plasma yang didapatkan selanjutnya dimasukkan ke microtube 1 cc lalu dilakukan penyimpanan di freezer dalam suhu -700C (Wulandari, 2016).

3.5.8 Pengukuran Kadar Katalase

Pengukuran kadar katalase plasma diawali dengan pembuatan lisat dengan 200 uL plasma ditambahkan 800 uL larutan 0,5% triton X-100, kemudian dibuat larutan induk dengan melarutkan 10 uL katalase dalam 50 mL buffer fosfat. Pengukuran sampel dibuat larutan standar dengan melarutkan 0,5 mL larutan induk dalam 9,5 mL buffer fosfat (1/20) dan 0,5 mL larutan induk dalam 19,5 mL buffer fosfat (1/40). Lisat 10 uL dicampurkan

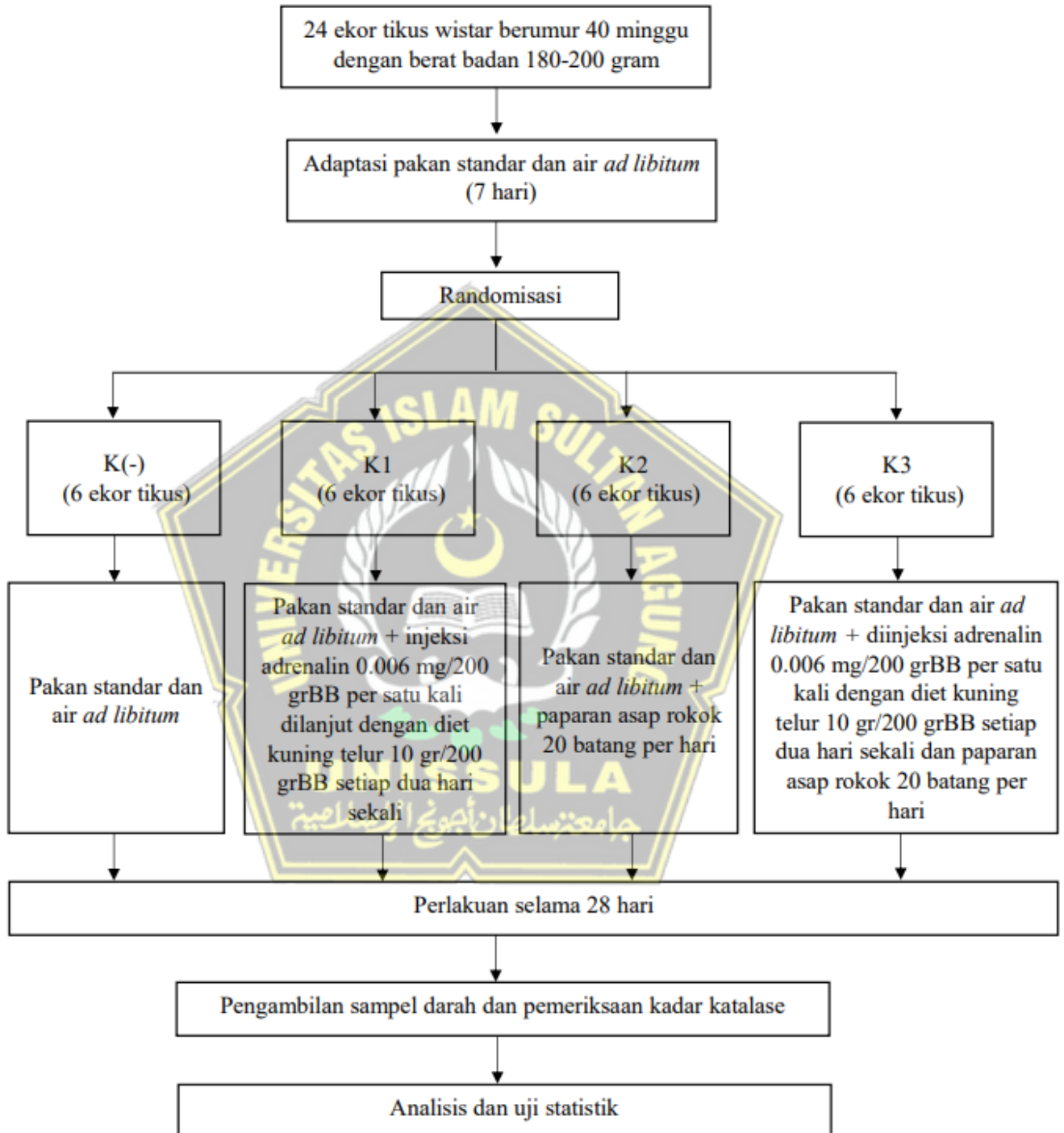
dengan 12,5 mL buffer fosfat. Reaksi mulai terjadi setelah ditambahkan 1 mL H₂O₂. Larutan divorteks perlahan dan penurunan absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 240 nm (Agustin dan Lisdiana, 2021).

Perhitungan katalase dengan satuan (U/mL) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$= \frac{(\Delta \text{ Absorbansi uji} - \Delta \text{ Absorbansi Blanko}) / \text{menit}}{(\text{Molaritas H}_2\text{O}_2) \times (\text{volume sampel yang diukur})} \times \text{faktor pengenceran}$$



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1 Tempat Penelitian

Pemeliharaan dan penelitian hewan coba dilakukan di Laboratorium PSPG Universitas Gadjah Mada.

3.7.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 9 Agustus 2021 – 9 September 2021 dan analisis data dilaksanakan pada 9 Agustus 2022 – 9 Oktober 2022.

3.8. Analisa Hasil

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program *software* pengolah data yaitu *Statistical Package for Social Science* (SPSS) Ver 16.0 Windows. Data yang didapatkan pada penelitian ini diuji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene Test*. Hasil analisis didapatkan bahwa data terdistribusi normal dan homogen dengan $p > 0,05$ maka dilanjutkan uji statistik parametrik *One Way Anova* untuk menganalisis perbedaan antar kelompok. Hasil didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk uji perbedaan antara 2 kelompok (Chaudhry *et al.*, 2020).

BAB IV

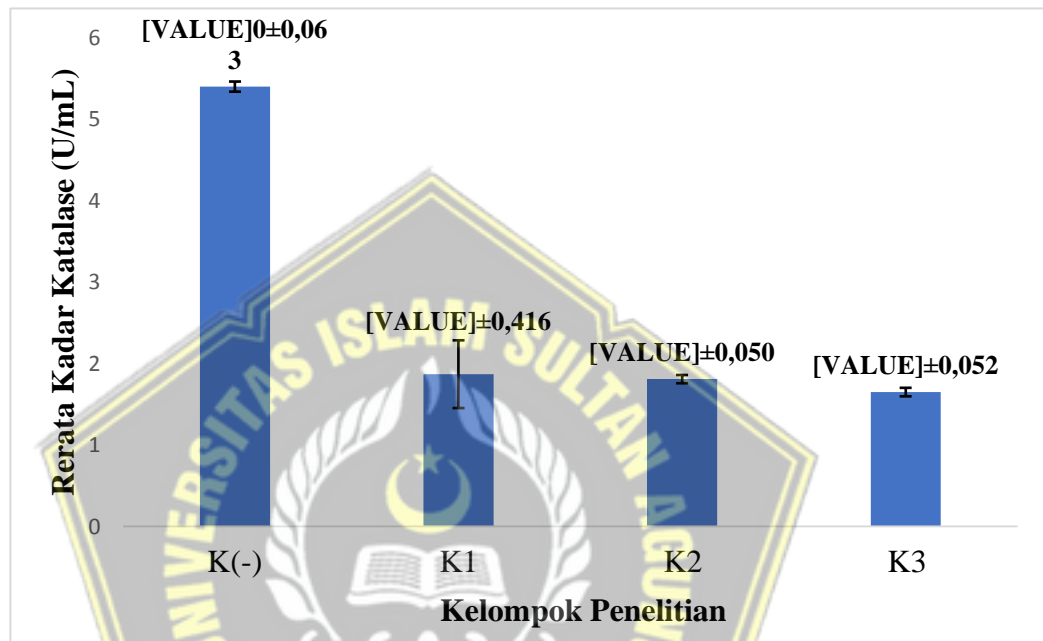
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adakah perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar. Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta selama 28 hari. Penelitian ini dilakukan menggunakan 24 ekor tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi dan tidak terdapat tikus yang di *drop out*, 24 ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K(-)), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2) dan kelompok perlakuan 3 (K3).

Kelompok kontrol (K(-)) dengan pemberian pakan standar dan air *ad libitum* tanpa diberikan perlakuan. Kelompok perlakuan 1 (K1) diberikan pakan standar, air *ad libitum* dan diberikan injeksi adrenalin 0.006 mg/200 grBB per satu kali dilanjut dengan diet kuning telur 10 gr/200 grBB setiap dua hari sekali. Kelompok perlakuan 2 (K2) diberikan pakan standar, air *ad libitum* dan diberikan paparan asap rokok 20 batang per hari. Kelompok perlakuan 3 (K3) diberikan pakan standar, air *ad libitum* dan diberikan injeksi adrenalin, diet kuning telur dan paparan asap rokok. Perlakuan diberikan pada seluruh kelompok selama 28 hari. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*.

Kadar katalase tikus jantan galur wistar diukur menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 240 nm. Perhitungan katalase dengan satuan (U/mL) menggunakan rumus yang sudah ditentukan. Hasil pemeriksaan kadar katalase ditunjukkan pada Gambar 4.1



Gambar 4. 1. Grafik rerata kadar katalase antar kelompok perlakuan

Keterangan Gambar :

1. Kelompok Kontrol (K(-)) = pakan standar dan air
2. Kelompok Perlakuan 1 (K1) = injeksi adrenalin + diet kuning telur
3. Kelompok Perlakuan 2 (K2) = paparan asap rokok
4. Kelompok Perlakuan 3 (K3) = injeksi adrenalin + diet kuning telur dan paparan asap rokok

Gambar 4.1 diatas menunjukkan rerata persentase kadar katalase pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol (K(-)) memiliki rerata kadar katalase sebesar 5,40 U/mL, kelompok perlakuan 1 (K1) memiliki rerata kadar katalase sebesar 1,87 U/mL karena injeksi adrenalin disertai diet kuning telur, kelompok perlakuan 2 (K2) memiliki rerata kadar katalase sebesar 1,81 U/mL karena paparan asap rokok 20 batang sehari,

kelompok perlakuan 3 (K3) memiliki rerata kadar katalase yang lebih berarti akibat pemberian injeksi adrenalin disertai diet kuning telur dan paparan asap rokok sehingga terdapat perbedaan rerata kadar katalase dari 1,81 U/mL menjadi 1,65 U/mL.

Tabel 4. 1. Normalitas Sebaran Data, Homogenitas dan Hasil *One Way Anova* Kadar Katalase

Kelompok	<i>Shapiro Wilk</i>	<i>Levene</i>	<i>One Way Anova</i>
Kelompok (-)	0,787*		
Kelompok 1	0,813*		
Kelompok 2	0,895*	0,854**	0,000***
a Kelompok 3	0,960*		

b
Keterangan : * = distribusi data normal, ** = varian data homogen, *** =
e perbedaan bermakna

1 4.1. menunjukkan bahwa hasil uji sebaran data dengan *Shapiro Wilk Test* menunjukkan kelompok kontrol (K(-)), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), kelompok perlakuan 3 (K3) memiliki data yang normal dengan nilai $p > 0,05$. Hasil uji homogenitas dengan *Levene Test* didapatkan hasil nilai $p = 0.854$ ($p > 0,05$) yang berarti bahwa kelompok kontrol (K(-)), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), kelompok perlakuan 3 (K3) memiliki varian data yang homogen. Hasil uji *One Way Anova* didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa kelompok kontrol (K(-)), kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), kelompok perlakuan 3 (K3) dalam penelitian memiliki perbedaan yang signifikan.

Tabel 4. 2. Hasil Uji *Post Hoc* Bonferroni terhadap Kadar Katalase Keempat Kelompok

Kelompok	K(-)	K1	K2	K3
K(-)	-	0,000*	0,000*	0,000*
K1	0,000*	-	0,332	0,000*
K2	0,000*	0,332	-	0,000*
K3	0,000*	0,000*	0,000*	-

Keterangan : * = perbedaan bermakna

Tabel 4.2 merupakan lanjutan dari uji parametrik *One Way Anova test* dengan menggunakan uji *Post Hoc*. Dari hasil uji *Post Hoc* seluruh kelompok didapatkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) kecuali pada kelompok perlakuan 1 (K1) dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 (K2) dengan hasil nilai $p = 0,332$ ($p > 0,05$).

Hasil uji *Post Hoc* tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara seluruh kelompok yaitu kelompok kontrol (K(-)) dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2) dan kelompok perlakuan 3 (K3), kecuali pada kelompok perlakuan 1 (K1) dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 (K2) tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

4.2. Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan rerata kadar katalase dengan metode induksi injeksi adrenalin disertai diet kuning telur dan paparan asap rokok kepada hewan uji coba selama 28 hari perlakuan. Hasil data kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak didapatkan

perbedaan rerata kadar katalase yang bermakna. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Radaković *et al.* (2018) bahwa pemberian adrenalin disertai diet tinggi lemak pada tikus menyebabkan gangguan keseimbangan antioksidan didalam tubuh. Anion superoksida yang dihasilkan dalam metabolisme oksidatif akan diubah menjadi radikal hidroksil yang dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel, sehingga sel mengalami kerusakan. Keadaan ini dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan endogen salah satunya katalase yang akan mengakibatkan terjadinya stres oksidatif.

Hasil data kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok perlakuan paparan asap rokok didapatkan perbedaan rerata kadar katalase yang bermakna. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Aspera-Werz *et al.* (2018) menjelaskan bahwa bahan kimia yang terdapat di dalam rokok secara negatif mempengaruhi fungsi antioksidan endogen dengan kata lain bahwa induksi asap rokok berpengaruh terhadap kadar katalase. Penelitian sebelumnya juga didapatkan hasil induksi aterosklerosis dengan paparan asap rokok didapatkan perbedaan kadar katalase yang bermakna. Kadar katalase 13,92 U/mL pada seseorang yang merokok 1-5 batang/hari selama <5 tahun, kadar katalase 1,92 U/mL pada seseorang yang merokok 15-20 batang/hari 5-10 tahun dan kadar katalase 1,55 U/mL pada seseorang yang merokok 15-20 batang/hari selama >10 tahun (Joshi *et al.*, 2020).

Hasil data kelompok injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dibandingkan dengan kelompok paparan asap rokok tidak didapatkan perbedaan kadar katalase yang bermakna. Rerata kadar katalase pada kelompok tersebut nilainya tidak jauh berbeda, karena baik pemberian dari injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok saling berkaitan, yaitu apabila terdapat peningkatan oksigen reaktif atau ROS menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid sehingga dapat terjadi kerusakan sel dan terjadi penghambatan biosintesis katalase di hati secara bermakna yang mengakibatkan katalase berdifusi ke dalam darah (Agustin dan Lisdiana, 2021).

Hasil data kelompok perlakuan kombinasi antara injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok didapatkan perbedaan rerata kadar katalase yang paling bermakna dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi perlakuan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak atau paparan asap rokok saja. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Amanda *et al.* (2022) menjelaskan bahwa induksi kombinasi diet tinggi lemak, injeksi adrenalin dan paparan asap rokok dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Penelitian Fouda *et al.* (2021) menjelaskan bahwa induksi kombinasi diet tinggi lemak dan paparan asap rokok dapat mengakibatkan peningkatan stres oksidatif berkali-kali lipat karena peningkatan paparan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berpengaruh terhadap kadar katalase.

Rokok mengandung banyak bahan yang sangat berbahaya karena reaktivitas dan toksisitasnya yang tinggi. Merokok juga berkontribusi terhadap stres oksidatif tambahan dengan pelepasan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dari makrofag, granulosit, neutrofil dan eosinofil yang bermigrasi dari darah ke parenkim paru. Selain peningkatan beban oksidan dan peradangan pada saluran pernapasan dan paru-paru, dalam tubuh perokok mengalami peningkatan stres oksidatif dan peradangan sistemik. Toksik yang ditimbulkan akibat adanya nikotin ini akan menghasilkan suatu radikal bebas, peningkatan radikal bebas pada tikus yang terpapar rokok menyebabkan menurunnya aktivitas katalase, karena H_2O_2 akan terurai menjadi OH^- (Radikal Hidroksil) yang sangat toksik, dapat merusak lemak, protein dan DNA (Astori *et al.*, 2022).

Kondisi diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menangkalnya, serta terjadi peroksidasi lipid yang berpengaruh terhadap kadar katalase (Sunaryo & Rahmania, 2015). Hal ini dikarenakan pelepasan ROS akan merusak sel membran lipid melalui oksidasi lipid yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sel, gangguan fungsi mitokondria dan enzim serta mempengaruhi modifikasi protein dan asam nukleat. Tidak hanya itu, peningkatan ROS secara aktif akan memicu terbentuknya lapisan lemak pada jaringan endotelium di pembuluh darah yang menjadikan terbentuknya plak aterosklerosis (Berawi dan Agverianti, 2017).

Pembentukan aterosklerosis sangat dipengaruhi oleh stres oksidatif yang disebabkan oleh produksi yang berlebihan terhadap *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS akan mengubah LDL menjadi reaktif Ox-LDL di lapisan tunika intima pada pembuluh darah arteri, sehingga oksidasi lipoprotein akan memberikan dampak kerusakan pada sel endotelial (Kirichenko *et al.*, 2016). Kerusakan sel endotel akan menghasilkan sitokin proinflamasi, oksidasi lipid, ekspresi molekul adhesi, migrasi dan proliferasi pada sel otot polos dan pembentukan sel foam (Kishimoto *et al.*, 2016). Monosit dan sel T limfosit akan terakumulasi di lapisan intima yang dimediasi oleh molekul adhesi. Sel monosit akan mengfagosit Ox-LDL dan menjadi sel foam dan akan terakumulasi pada dinding arteri sehingga terbentuk lapisan garis-garis lemak. Kekakuan pembuluh darah pada aterosklerosis disebabkan akibat adanya migrasi pada sel otot polos dari tunika media menuju tunika intima dan menginduksi pembentukan matrix dalam pembentukan ateroma (Ouweneel dan Van Eck, 2016).

Hasil penelitian ini didapatkan seluruh kelompok perlakuan mengalami perbedaan rerata kadar katalase yang bermakna kecuali pada kelompok perlakuan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan kelompok perlakuan paparan asap rokok tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Metode induksi pada kelompok perlakuan memiliki potensi untuk memengaruhi kadar katalase. Hal ini terlihat pada kelompok perlakuan kombinasi antara injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak

dan paparan asap rokok yang diberikan induksi radikal bebas paling banyak didapatkan perbedaan rerata kadar katalase yang paling bermakna. Kebermaknaan pada penelitian ini tetap memiliki beberapa keterbatasan seperti pengukuran kadar katalase hanya pada sampel darah sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai hal tersebut.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Terdapat perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar katalase pada tikus jantan galur wistar.
- 5.1.2. Rerata kadar katalase tikus jantan galur wistar pada kelompok kontrol (K(-)) yang diberikan pakan standar dan air *ad libitum* selama 28 hari adalah sebesar 5,40 U/mL.
- 5.1.3. Rerata kadar katalase tikus jantan galur wistar pada kelompok 1 (K1) yang diberikan induksi aterosklerosis dengan metode injeksi adrenalin disertai diet kuning telur selama 28 hari sebesar 1,87 U/mL.
- 5.1.4. Rerata kadar katalase tikus jantan galur wistar pada kelompok 2 (K2) yang diberikan induksi aterosklerosis dengan metode paparan asap rokok selama 28 hari sebesar 1,81 U/mL.
- 5.1.5. Rerata kadar katalase tikus jantan galur wistar pada kelompok 3 (K3) yang diberikan induksi aterosklerosis dengan metode injeksi adrenalin disertai diet kuning telur dan paparan asap rokok selama 28 hari sebesar 1,65 U/mL.

5.2. Saran

- 5.2.1. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan beberapa perlakuan yang lebih bervariasi dengan tingkat kadar yang berbeda sehingga mendapatkan hasil yang lebih akurat untuk mengamati perubahan

kadar katalase akibat metode induksi aterosklerosis pada tikus jantan galur wistar.

- 5.2.2. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar katalase di tingkat sel pada tikus jantan galur wistar.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, M. P., & Lisdiana, L. (2021). Pengaruh Paparan Rokok Elektrik terhadap kadar GPx dan Katalase pada darah Tikus. *Life Science*, 10(1), 65–75. <https://doi.org/10.15294/lifesci.v10i1.47174>
- Ahiskalioglu, E. O., Aydin, P., Ahiskalioglu, A., Suleyman, B., & Kuyruklyildiz, U. (2016). The effects of ketamine and thiopental used alone or in combination on the brain , heart , and bronchial tissues of rats. *Faculty of Medicine Department of Anesthesiology and Reanimation Erzincan University*.
- Ali, S. S., Ayuob, N. N., Al Ansary, A. K., & Soluman, E. R. (2012). Antioxidants protect against increased risk of atherosclerosis induced by exposure to cigarette smoke: Histological and biochemical study. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(3), 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.03.002>
- Amanda, Q., Widyastiti, N. S., Prajoko, Y. W., Maharani, N., & Bahrudin, U. (2022). *Cigarette Smoke Exposure , but Not High Fat Diet , is able to Induce Atherosclerosis in Wild-Type Rats*.
- Anniestasya Z. Simatauw, A. J. A. U. (2019). Gambaran Siklus Estrus Tikus Rattus Norvegicus Terpapar Asap Rokok Setelah Terapi Ekstrak Etanol Rumpun Kebar (Biophytum petersianum Klotzsch). *Rumphius Pattimura Biological Journal*, 1(1), 1–7.
- Aspera-Werz, R. H., Ehnert, S., Heid, D., Zhu, S., Chen, T., Braun, B., Sreekumar, V., Arnscheidt, C., & Nussler, A. K. (2018). Nicotine and Cotinine Inhibit Catalase and Glutathione Reductase Activity Contributing to the Impaired Osteogenesis of SCP-1 Cells Exposed to Cigarette Smoke. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 3172480. <https://doi.org/10.1155/2018/3172480>
- Astori, E., Garavaglia, M. L., Colombo, G., Landoni, L., Portinaro, N. M., Milzani, A., & Dalle-Donne, I. (2022). Antioxidants in smokers. *Nutrition Research Reviews*, 35(1), 70–97. <https://doi.org/10.1017/S0954422421000093>
- Bakhtiari, S., Azimi, S., Mehdipour, M., Amini, S., Elmi, Z., & Namazi, Z. (2015). Effect of Cigarette Smoke on Salivary Total Antioxidant Capacity. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 9(4), 281–284. <https://doi.org/10.15171/joddd.2015.049>
- Batubara, I. V. D., Wantouw, B., & Tendean, L. (2013). Pengaruh Paparan Asap Rokok Kretek Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit Jantan (Mus Musculus). *Jurnal e-Biomedik*, 1(1), 330–337.

<https://doi.org/10.35790/ebm.1.1.2013.4367>

- Berawi, K. N., & Agverianti, T. (2017). Efek Aktivitas Fisik pada Proses Pembentukan Radikal Bebas sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis Physical Activity Effects on Free Radicals Development as Risk Factor of Atherosclerosis. *Majority*, 6(2), 85–90.
- Bocalini, D. S., Da Silva Luiz, R., Silva, K. A. S., Serra, A. J., Avila, R. A., Leopoldo, A. S., Lima-Leopoldo, A. P., da Cunha, M. R. H., Tucci, P. J. F., & Dos Santos, L. (2020). Short-term cigarette smoking in rats impairs physical capacity and induces cardiac remodeling. *BioMed Research International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2589892>
- Chaudhry, F., Kawai, H., Johnson, K. W., Narula, N., Shekhar, A., Chaudhry, F., Nakahara, T., Tanimoto, T., Kim, D., Adapoe, M. K. M. Y., Blankenberg, F. G., Mattis, J. A., Pak, K. Y., Levy, P. D., Ozaki, Y., Arbustini, E., Strauss, H. W., Petrov, A., Fuster, V., & Narula, J. (2020). Molecular Imaging of Apoptosis in Atherosclerosis by Targeting Cell Membrane Phospholipid Asymmetry. *Journal of the American College of Cardiology*, 76(16), 1862–1874. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.08.047>
- Dinkes Semarang. (2020). Semarang City Health Profile 2019. Accessed on October 30, 2020. *Dinkes.Semarang.Go.Id*, 1–104. http://www.depkes.go.id/resources/download/profil/PROFIL_KAB_KOTA_2015/3374_Jateng_Kota_Semarang_2015.pdf
- Elawati, N. E., Pujiyanto, S., & Kusdiyantini, E. (2018). Karakteristik dan Sifat Kinetika Enzim Kitinase Asal Jamur Entomopatogen *Beauveria bassiana*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i1.2587>
- Feriohadi, A., Ayudia, E. I., Natasha, N., & Shafira, A. (2022). Pengaruh Pemberian Jus Buah Terong Pirus (*Cyphomandra betacea* cav Sendtn) Terhadap Kadar HDL Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak. *JOMS*, 2(1).
- Getz, G. S., & Reardon, C. A. (2015). Use of mouse models in atherosclerosis research. *Methods in Molecular Biology*, 1339, 1–16. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2929-0_1
- Golforoush, P., Yellon, D. M., & Davidson, S. M. (2020). Mouse models of atherosclerosis and their suitability for the study of myocardial infarction. *Basic Research in Cardiology*, 115(6), 1–24. <https://doi.org/10.1007/s00395-020-00829-5>
- Haerani, A., Chaerunisa, A., Yohana, & Subarnas, A. (2018). Artikel Tinjauan: Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka, Universitas Padjadjaran, Bandung*, 16(2), 135–151.

- Josephine, Candra, A., & Rahadiyanti, A. (2020). Efek Ekstrak Tomat (*Solanum Lycopersicum*) Terhadap Enzim Katalase Hepar Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Terpapar Minyak Jelantah. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*, 8(1), 1–11.
- Joshi, B., Singh, S., Sharma, P., Mohapatra, T., & Kumar, P. (2020). Effect of Cigarette Smoking on Selected Antioxidant Enzymes and Oxidative Stress Biomarkers. *Journal Of Clinical And Diagnostic Research*, 14. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2020/45948.14138>
- Kirichenko, T. V., Sobenin, I. A., Nikolic, D., Rizzo, M., & Orekhov, A. N. (2016). Anti-cytokine therapy for prevention of atherosclerosis. *Phytomedicine*, 23(11), 1198–1210. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.12.002>
- Kishimoto, Y., Yoshida, H., & Kondo, K. (2016). Potential anti-atherosclerotic properties of astaxanthin. *Marine Drugs*, 14(2), 1–13. <https://doi.org/10.3390/md14020035>
- Kowara, M., & Cudnoch-Jedrzejewska, A. (2021). Pathophysiology of atherosclerotic plaque development-contemporary experience and new directions in research. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073513>
- Krisnawati, D. I. (2017). Efek Hipoglikemia Pemberian Ekstrak Daun Johar Pada Tikus (*Mus Musculus*) Yang Di Induksi Dengan Streptozotosin. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(1), 59–63. <https://doi.org/10.32831/jik.v1i1.16>
- Kusuma, Anjar Mahardian Asarina, Y., Rahmawati, Y. I., & Susanti. (2016). Efek Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dan Ubi Ungu (*Ipomoea batatas* L) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol dan Trigliserida Darah pada Tikus Jantan. 6(2), 108–116.
- Maiara, C., Cardozo, L., Inada, A. C., Andrea, C., Cardoso, L., Fernando, W., Fili, D. O., Farias, B. B. De, Hiane, P. A., & C, K. De. (2020). Extract of *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) Leaves and Two Isolated Substances from the Extract on Metabolic Parameters of Mice Fed a High-Fat Diet.
- Maris, F. N., Normasari, R., & Riyanti, R. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Tauge (*Vigna radiata* (L)) terhadap Kadar Serum Trigliserida pada Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Kuning Telur. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4(1), 141–145.
- Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A., & Calhau, C. (2016). High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*, 5(1), 11–21. <https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1061723>
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of catalase in oxidative

- stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.
- OECD. (2018). OECD Guidelines On The Testing Of Chemicals No.412: 28-day (subacute) inhalation toxicity study. *Oced/Ocde*, 1–23.
- Ouweneel, A. B., & Van Eck, M. (2016). Lipoproteins as modulators of atherothrombosis: From endothelial function to primary and secondary coagulation. *Vascular Pharmacology*, 82, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.10.009>
- Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, April, 1–54.
- Poznyak, A. V., Chegodaev, A. V. G. V. A. O. Y. S., Wu, W.-K., & Orekhov, A. N. (2020). Oxidative Stress and Antioxidants in Atherosclerosis Development and Treatment. *biology*, 1–12. doi:10.3390/biology9030060
- Prameswari, N. P. (2020). Pemanfaatan Senyawa Antiaterogenik Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Spp.*) Dalam Pencegahan Aterosklerosis. *JIMKI: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*, 7(2), 60–66. <https://doi.org/10.53366/jimki.v7i2.65>
- Pratiwi, A., Mustofa, S., & Susantiningsih, T. (2014). *The Effect Of 95 % Ethanolic Extract Of Long Pepper (Piper retrofractum Vahl .) On HDL Levels In Male Sprague Dawley Rats Administrated By High Fat Diet*. 1–8.
- Radaković, M., Borozan, S., Djelić, N., Ivanović, S., Miladinović, D. Ć., Ristanić, M., Spremo-Potparević, B., & Stanimirović, Z. (2018). Nitroso-oxidative stress, acute phase response, and cytogenetic damage in wistar rats treated with adrenaline. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1805354>
- Saleh, M., & Ambrose, J. A. (2018). Understanding myocardial infarction [version 1; referees: 2 approved]. *F1000Research*, 7(0), 1–8. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15096.1>
- Santosa, W. N., & Baharuddin, B. (2020). Penyakit Jantung Koroner dan Antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(2), 98–103. <https://doi.org/10.24123/kesdok.v1i2.2566>
- Sharma, I., & Ahmad, P. (2014). Catalase: A Versatile Antioxidant in Plants. In *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling* (Nomor January 2020). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00004-6>
- Sunaryo, H., & Rahmania, R. A. (2015). Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak jahe gajah (*Zingiber officinale rosc.*) dan zink berdasarkan pengukuran MDA, SOD, dan katalase pada mencit hiperkolesterolemia dan hiperglikemia

dengan penginduksi streptozotosin antioxidant activity of combination. *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia*, 13(2), 187–193.

Sutejo, I. R., Rasyada, I., & Yuniar, A. (2017). Antihiperlipidemi and Atheroprotective activity of Kepuh (*Sterculia foetida*) Leaves Ethanolic Extract on High-Fat-Diet Rat Models. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 3(1), 44–49.

Vinay Kumar et al. (2017). *Robbins Basic Pathology* (10 ed.). Elsevier - Health Sciences Division.

Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.

WHO. (2021). *Cardiovascular diseases (CVDs)*. <https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2005.05.035>

Widayanti, E., Safitri, A. H., & Wahyuningsih, H. (2020). Efek Diet Tinggi Karbohidrat, Diet Zone dan Restriksi Kalori Terhadap Interleukin-1 , Apoptosis dan Sel. *Universitas Islam Sultan Agung*. 0601059001

Wulandari, E. (2016). Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kadar MDA dan SOD Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Universitar Negeri Semarang, Semarang*, 6-14,38.

Zhang, X., Sessa, W. C., & Fernández-Hernando, C. (2018). Endothelial Transcytosis of Lipoproteins in Atherosclerosis. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5(September), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00130>

