

**PERBEDAAN METODE INDUKSI ATEROSKLEROSIS TERHADAP  
KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE***

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

**Skripsi**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Diajukan oleh:

**Gita Imania Cahyani**

**30101900088**

FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG

2023

**SKRIPSI**

**PERBEDAAN METODE INDUKSI ATEROSKLEROSIS TERHADAP  
KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE***

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

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

**Gita Imania Cahyani**

**30101900088**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal, 31 Januari 2023

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I,

Anggota Tim Penguji

  
dr. Kamilia Dwi Utami, M.Biomed

  
dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc

Pembimbing II,

  
dr. Conita Yuniarifa, M.Biomed

  
dr. Naili Sofi Riasari, Sp.N

Semarang, 9 Februari 2023

Fakultas kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Bekon,



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

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Gita Imania Cahyani

NIM : 30101900088

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“Perbedaan Metode Induksi Aterosklerosis Terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Putih 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 skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 16 Desember 2022



**Gita Imania Cahyani**

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

*Alhamdulillahirobbil'alamin*, puji syukur kehadiran Allah SWT atas anugerah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Perbedaan Metode Induksi Aterosklerosis Terhadap Kadar *Superoxide Dismutase* : Studi Eksperimental 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.

Terselesainya 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 memberikan bimbingan, saran, dan dorongan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. dr. Ulfah Dian, M.Sc dan dr. Naili Sofi, Sp.N selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam perbaikan serta menyempurnakan skripsi ini kepada penulis.

4. 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.
5. Kedua orang tua yang saya sayangi dan saya cintai Bapak Eka Purjiyanta, Ibu Marfu'ah, serta keluarga besar yang telah memberikan doa, semangat, serta dukungan moral, dan spiritual selama penyusunan skripsi ini.
6. Serta pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

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, 16 Desember 2022  
Penulis,

**Gita Imania Cahyani**

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus .....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis .....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. <i>Superoxide Dismutase</i> .....	6
2.1.1. Definisi <i>Superoxide Dismutase</i> .....	6
2.1.2. Faktor yang Mempengaruhi Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> .....	8
2.2. Aterosklerosis.....	10
2.2.1. Definisi Aterosklerosis .....	10
2.2.2. Faktor Risiko Aterosklerosis .....	10
2.2.3. Klasifikasi Lesi Aterosklerosis .....	13
2.2.4. Patogenesis Aterosklerosis .....	14
2.3. Metode Induksi Aterosklerosis.....	17
2.3.1. Paparan Asap Rokok.....	17

2.3.1.1	Klasifikasi dan Kandungan Rokok .....	18
2.3.2.	Injeksi Adrenalin disertai Diet Tinggi Lemak .....	20
2.3.2.1	Kandungan Kuning Telur .....	21
2.4.	Hubungan Merokok terhadap Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> .....	23
2.5.	Hubungan Diet Tinggi Lemak Disertai Injeksi Adrenalin terhadap Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> .....	25
2.6.	Hubungan Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> Terhadap Aterosklerosis .....	27
2.7.	Kerangka Teori.....	312
2.8.	Kerangka Konsep .....	31
2.9.	Hipotesis.....	32
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	<b>33</b>
3.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....	33
3.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	34
3.2.1.	Variabel Penelitian.....	34
3.2.1.1	Variabel Bebas .....	34
3.2.1.2	Variabel Tergantung.....	34
3.2.2.	Definisi Operasional .....	34
3.2.2.1	Metode Induksi Aterosklerosis .....	34
3.2.2.2	Kadar SOD.....	36
3.3.	Subjek Uji.....	36
3.3.1.	Kriteria Inklusi.....	37
3.3.2.	Kriteria Eksklusi .....	38
3.3.3.	Kriteria Drop Out.....	38
3.4.	Instrumen dan Bahan.....	38
3.4.1.	Instrumen .....	38
3.4.2.	Bahan .....	39
3.5.	Cara penelitian.....	39
3.5.1.	Pembagian Kelompok Penelitian.....	39
3.5.2.	Pembuatan Pakan Standar.....	40
3.5.3.	Injeksi Adrenalin.....	40
3.5.4.	Pemberian Diet Tinggi Lemak.....	41

3.5.5. Paparan Asap Rokok.....	41
3.5.6. Perlakuan Pada Hewan Coba.....	42
3.5.7. Prosedur Pengambilan Darah Vena Tikus .....	43
3.5.8. Pengukuran Kadar SOD.....	44
3.6. Alur Penelitian.....	46
3.7. Tempat dan waktu penelitian .....	47
3.7.1. Tempat Penelitian .....	47
3.7.2. Waktu Penelitian.....	47
3.8. Analisis Hasil .....	47
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>48</b>
4.1. Hasil Penelitian .....	48
4.2. Pembahasan.....	52
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>58</b>
5.1. Kesimpulan.....	58
5.2. Saran.....	59
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>60</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>67</b>



## DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
Apo-CII	: Apolipoprotein C-II
CO <sub>2</sub>	: Karbon Dioksida
EC-SOD	: <i>Extracellular Superoxide Dismutase</i>
EDRF-NO	: <i>Endothelium Derivate Relaxing Factor Nitric Oxide</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
ET-1	: Endothelin-1
H <sub>2</sub> O	: <i>Hydrogen hydroxide</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogen Peroksida
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HOC1	: Asam Hipoklorit
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: Lipoprotein Lipase
M-CSF	: <i>Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
MES	: Matrik Ekstraseluler
NO	: <i>Nitric Oxide</i>
O <sub>2</sub>	: Oksigen
OH	: Hidroksida
ONOO	: Peroksinitrit
Ox-LDL	: <i>Low Density Lipoprotein Oxidation</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PGI <sub>2</sub>	: <i>Prostacyclin (Prostaglandin I<sub>2</sub>)</i>
PJK	: Penyakit Jantung Koroner
ROO	: Peroksil
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
SPSS	: <i>Statistical Product and Service Solutions</i>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Struktur Dasar Plak Ateromatosa.....	10
Gambar 2.2. Klasifikasi Tipe Aterosklerosis .....	14
Gambar 2.3. Perkembangan Plak Aterosklerosis .....	16
Gambar 2.4. Kerangka Teori.....	31
Gambar 2.5. Kerangka Konsep .....	31
Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian .....	33
Gambar 3.2. Alur Penelitian.....	46
Gambar 4.1. Diagram Batang Data Rerata Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> (%).....	49



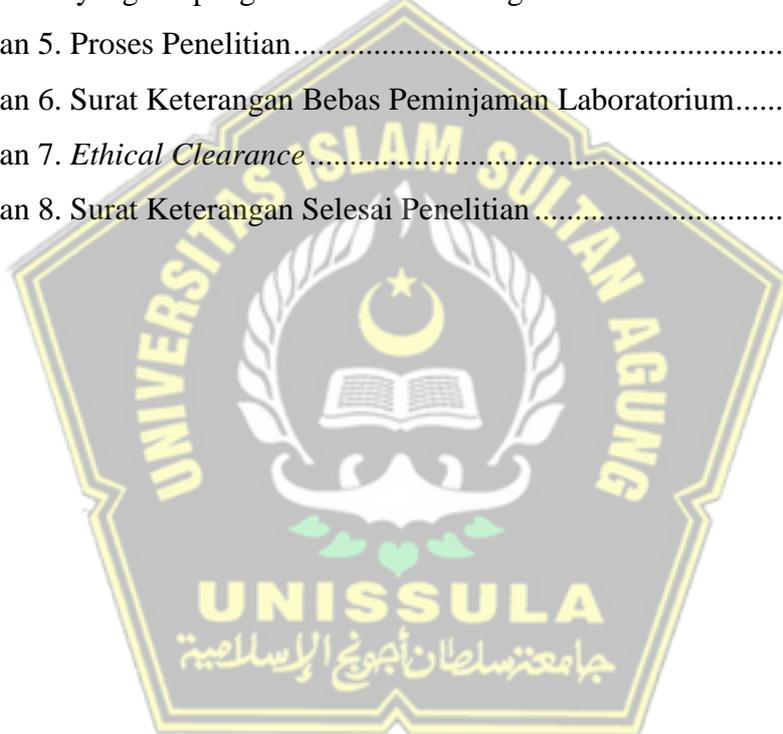
## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Komposisi putih telur, kuning telur dan cangkang untuk .....	22
Tabel 2.2. Kandungan gizi telur .....	23
Tabel 3.1. Formulasi Pakan Standar AIN-93M . .....	40
Tabel 4.1. Data Rerata Pengukuran Berat Badan Hewan Uji ( <i>Rattus Norvegicus</i> )	48
Tabel 4.2. Hasil Analisis Uji Normalitas, Homogenitas, dan <i>One Way Anova</i> ....	50
Tabel 4.3. Hasil analisis Uji <i>Post Hoc LSD</i> .....	51



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Penghitungan Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) .....	67
Lampiran 2. Hasil Penghitungan Rerata Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> dan Standar Deviasi dengan Uji Deskriptif .....	68
Lampiran 3. Hasil Analisis Normalitas Distribusi Data dan Homogenitas Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> dengan <i>Saphiro-Wilk</i> dan <i>Levene Test</i> .....	69
Lampiran 4. Hasil Analisis Antar Kelompok Kadar <i>Superoxide Dismutase</i> (SOD) yang Berpengaruh Bermakna dengan <i>Pos Hoc Test</i> .....	70
Lampiran 5. Proses Penelitian.....	71
Lampiran 6. Surat Keterangan Bebas Peminjaman Laboratorium.....	72
Lampiran 7. <i>Ethical Clearance</i> .....	74
Lampiran 8. Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	75



## INTISARI

Aterosklerosis merupakan suatu kondisi terjadinya pengerasan dan penyempitan arteri secara progresif akibat timbunan lemak dengan disertai peradangan. Aterosklerosis sangat dipengaruhi kadar kolesterol, merokok, hipertensi, diabetes mellitus, obesitas, dan kurang aktivitas fisik yang merupakan sumber radikal bebas dalam tubuh. *Superoxide Dismutase* (SOD) merupakan antioksidan yang berperan dalam mengkatalisis radikal bebas di dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan dari metode induksi aterosklerosis terhadap kadar *Superoxide Dismutase* pada tikus jantan galur wistar.

Penelitian studi eksperimental dengan rancangan *Post Test Control Group Design* menggunakan tikus sebagai hewan coba. Tikus yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok penelitian terdiri dari K(-) diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum*, K(1) diberikan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak, K(2) diberikan paparan asap rokok, K(3) diberikan kombinasi metode induksi aterosklerosis. Penelitian dilakukan di PSPG UGM pada Agustus - September 2021. Pengujian dengan metode uji Anova setelah itu dilanjut dengan *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok menggunakan aplikasi SPSS versi 22.

Hasil penelitian didapatkan rerata pada kelompok kontrol negatif K(-) :  $79,41 \pm 4,15\%$ , K1:  $39,70 \pm 2,08\%$ , K2:  $45,34 \pm 2,53\%$ , K3:  $35,29 \pm 4,26\%$ . Hasil analisis uji Anova didapatkan  $p < 0,05$ . Data dilanjutkan untuk analisis uji *Post Hoc*, didapatkan hasil yaitu terdapat perbedaan bermakna pada seluruh kelompok penelitian dengan nilai  $p > 0,05$ .

Kesimpulan penelitian secara statistik membuktikan bahwa terdapat perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar.

**Kata kunci:** *Superoxide Dismutase*, Antioksidan, Radikal Bebas, Aterosklerosis, SOD

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Aterosklerosis merupakan suatu kondisi terjadinya pengerasan dan penyempitan arteri secara progresif akibat timbunan lemak dengan disertai peradangan (Hunjri dan Rahmah, 2019). Stres oksidatif adalah kondisi yang menggambarkan adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang berfungsi dalam mempertahankan kondisi terhadap kerusakan jaringan yang terjadi (Arief dan Widodo, 2018). Salah satu antioksidan yang mereduksi ROS adalah *Superoxide Dismutase* (SOD) yang merupakan salah satu antioksidan enzimatis intraseluler (endogen) yang paling kuat yang akan mengkatalisis konversi anion superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida (Kurutas, 2016). Penelitian mengenai model kombinasi induksi aterosklerosis menggunakan injeksi adrenalin, diet tinggi lemak, dan paparan asap rokok dengan penanda antioksidan SOD masih jarang dilakukan.

Data WHO (2018) sekitar 73% penyebab kematian di dunia adalah penyakit tidak menular (PTM) dan 35% di antaranya adalah disebabkan karena penyakit jantung dan pembuluh darah (WHO, 2018). Jumlah kasus penyakit jantung di Indonesia pada akhir tahun 2019 mencapai 11.592.990 kasus di Indonesia (Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular, 2019). Provinsi Jawa Tengah pada tahun 2021 menempati urutan ke 5 penyakit jantung dari total jumlah kasus penyakit tidak menular (PTM) dengan prevalensi 2% dari total kasus penyakit tidak menular (PTM) di Provinsi Jawa

Tengah (Dinas Kesehatan Jawa Tengah, 2021). Kasus tertinggi penyakit jantung koroner (PJK) provinsi Jawa Tengah di Kabupaten Kudus (4.433 kasus) diikuti Kota Semarang (2.093 kasus) dan Kabupaten Brebes (1099 kasus), sedangkan Kabupaten Semarang sebesar 167 kasus (Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2016)

Hewan percobaan yang banyak dimanfaatkan sebelumnya untuk penelitian aterosklerosis yaitu kelinci, mencit, tikus, dan babi. Model hewan coba tikus sering digunakan dalam penelitian aterosklerosis karena kemampuan beradaptasi dan produktifitasnya. Tikus mempunyai sisi yang menguntungkan karena mudah untuk beradaptasi serta mempunyai banyak karakteristik yang sama dengan manusia yaitu hewan dengan pola makan omnivora. Tikus secara fisiologi kebal terhadap pengembangan aterosklerosis, diet tinggi kolesterol, atau adrenalin yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit pada tikus (Karam *et al.*, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Nasution *et al.*, (2017) mengenai pemberian induksi aterosklerosis dengan menggunakan injeksi adrenalin 0,006 mg i.v. disertai dengan diet intermittent kuning telur pada tikus memperlihatkan penurunan kadar antioksidan di dalam tubuh tetapi tidak sampai memperlihatkan suatu keadaan stress oksidatif yang dapat menyebabkan terjadinya inflamasi dan mempengaruhi pembentukan plak aterosklerosis. Penelitian mengenai pemberian paparan asap rokok pada tikus selama 28 hari memperlihatkan penurunan kadar SOD tetapi tidak sampai menimbulkan keadaan stres oksidatif di dalam tubuh yang merupakan salah satu penanda pemicu terjadinya aterosklerosis (Suryadinata *et al.*, 2017)..

Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa perilaku merokok adalah salah satu penyebab aterosklerosis dalam pembuluh darah arteri yang menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel membuat tunika intima arteri tidak dapat menghasilkan *Nitric Oxide* (NO) sebagai antioksidan pembuluh darah (Malaeny *et al.*, 2017). Sel endotel vaskular rentan terhadap terjadinya stres oksidatif saat terpapar radikal bebas. Hal ini menyebabkan peningkatan risiko terjadinya lesi aterosklerotik (Rahmayanti dan Hanriko, 2020).

Penelitian tentang metode induksi aterosklerosis hingga saat ini belum diketahui mana yang paling tepat untuk menimbulkan plak aterosklerosis pada model hewan coba tikus jantan galur wistar non modifikasi genetik, oleh sebab itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar SOD pada tikus jantan galur wistar (Rahmayanti & Hanriko, 2020). Penelitian dilakukan dengan menggunakan faktor diet tinggi lemak menggunakan diet kuning telur yang diberikan secara intermiten disertai dengan injeksi adrenalin yang diberikan pada hari pertama dilakukan selama 28 hari dengan mengacu pada saran penelitian sebelumnya, serta menggunakan paparan asap rokok pada hewan coba dengan mengacu pada OECD *Guideline* no.412 tentang toksisitas inhalasi subakut, yaitu selama 28 hari (OECD, 2018).

## 1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar *Superoxide Dismutase* pada tikus jantan galur wistar?

### 1.3. Tujuan Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian bertujuan untuk mengetahui perbedaan dari metode induksi aterosklerosis terhadap kadar *Superoxide Dismutase* pada tikus jantan galur wistar.

#### 1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Mengetahui pengaruh metode induksi aterosklerosis dengan diet tinggi lemak disertai injeksi adrenalin selama 28 hari terhadap kadar *Superoxide Dismutase* pada tikus jantan galur wistar.
- 1.3.2.2. Mengetahui pengaruh metode induksi aterosklerosis dengan paparan asap rokok sebanyak selama 28 hari terhadap kadar *Superoxide Dismutase* pada tikus jantan galur wistar.
- 1.3.2.3. Membandingkan perbedaan gabungan metode induksi aterosklerosis diet tinggi lemak, injeksi adrenalin, dan paparan asap rokok selama 28 hari terhadap *Superoxide Dismutase* pada tikus jantan galur wistar.

#### 1.4. Manfaat Penelitian

#### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Hasil penelitian diharapkan dapat memperluas wawasan pengetahuan serta menjadi pertimbangan dalam pemilihan metode induksi aterosklerosis pada hewan coba tikus wistar yang akan diberi perlakuan pencegahan atau terapi aterosklerosis.

#### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Diharapkan hasil penelitian dapat dipergunakan untuk mempertimbangkan faktor risiko maupun pencegahan pasien dengan aterosklerosis yang memiliki kebiasaan merokok, diet tinggi lemak, atau hipertensi.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Superoxide Dismutase*

##### 2.1.1. Definisi *Superoxide Dismutase*

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi untuk dapat menghambat dampak negatif yang dihasilkan oleh radikal bebas, selain itu antioksidan memiliki peran untuk membentuk sistem pertahanan atau sistem imun tubuh dari bentuk serangan radikal bebas yang berbahaya untuk tubuh manusia. Antioksidan adalah senyawa yang bisa memperlambat, menunda, serta mengantisipasi dari adanya proses oksidasi lipid (Yuslianti, 2018).

Sumber antioksidan dapat terbagi menjadi 2 macam antioksidan yakni antioksidan enzimatik yang berasal dari dalam tubuh (antioksidan endogen) beserta antioksidan non enzimatik (antioksidan eksogen). Sistem biologis manusia, antioksidan enzimatik dapat diproduksi secara alami dalam tubuh, yaitu katalase (CAT), glutathion peroksidase (GPx), *Superoxide Dismutase* (SOD). Antioksidan non enzimatik (eksogen) sendiri yaitu antioksidan yang diperoleh asalnya melalui luar tubuh manusia, terdiri dari antioksidan yang berada di alam sekitar serta antioksidan yang berasal dengan cara didapatkan melalui hasil sintesis reaksi kimia (Yuslianti, 2018).

*Superoxide Dismutase* (SOD) ialah jenis antioksidan enzimatik yang diproduksi oleh tubuh. SOD merupakan antioksidan bentuk enzim

yang memiliki peran untuk menetralkan radikal superoksida. Enzim SOD mengkatalisis reduksi radikal anion superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan oksigen ( $O_2$ ) (Yuslianti, 2018).

Radikal bebas adalah suatu bentuk atom yang mempunyai 1 atau lebih dari 1 elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya, maka dari itu radikal bebas memiliki sifat yang radikal dan sangat reaktif. Jenis dari radikal bebas sangat banyak, tetapi jumlah terbanyak adalah radikal bebas yang ada dalam sistem biologis yaitu radikal bebas turunan oksigen atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Yuslianti, 2018). *Reactive Oxygen Species* (ROS) mencakup superoksida ( $O_2^-$ ), hidroksil ( $OH^-$ ), peroksil ( $ROO^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), singlet oksigen ( $^1O_2$ ), oksida nitrit ( $NO^-$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ) dan asam hipoklorit ( $HOCl$ ). Superoksida merupakan salah satu jenis radikal bebas yang banyak ditemukan dalam tubuh. Dalam tubuh terjadi reaksi dimana superoksida akan diubah menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Hidrogen tersebut akan dilepaskan dan pada saat tahap propagasi akan direduksi menjadi radikal hidroksil ( $OH^-$ ). Hasil akhir dari radikal hidroksil tersebut yang akan mengakibatkan terbentuknya peroksidasi lipid di membran sel yang pada akhirnya akan menyebabkan terjadinya kerusakan sel (Wahjuni, 2015).

Stres oksidatif adalah sebuah keadaan yang muncul yang diakibatkan oleh karena terjadinya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh. Tubuh membutuhkan senyawa tertentu yakni antioksidan untuk bisa menetralkan

dan menangkap adanya radikal bebas yang ada di dalam tubuh, sehingga reaksi lanjutan yang menimbulkan keadaan stres oksidatif dapat dihentikan dan kerusakan sel dapat dicegah (Wahjuni, 2015).

### **2.1.2. Faktor yang Mempengaruhi Kadar *Superoxide Dismutase***

Kadar antioksidan yang ada di dalam tubuh dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor yang berpengaruh terhadap peningkatan kadar antioksidan dalam tubuh adalah dengan mengonsumsi antioksidan yang didapatkan dari luar tubuh yang berasal dari tanaman seperti seperti kayu, kulit kayu, akar, batang, daun, bunga, buah, biji, dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan senyawa fenolik (flavonoid) (Wahjuni, 2015). Terjadinya stres oksidatif mempunyai implikasi pada beberapa jenis penyakit, tetapi dengan menambah konsumsi antioksidan alami yang diperoleh dari tumbuhan, makanan, atau minuman mencegah terjadinya penyakit yang timbul akibat stres oksidatif salah satu contohnya adalah penyakit jantung, peradangan ginjal, peradangan hati, dan penyakit jantung (Puspitasari *et al.*, 2016).

*Superoxide Dismutase* (SOD) merupakan salah satu antioksidan enzimatis dan metaloenzim dalam tubuh karena aktivitasnya tergantung pada kofaktor logam Cu, Fe, Zn dan Mn. Berdasarkan hal ini SOD dikelompokkan menjadi Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD, dan EC-SOD. Cu/Zn-SOD ditemukan dalam sitosol, kloroplas tanaman tingkat tinggi dan berada di ekstraseluler, Mn-SOD ditemukan dalam mitokondria sel eukariot dan peroksisom, Fe-SOD ditemukan berikatan dengan kloroplas,

dan EC-SOD pada cairan ekstraseluler mamalia. Aktivitas SOD dipengaruhi oleh derajat stress oksidatif dalam komponen seluler. Kerja enzim SOD dapat dilihat pada banyaknya produk peroksidasi lipid dari setiap organel. Tingginya aktivitas SOD akan tergambarkan oleh rendahnya produk oksidasi lipid (Parwata, 2016).

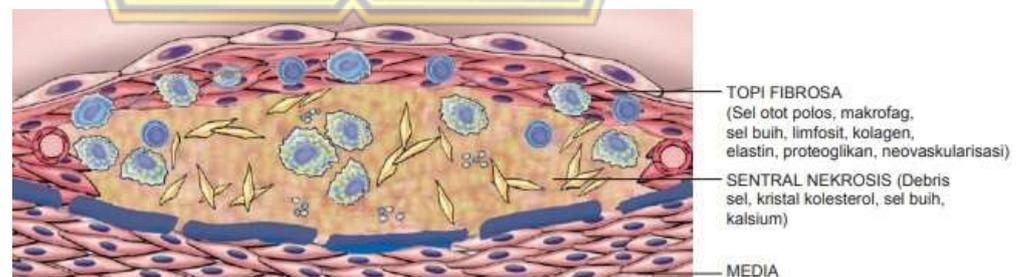
Penurunan aktivitas SOD di dalam tubuh dapat terjadi oleh karena beberapa faktor yang berhubungan dengan peningkatan jumlah radikal bebas yang berasal dari lingkungan. Paparan radikal bebas yang berasal dari lingkungan tersebut yang dapat mengakibatkan gangguan pada kestabilan membrane oleh karena pembentukan peroksidasi lipid dalam tubuh yang menyebabkan kerusakan dari enzim intraseluler, selain itu penurunan ketersediaan biometal dapat mempengaruhi aktivitas SOD sebagai antioksidan metaloenzim. Kadar antioksidan di dalam tubuh juga dapat terjadi penurunan yang disebabkan peningkatan kadar oksidan di dalam tubuh yang menjadi sumber utama terbentuknya radikal bebas yang berpotensi merusak tubuh, meskipun secara fisiologis senyawa oksidan juga diperlukan secara fisiologis oleh tubuh untuk proses penyembuhan luka. Keadaan dimana tubuh menyerap lebih banyak radikal bebas daripada antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh menyebabkan antioksidan yang berperan untuk menetralkan jumlah radikal bebas yang ada dalam tubuh menjadi tidak optimal dan menyebabkan terjadinya keadaan stres oksidatif dalam tubuh (Wahjuni, 2015). Contoh radikal bebas yang berasal dari lingkungan adalah paparan radiasi pengion (dapat

berasal dari paparan sinar matahari, sinar-X, sinar kosmik, serta dari pembangkit listrik), dinitrogen oksida (terutama dari knalpot mobil) dan ozon, lemak tak jenuh, asap rokok (baik perokok aktif maupun perokok pasif), logam berat (seperti merkuri, kadmium, dan timah hitam), alkohol, serta senyawa yang ditemukan dari makanan, udara dan air yang semuanya berkontribusi terhadap produksi radikal bebas yang berasal dari lingkungan dan masuk ke dalam tubuh (Ghosh & Deb, 2014).

## 2.2. Aterosklerosis

### 2.2.1. Definisi Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya perkembangan lesi di tunika intima yang disebut dengan “ateroma” (plak ateromatosa atau aterosklerotik). Ateroma dikenal sebagai istilah plak ateromatosa yang merupakan lesi menonjol yang terdiri dari pusat massa yang lunak (terutama kolesterol dan ester kolesterol, dengan partikel nekrotik) ditutupi oleh jaringan ikat (Kumar *et al.*, 2013).



Gambar 2.1. Struktur Dasar Plak Ateromatosa (Kumar *et al.*, 2013)

### 2.2.2. Faktor Risiko Aterosklerosis

Munculnya penyakit aterosklerosis dapat dipengaruhi oleh beberapa hal faktor risiko yang menyebabkan munculnya penyakit aterosklerosis yaitu faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi dan faktor risiko yang dapat dimodifikasi. Salah satu contoh faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi genetik dimana riwayat keluarga mempunyai keterkaitan dengan timbulnya aterosklerosis, faktor usia yaitu semakin tua usia seseorang maka akan semakin berisiko terjadinya aterosklerosis yang memicu terjadinya penyakit jantung koroner (PJK), selain itu faktor yang tidak dapat dimodifikasi adalah jenis kelamin dimana wanita yang memasuki masa menopause dan usia tua akan semakin meningkat insiden penyakit aterosklerosis melebihi insiden pada pria (Kumar *et al.*, 2013).

Beberapa faktor risiko yang dapat dimodifikasi menimbulkan terjadinya aterosklerosis yakni:

a. Hiperlipidemia

Komponen kolesterol utama yang dapat menyebabkan peningkatan risiko aterosklerosis yaitu kolesterol *Low-Density Lipoprotein* (LDL). *Low-Density Lipoprotein* (LDL) berfungsi untuk menyalurkan kolesterol ke jaringan perifer, selain itu peran dari *High-Density Lipoprotein* (HDL) adalah untuk memobilisasi kolesterol dari plak pembuluh darah yang sedang terbentuk ataupun yang sudah tersedia serta membawa kolesterol tersebut ke hati untuk diekskresikan bersama dengan bilirubin. Jumlah *High-Density*

*Lipoprotein* (HDL) yang tinggi memiliki pengaruh dalam hal penurunan risiko penyakit aterosklerosis (Kumar *et al.*, 2013).

b. Hipertensi

Hipertensi merupakan faktor risiko utama lain pada penyakit aterosklerosis. Orang yang memiliki penyakit hipertensi akan meningkatkan risiko sebanyak 60% terjadinya penyakit jantung koroner (PJK) (Kumar *et al.*, 2013).

c. Merokok

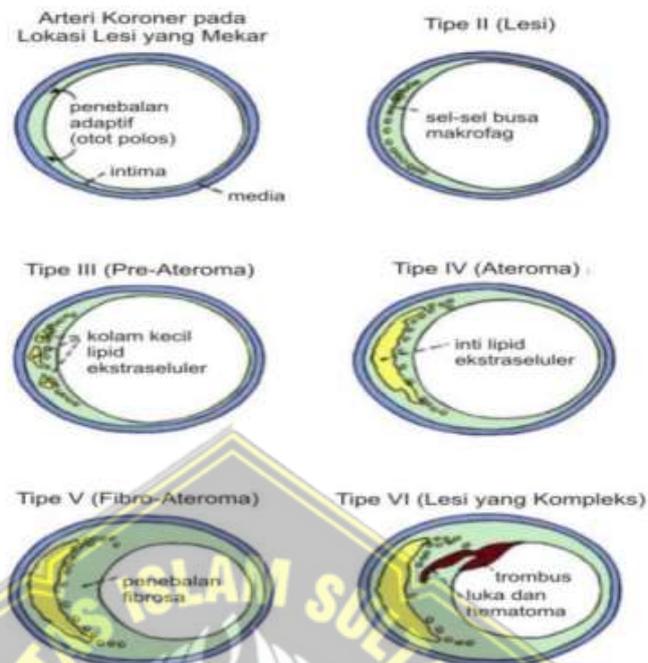
Merokok merupakan faktor risiko banyak ditemui pada pria, akan tetapi baik pria maupun wanita memiliki peran sama untuk terjadinya peningkatan insiden dan keparahan aterosklerosis oleh karena merokok. Merokok 1 bungkus ataupun lebih dalam sehari selama bertahun-tahun memiliki risiko berlipat ganda terjadinya kematian yang disebabkan karena penyakit jantung koroner (PJK), sementara itu berhenti merokok bisa menurunkan risiko tersebut (Kumar *et al.*, 2013).

d. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus dihubungkan dengan bertambahnya jumlah kolesterol dalam darah serta meningkatkan risiko terjadinya aterosklerosis. Kasus infark akan meningkat dua kali lipat pada penderita diabetes jika dibandingkan dengan penderita non-diabetes (Kumar *et al.*, 2013).

### 2.2.3. Klasifikasi Lesi Aterosklerosis

*American Heart Association* membedakan tahapan perkembangan aterosklerosis ke dalam 8 jenis. Lesi tipe I yang adalah lesi yang dilihat dengan terciptanya foamy cell, sementara lesi tipe II dilihat dengan adanya lapisan yang mencakup sejumlah sel busa. Lesi tipe III disebut lesi menengah yang berisikan lipid ekstraseluler dan tidak ada inti yang baik, sedangkan lesi tipe IV telah membentuk lipid ekstraseluler dan tidak adanya inti yang baik, sedangkan lesi tipe IV telah membentuk lipid ekstraseluler yang konfluen. Lesi tipe V berisikan inti lipid yang mempunyai kapsula fibrosa, baik tanpa ataupun dengan kalsifikasi, sementara dalam lesi tipe VI ada fibroatheroma dengan defek kapsula fibrosa misalnya trombosis ataupun hemoragik. Lesi tipe VII serta VIII termasuk hasil regresi lipid lesi IV-VI, yang mana dominasi kalsifikasi ada dalam lesi tipe VII maupun mendominasi perubahan jaringan fibrosa ada dalam lesi tipe VIII (Porwal *et al.*, 2016).



Gambar 2.2. Klasifikasi Tipe Aterosklerosis (Porwal et al., 2016).

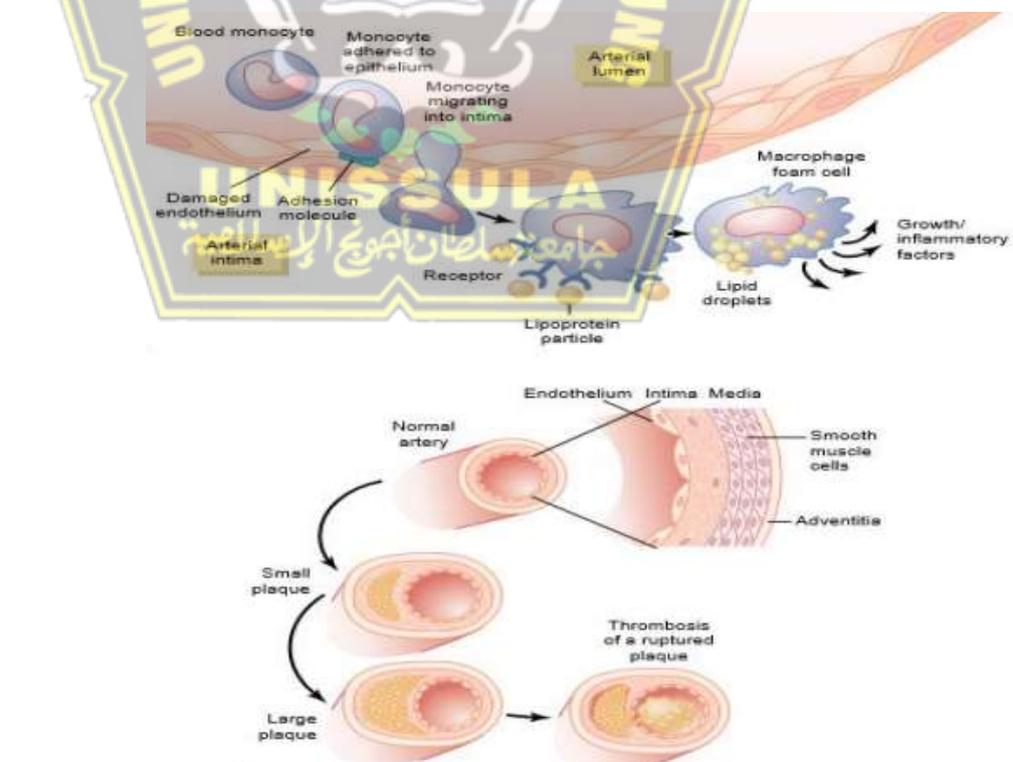
#### 2.2.4. Patogenesis Aterosklerosis

Aterosklerosis merupakan sekumpulan kondisi kompleks yang melibatkan pembuluh darah dan komponen didalamnya yaitu endotel vaskular dan vasa vasorum. Area yang biasanya terjadi pembentukan lesi aterosklerosis adalah di sekitar aorta dan arteri koroner. Proses awal yaitu adanya perubahan kolesterol LDL yang ada di dalam tubuh berubah oleh karena mengalami oksidasi dan menyebabkan terbentuknya LDL teroksidasi (Ox-LDL). Hal tersebut akan meningkatkan risiko apabila *Nitric Oxide* (NO) yang mempunyai fungsi dalam pembuluh darah yaitu untuk melindungi dinding endotel pembuluh darah arteri terhadap zat seperti Ox-LDL, trombosit dan monosit dalam jaringan berubah menjadi makrofag yang berisiko dapat mengakibatkan penempelan di dinding

endotel dan terbentuk trombus. Endotel dapat menjadi aktif apabila terdapat kerusakan didalamnya dan mengalami gangguan fungsi kemudian dapat terjadi deendotelisasi dengan atau tanpa disertai proses adhesi trombosit. Molekul plasma dan molekul lain seperti lipoprotein berdasarkan jenis ukuran dan konsentrasinya dapat melakukan ekstrasvasi menembus endotel yang rusak dan masuk melalui ruang sub endothelial pembuluh darah. Senyawa LDL teroksidasi (Ox-LDL) yang telah lama di dalam tubuh dapat berubah menjadi zat yang bersifat sitotoksik, kemotaktik, proinflamasi, serta proaterogenetik. Sel endotel akan sulit untuk memproduksi *Nitric Oxide* (NO) pada keadaan tersebut, dimana *Nitric Oxide* (NO) yang memiliki berperan sebagai senyawa yang melindungi pembuluh darah menjadi tidak optimal serta fungsi endotel untuk dilatasi menjadi berkurang (Adi, 2014).

Senyawa *Nitric Oxide* (NO) yang berkurang akan menyebabkan pelepasan sel-sel adhesi seperti VCAM-1, *Intercellular Adhesion Molecule-1*, *E selectin*, *P selectin* dan berkurangnya jumlah senyawa *Nitric Oxide* (NO) menyebabkan terjadinya penangkapan sel monosit dan sel T, yang kemudian sel monosit akan melalui endotel pembuluh darah lalu memasuki lapisan intima dinding pembuluh dan berdiferensiasi menjadi makrofag yang kemudian akan mencerna sekumpulan Ox-LDL yang ada di lapisan endotel pembuluh darah dan berubah menjadi sel busa (foam cell). Makrofag yang telah berubah menjadi *foam cell macrophage* selanjutnya mengumpul jadi satu di dinding pembuluh darah, membentuk

membentuk *fatty streak*. Seiring berjalannya waktu *Fatty streak* akan terus bertambah menjadi besar diiringi dengan proses proliferasi jaringan ikat fibrosa dan jaringan otot polos pembuluh darah sekitar sehingga akan terbentuk plak yang semakin lama akan semakin membesar. Plak yang terus berkembang akan menonjol ke arah dalam dari lumen pembuluh darah arteri akan mengakibatkan aliran darah akan berkurang dan menyebabkan timbunan yang besar dari jaringan ikat padat yang membuat dinding pembuluh darah menjadi kaku dan tidak elastis. Garam kalsium juga berperan nantinya dapat mengendap bersamaan dengan sejumlah kolesterol dan lipid yang sudah terakumulasi di dalam dinding pembuluh darah yang dapat mengakibatkan pembuluh darah akan mengeras akibat terjadinya kalsifikasi pembuluh darah (Guyton *et al.*, 2016).



Gambar 2.3. Perkembangan Plak Aterosklerosis

(Guyton *et al.*, 2016)

### 2.3. Metode Induksi Aterosklerosis

#### 2.3.1. Paparan Asap Rokok

Rokok merupakan produk olahan tembakau dengan zat campuran atau tanpa campuran yang dibungkus dengan kertas, berbentuk silinder dengan panjang 70-120 mm dan diameter sekitar 10 mm (Khasanah, 2018). Produksi antioksidan di dalam tubuh perokok aktif dengan jumlah paparan radikal bebas di dalam tubuhnya tidak seimbang, sehingga antioksidan tidak cukup untuk menangkal radikal bebas yang ada di dalam tubuh perokok aktif, sehingga konsumsi antioksidan dari luar tubuh sangat dibutuhkan. Pemeriksaan kadar *Malondialdehyde* (MDA) dalam darah merupakan salah satu indikator yang baik untuk mengetahui penurunan kadar radikal bebas yang ada di dalam tubuh (Effendi, 2022). Dalam kandungan asap rokok terdapat lebih dari 4000 jenis zat organik baik berupa gas maupun partikel yang berasal dari daun tembakau. Asap rokok memiliki dua fase yang berbeda yaitu, fase gas dan fase tar (fase partikulat). *Nitrosopyrrolidine*, vinil klorida, formaldehid, hydrogen sianida, nitrosamine, akrolein, urea, *acetaldehyde*, ammonia piridin, hidrogen, nitrogen oksida, dan karbon monoksida merupakan zat yang berbahaya yang dapat ditemukan pada fase gas. Zat yang diserap dari penyaringan asap rokok melalui *filter cartridge* dengan ukuran pori-pori 0,1µm merupakan fase tar. Dibensakridin, dibensokarbasol, benzopiren, fluoranthene, hidrokarbon aromatik, polinuklear, naftalen, nitrosamine

yang tidak menguap, nikel, arsen, alkaloid tembakau, nikotin, dan alkaloid tembakau merupakan kandungan dalam rokok yang masuk dalam fase tar (Effendi, 2022).

### 2.3.1.1 Klasifikasi dan Kandungan Rokok

Bahan baku utama pembuatan rokok adalah dari daun tembakau kering kemudian digulung menggunakan kertas dan berukuran panjang antara 70 mm hingga 120 mm berdiameter sekitar 10 mm. Rokok konvensional biasanya digunakan dengan cara dibakar pada salah satu ujungnya, kemudian dihisap melalui rongga mulut pada ujung yang lain (Glantz & Bareham, 2018).

Penggolongan rokok konvensional berdasarkan penggunaan filter terbagi menjadi dua jenis, yaitu rokok filter dan rokok non filter. Rokok yang telah diolah dan dilengkapi dengan gabus yang berada di pangkalnya merupakan jenis rokok filter, sedangkan rokok non filter merupakan rokok yang saat digunakan tanpa menggunakan filter atau gabung yang berada di pangkalnya. Rokok non filter lebih berbahaya dibandingkan rokok filter karena tidak ada filter di dalamnya, sehingga kandungan nikotin dan tar yang dikeluarkan oleh rokok non filter lebih besar (Setyanda *et al.*, 2015).

Rokok konvensional dan rokok elektrik merupakan penggolongan jenis rokok berdasarkan cara kerjanya dari rokok. Hasil dari teori Negoro, (2017) adalah pembagian rokok konvensional

berdasarkan dari jenis bahan bakunya dibedakan menjadi 3 yaitu, rokok kretek, rokok putih, dan rokok klembak. Bahan baku dari rokok kretek yaitu daun tembakau kering dan cengkeh yang diberikan tambahan zat tertentu untuk menimbulkan efek tertentu dari rokok. Bahan baku dari rokok putih yaitu daun tembakau yang diberikan zat tertentu untuk mendapatkan aroma dan rasa tertentu, sedangkan rokok klembak yaitu berbahan dasar seperti rokok kretek dan rokok putih akan tetapi rokok klembak ditambahi dengan kemenyan sebagai zat khusus yang dapat menghasilkan aroma dan efek tertentu dari rokok itu sendiri (Negoro, 2017).

Rokok elektrik adalah rokok dalam bentuk modern dan berbentuk elektronik dengan perangkat baterai sebagai sumber energy dari rokok (Glantz & Bareham, 2018). Perangkat di dalam rokok elektrik mencakup baterai, elemen pemanas listrik (atomizer), dan kartrid yang dapat diganti atau diisi ulang dengan cairan (e-liquid) yang terdiri dari propilen glikol atau gliserol, air, perasa makanan, nikotin, dan bahan kimia lain. Komponen utama rokok elektrik adalah e-liquid (larutan penyedap) yang biasanya mengandung propilen glikol, gliserin dan perasa alami atau buatan lainnya dengan dosis nikotin di dalamnya yaitu 0- 18 mg/mL seperti (Prochnow, 2017). Salah satu bahan baku rokok yaitu nikotin, dimana nikotin mempunyai efek samping dalam tubuh yaitu meningkatkan tekanan darah, jantung berdebar, dan menimbulkan penyempitan pembuluh darah. Penggunaan rokok elektrik yang

menggunakan e-liquid atau konsumsi 1 pc cartridge (150 hisapan) setara dengan konsumsi 10 batang rokok konvensional (bahan baku tembakau) (Bahri *et al.*, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Kunaedi dan Nur (2018) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan yang diberikan rokok konvensional baik rokok kretek maupun rokok filter dengan rokok elektrik terhadap timbulnya hipoksia. Waktu yang dibutuhkan untuk menimbulkan terjadinya hipoksia pada paparan asap rokok filter dibandingkan dengan rokok kretek dengan rerata waktu 5 menit menyebabkan hewan uji mati. Semakin banyak paparan asap rokok yang diberikan, semakin besar efek hipoksia yang dihasilkan. Uji hipoksia yang dilakukan selama penelitian pada kelompok kontrol yang dipaparkan asap rokok dengan menggunakan rokok elektrik menunjukkan hasil negatif untuk memunculkan hipoksia, sehingga dapat dikatakan dampak hipoksia rokok elektrik jauh lebih ringan daripada dengan rokok kretek maupun filter (Kunaedi & Nur, 2018).

### **2.3.2. Injeksi Adrenalin disertai Diet Tinggi Lemak**

Penelitian dengan pemberian injeksi adrenalin secara intravena dengan dosis 0,006mg/200grBB pada hari pertama kemudian dilanjutkan pemberian diet kuning telur 2cc/200gBB tikus pada hari ke-2 sampai hari ke-42 melalui oral pada subjek hewan coba memperlihatkan hasil yaitu terjadi peningkatan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL. Pemberian adrenalin berfungsi untuk memunculkan terjadinya stress pada

hewan coba dan menaikkan tekanan darah. Adrenalin sendiri adalah hormon katekolamin yang mendorong terjadinya proses lipolisis. Lipolisis akan berlangsung di dalam jaringan adiposa diikuti dengan pelepasan lemak bebas ke dalam plasma dan bergabung dengan albumin. Peningkatan sekresi VLDL oleh hati yang melibatkan sekresi triasilgliserol dan kolesterol tambahan ke dalam sirkulasi darah adalah pengaruh dari peningkatan asam lemak bebas yang ada di dalam plasma (Maris *et al.*, 2016).

Kuning telur digunakan untuk menimbulkan terjadinya hipertrigliseridemia pada tikus yang bertujuan untuk meniru efek pola makan pada penderita dislipidemia dengan pola makan yang tidak sehat. Penelitian yang dilakukan oleh (Sutejo *et al.*, 2017) memperlihatkan perkembangan hiperkolesterolemia pada saat mencit diberikan diet tinggi kuning dengan menggunakan kuning telur bebek. Hiperkolesterolemia mengakibatkan produksi radikal bebas dalam tubuh karena terbentuknya reaksi hidroksilasi kolesterol. Tingginya radikal bebas di dalam tubuh akan mengakibatkan gangguan pada Apo CII. Apo CII adalah sebagai kofaktor dari enzim LPL, fungsi LPL akan terganggu apabila terdapat gangguan pada Apo CII. Akumulasi trigliserida akan tetap terjadi didalam darah karena terjadinya disfungsi LPL (Roslizawaty *et al.*, 2016).

### **2.3.2.1 Kandungan Kuning Telur**

Kandungan telur terdiri dari asam amino, vitamin, mineral, karbohidrat, dan lemak. Jenis protein yang terdapat dalam telur

merupakan jenis protein yang mudah dicerna dan bermutu tinggi. Jumlah lemak pada kuning telur mencapai 32%, sedangkan jumlah lemak pada putih telur lebih sedikit. Kandungan putih telur lebih banyak proteinnya, sedangkan kuning telur lebih banyak kandungan lemaknya. Lemak pada telur terdiri dari trigliserida, fosfolipid, dan kolesterol. Trigliserida dan fosfolipid pada telur berfungsi untuk produksi energi yang dibutuhkan dalam aktivitas sehari-hari. Kuning telur cukup tinggi kandungan kolesterolnya. (Widarta, 2018).

Kulit telur, putih telur dan kuning telur merupakan komponen utama dari telur. Ketika komponen telur tersebut memiliki komposisi yang berbeda-beda tergantung dari jenis telurnya. Adapun komposisi dari komponen tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi putih telur, kuning telur dan cangkang untuk setiap jenis unggas (Tolik *et al.*, 2014)

Jenis	Berat Telur (g)	% (berdasarkan berat telur)		
		Putih Telur	Kuning Telur	Kulit telur
Burung Puyuh	11,3	59,7	32,7	7,4
Ayam	58	55,8	31,9	12,3
Angsa	200	52,5	35,1	12,4
Kalkun	85	55,9	32,3	11,8
Bebek	80	52,9	35,6	12,5
Burung Unta	1580	59,8	20,4	19,8
Ayam Mutiara	40	52,3	35,1	12,6

Telur bebek kandungan nutrisinya hampir setara dengan komposisi telur unggas lainnya. Pada tabel 2.2 dibawah ini, memperlihatkan

perbandingan kandungan gizi telur bebek dan unggas lain dari segi kandungan nutrisinya:

Tabel 2.2. Kandungan gizi telur (Oktaviani *et al.*, 2012).

Jenis Unggas	Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)
Ayam Ras	12,7	11,3	0,9
Ayam Buras	13,4	10,3	0,9
Itik	13,3	14,5	0,7
Bebek	13,1	14,6	1,8
Angsa	13,9	13,3	1,5
Merpati	13,8	12,0	0,8
Kalkun	13,1	11,8	1,7
Burung Puyuh	13,1	11,1	1,6

#### 2.4. Hubungan Merokok terhadap Kadar *Superoxide Dismutase*

Kandungan dan jumlah molekul oksidan atau radikal bebas yang terdapat pada asap rokok dalam sekali hisap mencapai  $10^{14-16}$  molekul yang masuk ke dalam tubuh. Radikal bebas yang masuk dalam tubuh dari paparan asap rokok tersebut seperti anion superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal hidroksil ( $OH^\cdot$ ) dan radikal peroksil ( $ROO^\cdot$ ) (Adyitia *et al.*, 2014).

Radikal *superoxide* merupakan salah satu jenis radikal bebas yang mempunyai waktu paruh relative lama dan memiliki kemampuan untuk berikatan dengan sel sehingga dapat merangsang terjadinya reaksi peroksidasi lipid yang mengakibatkan timbulnya kerusakan serta kematian sel yang lebih besar dibandingkan dengan radikal bebas lainnya (Hininger-Favier *et al.*, 2016). Antioksidan enzimatik yang diproduksi secara alami didalam tubuh seperti contohnya *superoxide dismutase* (SOD) dapat menetralsir adanya

radikal bebas *superoxide* (Gutowski & Kowalczyk, 2013). Radikal bebas akan berusaha untuk mempertahankan posisi yang lebih stabil dengan cara memperoleh pasangan elektron yang berasal dari molekul sel di sekitarnya, akan tetapi molekul sel di sekitarnya yang telah kehilangan elektronnya akan menjadi radikal bebas. Peradangan, kerusakan DNA atau sel yang dapat menyebabkan timbulnya lesi aterosklerotik yang memicu terjadinya disfungsi endotel, semua dapat terjadi akibat terjadinya stress oksidatif yang berlangsung kronis dan dapat bertahan di dalam dalam jangka waktu yang lama (Held, 2015).

Jumlah radikal bebas akan terus bertambah di dalam tubuh apabila terjadi paparan asap rokok secara langsung terus-menerus. Radikal bebas yang masuk dalam tubuh serta jumlah antioksidan yang ada di dalam tubuh menipis maka akan memicu terjadinya stres oksidatif di dalam tubuh (Wahjuni, 2015).

*Superoxide dismutase* (SOD) merupakan salah satu antioksidan endogen yang diproduksi di dalam tubuh yang mempunyai peran untuk menetralkan sejumlah radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh. Jenis antioksidan endogen secara biologis dapat diproduksi oleh tubuh, akan tetapi jika jumlah radikal bebas yang masuk dalam tubuh lebih banyak, maka tubuh membutuhkan antioksidan tambahan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) (Kahnamoei *et al.*, 2014). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Suryadinata *et al.*, (2017) menyatakan bahwa konsumsi suplemen antioksidan SOD-*gliadin* yang berasal dari luar tubuh dapat menurunkan radikal bebas di dalam tubuh yang berasal dari dari paparan asap rokok (Suryadinata *et al.*, 2017). Hasil

penelitian Kusumastuty *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa tepung daun ubi jalar ungu sebagai antioksidan eksogen dapat mencegah terjadinya penurunan kadar SOD pada tikus dengan paparan asap rokok (Kusumastuty *et al.*, 2014). Beberapa literatur menyebutkan bahwa perokok memiliki kadar SOD lebih rendah daripada yang bukan perokok. Kadar SOD yang lebih rendah antara perokok yang dibandingkan dengan non perokok juga ditemukan pada hasil penelitian Saggi *et al.*, (2012) di India. Hasil lain juga menunjukkan pada penelitian yang dilakukan (Abdul-Rasheed & Al-Rubayee, 2013) di Irak dan Jenifer *et al.*, (2015) di Taiwan juga menyatakan kadar SOD pada perokok lebih rendah daripada nonperokok (Abdul-Rasheed dan Al-Rubayee, 2013; Jenifer *et al.*, 2015).

## **2.5. Hubungan Diet Tinggi Lemak Disertai Injeksi Adrenalin terhadap Kadar *Superoxide Dismutase***

Perubahan pola hidup yang terjadi di masyarakat seperti mengonsumsi makanan tinggi lemak merupakan salah satu faktor risiko terjadi dislipidemia. Peningkatan kadar kolesterol total, peningkatan kadar Triglicerida (TG), peningkatan kadar *Low-Density Lipoprotein* (LDL), serta penurunan kadar *High-Density Lipoprotein* (HDL) menyebabkan timbulnya kondisi metabolik yang dikenal dengan istilah dislipidemia (Arsana *et al.*, 2021). Anion superoksida merupakan salah satu bentuk radikal bebas yang diproduksi secara berlebihan pada penderita dislipidemia akibat adanya peningkatan aktivitas NADH/NADPH oksidase (Wahjuni, 2015). Ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan kadar antioksidan di

dalam tubuh memicu timbulnya kondisi stres oksidatif (Novidiyanto *et al.*, 2016). Terjadinya stres oksidatif dapat menstimulasi terbentuknya peroksidasi lipid, sehingga dapat merusak membran sel yang ditandai dengan peningkatan kadar *Malondialdehid* (MDA) dan penurunan aktivitas enzim *Superoxide Dismutase* (SOD). *Malondialdehid* (MDA) akibat adanya peningkatan reaksi radikal bebas dapat menjadi salah satu indikator utama untuk mengetahui keadaan stres oksidatif (Widyaningsih *et al.*, 2015).

Paparan polusi udara dapat meningkatkan konsentrasi atau pembentukan molekul radikal bebas yang dapat menginduksi terbentuknya produk peroksidasi lipid di dalam tubuh. Penelitian yang dilakukan oleh Sutejo *et al.*, (2017) merangsang terbentuknya hiperlipidemia yang ditimbulkan dengan menginduksi berupa injeksi adrenalin intravena dengan dosis 0,006mg/200grBB pada hari pertama dan diet tinggi lemak menggunakan kuning telur bebek 5g/200grBB setiap hari selama 21 hari memunculkan terjadinya peroksidasi lipid. Kesimpulan yang sama juga dibuktikan oleh hasil penelitian Maulana (2019) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif yaitu berupa peningkatan kadar LDL dan penurunan kadar HDL dalam tubuh. Hal ini terjadi sebagai akibat dari pemberian diet tinggi lemak yang mengakibatkan perubahan profil lipid. Salah satu mekanisme yang dapat menimbulkan stres oksidatif adalah perubahan profil lipid yang akan menyebabkan peningkatan radikal bebas di dalam tubuh dan memungkinkan terjadinya penurunan kadar antioksidan di dalam tubuh (Maulana *et al.*, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Thrisnadia *et al.*, (2019) pada kelompok yang diberikan diet tinggi lemak selama 8 minggu menghasilkan peningkatan kadar MDA yang signifikan dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diberikan diet tinggi lemak, hal ini dideteksi dengan adanya peningkatan ROS yang ada di dalam membran sel. Peningkatan radikal bebas memicu terjadinya peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi rantai radikal bebas yang diawali dengan terbebasnya hidrogen dari suatu asam lemak tak jenuh ganda oleh radikal bebas. Peningkatan ROS dapat mengakibatkan timbulnya stres oksidatif yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan dari DNA, protein, dan lemak, sehingga antioksidan sangat dibutuhkan untuk menetralkan adanya radikal bebas (Moghadamtousi *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Saraswati *et al.*, (2018) menunjukkan adanya peningkatan kadar SOD pada tikus jantan galur wistar yang diberikan minyak goreng disertai dengan pemberian ekstrak kulit manggis dengan dosis 400mg/kgBB selama 28 hari, meskipun peningkatan kadar SOD tidak signifikan secara statistik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya (Saraswati *et al.*, 2018).

## **2.6. Hubungan Kadar *Superoxide Dismutase* Terhadap Aterosklerosis**

Aterosklerosis adalah pengerasan dinding arteri akibat terbentuknya plak ateromatosa. Penyakit sindrom pembuluh darah ini terjadi sebagai respon berkembangnya peradangan kronis oleh karena peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan penumpukan leukosit pada makrofag.

Komplikasi aterosklerosis yang kronis menyebabkan suplai darah ke jaringan tidak cukup sehingga mengakibatkan iskemia (Wahjuni, 2015). Salah satu penyebab terjadinya aterosklerosis yaitu adanya paparan radikal bebas yang berasal dari faktor lingkungan misal makanan tinggi kolesterol, kurangnya olahraga, merokok, stress (Farahdika dan Azam, 2015).

Kadar radikal bebas berbentuk *reactive oxygen species* (ROS) yang meningkat di dalam tubuh serta menurunnya kemampuan tubuh untuk menetralsir ROS oleh karena adanya kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh mengakibatkan terjadi peroksidasi lipid, perubahan protein, dan kerusakan DNA dalam sel, sehingga akan memicu keadaan stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi karena inisiasi proses peroksidasi membran lipid pada kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) yang mengakibatkan perubahan atau kerusakan struktur membran, menonaktifkan ikatan membran dengan reseptor atau enzim yang dapat mengganggu fungsi normal sel dan mengakibatkan timbulnya kerusakan oksidatif sel lebih lanjut (Yuslianti, 2018).

Aterosklerosis bisa muncul lewat proses inflamasi kronik maupun stres oksidatif. Sel endotel melakukan pengaturan elastisitas pembuluh darah atau mengantisipasi pembekuan darah dan melepas *Nitric Oxide* (NO) pada dinding pembuluh darah, sehingga keadaan stres oksidatif dan inflamasi tidak terjadi (Kattoor *et al.*, 2019). Sel endotel pembuluh darah merupakan sel yang bersifat semipermeabel yang berfungsi untuk mengatur dan mencegah infiltrasi molekul tertentu yang berbahaya. Penting untuk diingat bahwa sel endotel

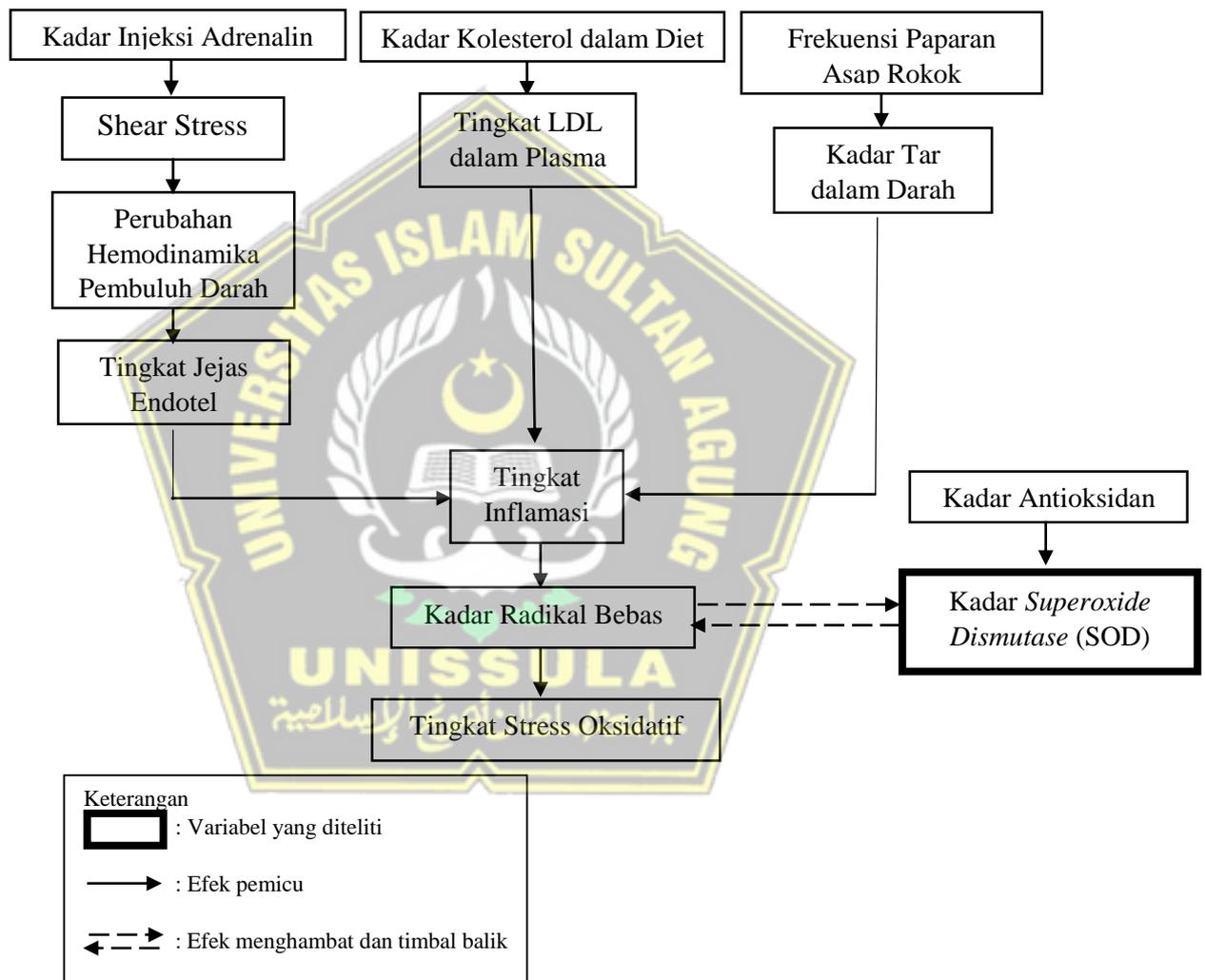
adalah salah satu jenis sel yang rentan terhadap stres oksidatif dan mudah untuk mengalami gangguan fungsi sel, sehingga dapat menimbulkan suatu kelainan (disfungsi). Aterosklerosis adalah kelainan pembuluh darah yang disebabkan oleh karena suatu kondisi stres oksidatif di dalam tubuh. Ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dalam tubuh dan kadar antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh menyebabkan terjadinya keadaan yang disebut dengan stres oksidatif. Keadaan stres oksidatif inilah yang menyebabkan seluruh radikal bebas tidak dapat dinetralisir didalam tubuh oleh antioksidan mengakibatkan kerusakan sel dan jaringan yang lebih luas. Jumlah radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh akan mengakibatkan peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-6* (IL-6) atau *Tumor Nekrosis Faktor-alpha* (TNF- $\alpha$ ) dan menyebabkan pelepasan leukosit polimorfonuklear (PMN). PMN adalah sumber radikal bebas seperti *superoxide anion*, *hydroxyl radical*, *nitrous oxide* dan *hydrogen peroxide* yang semuanya berbahaya dan dapat merusak jaringan sel (Wahjuni, 2015).

Sel endotel yang sehat mempunyai keseimbangan *Nitric Oxide* (NO) maupun *endothelin-1*. Pembentukan *Nitric Oxide* (NO) oleh antioksidan endogen penting karena untuk dilatasi pembuluh darah dalam sistem kardiovaskuler. Faktor risiko yang tidak terkontrol memunculkan gangguan pelepasan *Nitric Oxide* (NO) maka efek ET-1 (vasoaktif/kontraksi) akan mendominasi akibat menurunnya sintesis *Nitric Oxide* (NO) ataupun meningkatkan inaktivasi *Nitric Oxide* (NO) oleh hubungan dengan anion superoksida maupun meningkatkan sistem renin angiotensin aldosterone serta

sistem saraf simpatis. Jalur ET-1 membuat reaksi oksidasi LDL oleh sel endotel pada aorta menjadi meningkat. Disfungsi endotel mengakibatkan vasokonstriksi abnormal dalam pembuluh darah yang mengakibatkan terjadinya proliferasi, migrasi sel otot polos vaskuler, agregasi platelet, serta penambahan permeabilitas endotel. Makromolekul akan mudah untuk berpenetrasi ke dinding pembuluh darah, sehingga menyebabkan terbentuknya plak aterosklerosis, serta terjadi sekresi molekul adhesive. Hal tersebut akan memunculkan perlekatan monosit maupun platelet ke dinding pembuluh darah yang menyebabkan pengerasan pada dinding pembuluh darah (Jannah *et al.*, 2013).

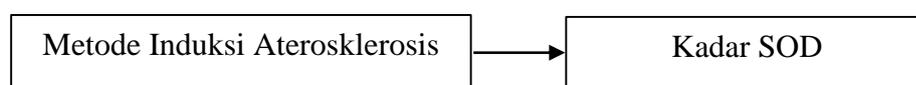
Pembentukan oksidan serta proses peroksidasi lipid dapat diantisipasi dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan enzimatik secara alami akan memberi perlindungan pada LDL dari proses oksidasi lipid. Antioksidan enzimatik yang diproduksi secara alami oleh tubuh seperti *Glutation peroksidase* (GPx), katalase (CAT), dan *Superoxide Dismutase* (SOD) memiliki peran untuk mencegah kerusakan sel, mencegah timbulnya penyakit, serta berperan untuk menjaga jaringan dari kerusakan yang diakibatkan ROS (Werdhasari, 2014). SOD dapat bereaksi secara langsung dengan *reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan proses pembentukan lesi aterosklerosis dengan cara menetralkan radikal bebas yang ada berada di tubuh agar tidak menyebabkan timbulnya keadaan stres oksidatif, sehingga mencegah terbentuknya lesi aterosklerosis (Wahjuni, 2015).

## 2.7. Kerangka Teori



Gambar 2.4. Kerangka Teori

## 2.8. Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Kerangka Konsep

## 2.9. Hipotesis

Terdapat perbedaan dari setiap metode induksi aterosklerosis terhadap kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*).

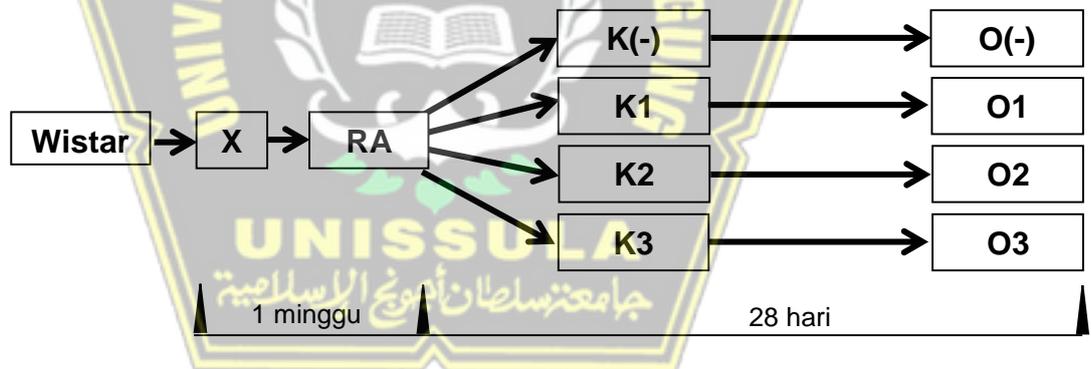


## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini yaitu penelitian eksperimental laboratorik, dengan menggunakan pendekatan *post test control design* yang memakai binatang percobaan untuk objek penelitian. Percobaan dilaksanakan menggunakan *simple randomized sampling*. Kelompok penelitian dibedakan menjadi empat, yakni Kelompok Kontrol (K(-)) Kelompok Perlakuan 1 (K1), Kelompok Perlakuan 2 (K2), serta Kelompok Perlakuan 3 (K3). Pembagian kelompok perlakuan yakni:



Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

X : Waktu adaptasi

RA : Random alokasi (*simple random sampling*)

K(-) : Kelompok Kontrol Negatif, tikus jantan galur wistar yang hanya diberi pakan standar beserta air minum *ad libitum* lamanya 28 hari

- K1 : Kelompok Perlakuan 1, tikus jantan galur wistar yang diinjeksi adrenalin di hari pertama dilanjut dengan diet tinggi lemak hari kedua hingga 28 hari.
- K2 : Kelompok Perlakuan 2, tikus jantan galur wistar yang terpapar asap rokok 20 batang per hari selama 28 hari.
- K3 : Kelompok Perlakuan 3, wistar yang diinjeksi adrenalin dengan diet tinggi lemak serta paparan asap rokok 20 batang per hari selama 28 hari.
- O(-) : *Output* kelompok kontrol. Hasil pemeriksaan kadar SOD tikus jantan galur wistar kelompok K(-).
- O1 : *Output* kelompok perlakuan 1. Hasil pemeriksaan kadar SOD tikus jantan galur wistar kelompok K1.
- O2 : *Output* kelompok perlakuan 2. Hasil pemeriksaan kadar SOD tikus jantan galur wistar kelompok K2.
- O3 : *Output* kelompok perlakuan 3. Hasil pemeriksaan kadar SOD tikus jantan galur wistar kelompok K3.

### 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 enzim *Superoxide Dismutase*

#### 3.2.2. Definisi Operasional

##### 3.2.2.1 Metode Induksi Aterosklerosis

- Paparan Asap Rokok

Pemberian paparan asap rokok pada kelompok perlakuan 2 (K2) dan kelompok perlakuan 3 (K3) sebanyak 20 batang rokok per hari selama 28 hari dalam ruangan khusus. Paparan asap rokok dilakukan secara membakar rokok yang sudah dihubungkan ke smoking pump maka asap rokok masuk ke smoking chamber lalu dihirup oleh mencit yang terdapat di dalam (Simatauw dan Unitley, 2019).

Satuan : 20 batang rokok per hari

Skala : Nominal (Ya/Tidak)

- Injeksi Adrenalin

Pemberian injeksi adrenalin pada hari pertama perlakuan yang diberikan pada kelompok perlakuan 1 (K1) dan kelompok perlakuan 3 (K3) dengan kombinasi metode induksi aterosklerosis. Pemberian 1 kali injeksi adrenalin bitartras di hari pertama perlakuan dengan cara intravena, lewat vena pada ekor tikus, menggunakan dosis injeksi 0.006 mg/200 grBB per kali (Maris *et al.*, 2016).

Satuan : mg/grBB per kali

Skala : Nominal (Ya/Tidak)

- Diet tinggi lemak:

Pemberian diet tinggi lemak dengan menggunakan 10 gram kuning telur bebek secara *intermittent* tiap 2 hari

sekali pada kelompok perlakuan 1 (K1) dan kelompok perlakuan 3 (K3) yang diberikan kombinasi metode induksi aterosklerosis. Pemberian 10 gram kuning telur bebek lewat sonde lambung tiap dua hari sekali (Pratiwi *et al.*, 2016).

Satuan : gr/grBB

Skala : Nominal (Ya/Tidak)

### 3.2.2.2 Kadar SOD

*Bioassay*® (SOD) ELISA Kit digunakan untuk menganalisis kadar SOD yang merupakan parameter antioksidan dalam darah yang berasal dari darah vena di dalam tubuh tikus jantan galur wistar, dengan hasil yang dinyatakan dalam satuan % dan diukur dengan menggunakan spektrofotometri. Kadar SOD yang dianggap normal pada penelitian adalah sesuai dengan kadar SOD pada kelompok kontrol. Skala rasio digunakan untuk perhitungan dengan karakteristik data yaitu nilai “nol” tetap diikuti perhitungan pada data, sehingga rasio dari nilai skala dapat dibandingkan tiap kelompok. (Alfatin, 2021).

Satuan : %

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):

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

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

$$3r - 3 \geq 18$$

$$r \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

r = jumlah sampel

Penelitian mempergunakan 6 ekor tikus masing-masing kelompok perlakuan untuk mengantisipasi jika terdapat tikus yang *drop out* ketika dilaksanakannya penelitian. Kelompok penelitian ini berjumlah 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol beserta 3 kelompok perlakuan, maka total tikus yang diperlukan pada saat penelitian jumlahnya 24 ekor tikus.

### 3.3.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah kriteria pada subjek uji penelitian yang dapat mewakili sampel penelitian dan memenuhi syarat sebagai sampel. Kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu:

- Tikus jantan galur wistar yang sehat dan bergerak aktif
- Tikus berumur 40 minggu
- Berat badan tikus 180 – 200 gram
- Tidak terdapat kelainan anatomi pada tikus

### 3.3.2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kriteria pada subjek penelitian yang tidak dapat mewakili untuk sampel penelitian oleh karena tidak memenuhi syarat sebagai sampel. Tidak terdapat kriteria eksklusi pada penelitian ini.

### 3.3.3. Kriteria Drop Out

Kriteria drop out adalah kriteria dimana subjek penelitian tidak dapat digunakan dalam penelitian atau mengalami pengguguran selama proses penelitian. Kriteria drop out dalam penelitian ini yaitu:

- Tikus mengalami penurunan berat badan >10%
- Tikus mati selama proses penelitian

## 3.4. Instrumen dan Bahan

### 3.4.1. Instrumen

1. Wadah air minum
2. Kandang hewan
3. Wadah pakan standar
4. Timbangan Hewan
5. Sonde lambung
6. Jarum 25 gauge untuk injeksi adrenalin
7. Spuit 1 cc
8. Kotak berlubang
9. Kandang tikus dengan paparan asap rokok

10. Spektrofotometer

### 3.4.2. Bahan

1. Tikus jantan galur wistar berusia 40 minggu, bobot 180-200 gram, aktivitas serta perilaku normal, sehat
2. Injeksi adrenalin bitatras
3. Kuning telur bebek
4. Rokok kretek
5. Pakan hewan standar AIN 93
6. Air minum *ad libitum*
7. Plasma darah tikus wistar jantan
8. EDTA
9. *BioVision® Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit*

### 3.5. Cara penelitian

#### 3.5.1. Pembagian Kelompok Penelitian

24 ekor tikus yang masuk ke dalam kriteria inklusi dan telah melewati tahap penyesuaian selama satu minggu dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan:

- 1) K(-): Kelompok kontrol
- 2) K1: Kelompok injeksi adrenalin dilanjutkan dengan diet tinggi lemak selama 28 hari
- 3) K2: Kelompok paparan asap rokok 20 batang per hari selama 28 hari

- 4) K3: Kelompok injeksi adrenalin dilanjut dengan diet tinggi lemak disertai paparan asap 20 batang per hari selama 28 hari.

### 3.5.2. Pembuatan Pakan Standar

Pemberian minuman dilakukan secara *ad libitum* dan pakan standar diberikan berdasarkan diet murni AIN-93M, dengan komposisi seperti yang tercantum pada Tabel 3.1

Tabel 3.1. Formulasi Pakan Standar AIN-93M (Widayati 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

Pemberian injeksi adrenalin diberikan pada hari pertama perlakuan dengan cara injeksi intravena di ekor tikus dilakukan secara: tikus dimasukkan ke kotak berlubang lalu ekor tikus ditarik keluar lewat lubang kotak, ekor tikus dikompres menggunakan kapas yang diberi air hangat selama sekitar lima menit supaya ada vasodilatasi vena, injeksi adrenalin dengan cara ujung jarum dimasukkan ke vena memiliki kemiringan lima belas derajat serta lakukanlah aspirasi, jika pada tabung syringe ada darah artinya ujung jarum telah masuk ke vena,

injeksi adrenalin 0,006 mg/200 gr BB dilaksanakan secara perlahan (Nasution *et al.*, 2017).

#### **3.5.4. Pemberian Diet Tinggi Lemak**

Pembuatan diet tinggi lemak dilaksanakan secara; memisahkan kuning dan putih telur, menciptakan emulsi kuning telur secara kuning telur dikocok secara perlahan untuk mendapatkan emulsinya, melakukan penimbangan emulsi kuning telur. Pemberian diet tinggi lemak ditetapkan sebanyak 3-4%BB tikus ataupun 10 gram/200 gr BB, diberikan melalui sonde lambung setiap 2 hari sekali. Pemberian diet tinggi lemak diberikan kepada seluruh tikus mulai hari ke-2 hingga hari terakhir perlakuan yang diberikan secara intermiten setiap 2 hari sekali (Nasution *et al.*, 2017)

#### **3.5.5. Paparan Asap Rokok**

Tahap paparan asap rokok dilaksanakan dahulu menyiapkan alat yang dipergunakan pada pemaparan ini yakni smoking pump yang dirangkai dengan smoking chamber. Proses pemaparan dilaksanakan setiap pagi dengan menggunakan paparan asap rokok 20 batang rokok per hari pada masing-masing kelompok perlakuan tikus kedua (K2) dan ketiga (K3). Pemaparan dilakukan selama 28 hari dengan menggunakan rokok kretek dengan kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg per batang rokok. Enam ekor mencit dari kelompok perlakuan 2 (K2) dan kelompok perlakuan 3 (K3) dimasukkan ke smoking chamber lewat bagian atas smoking chamber, selanjutnya kembali ditutup. Empat

batang rokok kretek dipasangkan di pipa yang dikoneksikan dengan pump. Rokok kretek yang sudah dipasangkan di pump dibakar mempergunakan korek api lalu nyalakan pump, maka asap rokok masuk ke smoking chamber. Penghitung waktu dipasang guna memahami waktu yang dipakai dalam menghabiskan 1 batang rokok kretek. Smoking chamber akan terisikan asap rokok pada saat proses pemaparan asap rokok serta perilaku bisa dilihat pada smoking chamber (Wulandari, 2016a).

#### 3.5.6. Perlakuan Pada Hewan Coba

Sesudah menentukan besar sampel tikus jantan galur wistar kemudian akan dimasukkan dalam kandang hewan yang ada di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Pada saat berlangsungnya penelitian sampel akan memperoleh air minum serta pakan yang sama. Guna pengadaptasian, sampel hanyalah diberi air minum dan pakan standar *ad libitum* selama 7 hari pertama. Di hari selanjutnya sampel akan dilakukan pembagian dengan random menjadi 4 kelompok yakni:

1. Kelompok Kontrol (K(-))

Kelompok ini hanyalah diberikan pakan standar beserta air minum *ad libitum* selama 28 hari.

2. Kelompok Perlakuan 1 (K1)

Kelompok ini akan diberikan pakan standar, air minum *ad libitum*, maupun di injeksi adrenalin di hari pertama dan dilanjut

dengan pemberian diet tinggi pada hari kedua hingga 28 hari secara intermiten.

3. Kelompok Perlakuan 2 (K2)

Kelompok ini akan diberikan air minum *ad libitum*, pakan standar, serta paparan asap rokok 20 batang per hari selama 28 hari.

4. Kelompok Perlakuan 3 (K3)

Kelompok ini akan diberikan air *minum ad libitum*, pakan standar, di injeksi adrenalin dengan diet tinggi lemak dan paparan asap rokok 20 batang per hari selama 28 hari.

### 3.5.7. Prosedur Pengambilan Darah Vena Tikus

Tikus difiksasi pada posisi supinasi, selanjutnya dilaksanakan anestesi mempergunakan ketamin intramuskular memiliki dosis 40 mg/kgBB sampai terbius. Tikus dilakukan pembedahan dengan cara vertikal mengikuti linea media dari abdomen ke arah toraks menggunakan gunting hingga terbuka semuanya. Darah diambil melalui jantung lewat pungsi ventrikel kiri dengan spuit 5 cc, selanjutnya dimasukkan ke vacutainer yang sudah diberi EDTA guna pemeriksaan serum. Darah dibiarkan mengalir ke tabung EDTA sejumlah 5 cc kemudian bolak balik secara perlahan. Sampel darah disentrifugasi menggunakan centrifuge memiliki kecepatan 3.000 rpm selama lima belas menit di suhu ruangan pisahkan plasmanya, masukkan kedalam microtube. Dilakukan disentrifuge kembali selama

sepuluh menit memiliki kecepatan 6.000 rpm, selanjutnya ambil supernatannya. Plasma yang didapatkan selanjutnya dimasukkan ke microtube 1 cc lalu dilakukan penyimpanan di freezer dalam suhu  $-70^{\circ}$  C. Hindarilah pajanan maupun kontaminasi langsung pada sinar matahari (Wulandari, 2016).

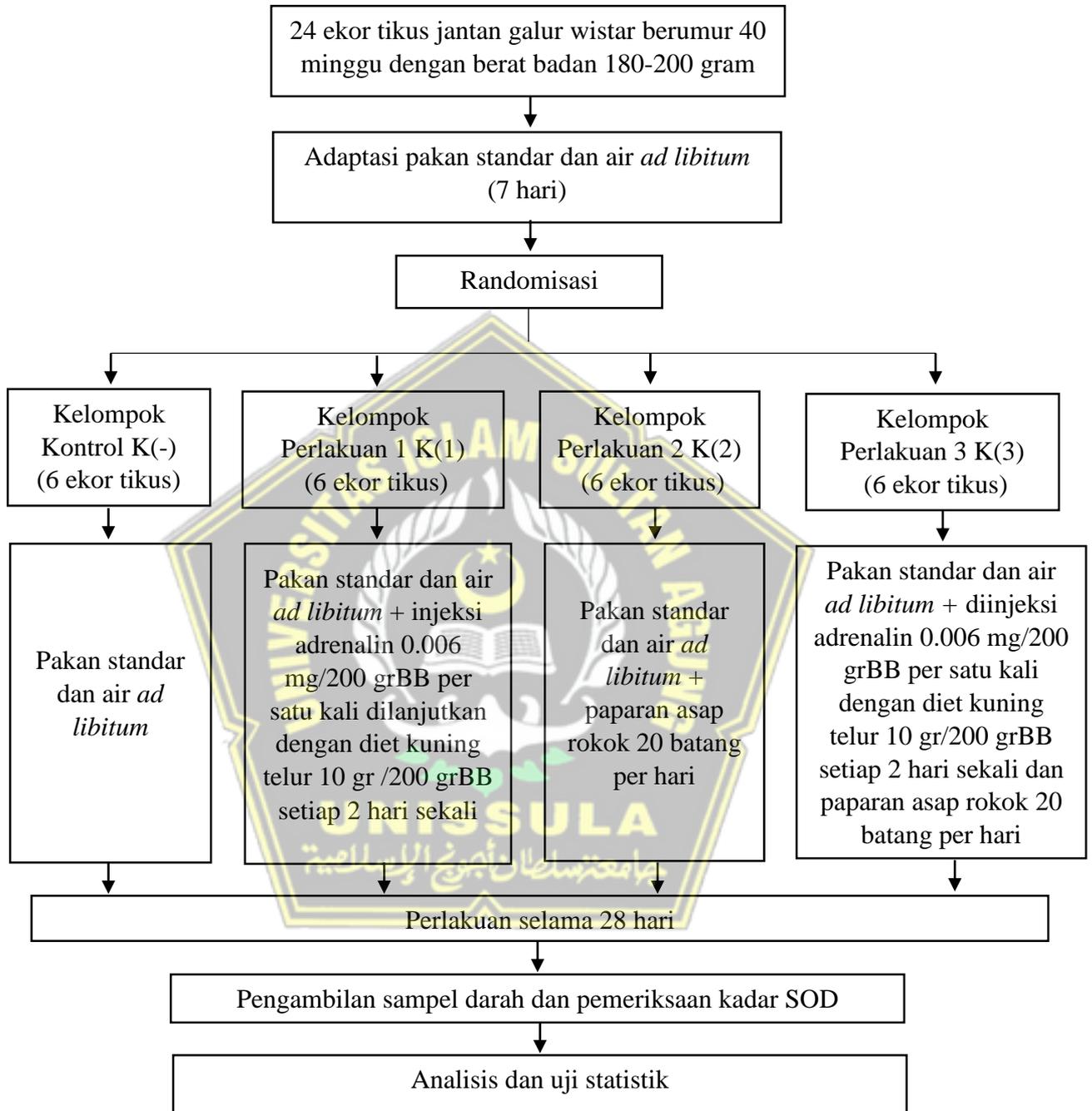
### 3.5.8. Pengukuran Kadar SOD

Aktivitas enzim plasma total *Superoxide Dismutase* (SOD) awalnya dibuat sebagai larutan stok SOD. Aktivitas SOD diukur berdasarkan laju penghambatan reduksi ferricytochrome c oleh anion superoksida yang dihasilkan oleh xantin/xantin oksidase. Xanthine dioksidasi menjadi asam urat, sedangkan anion superoksida yang terbentuk selanjutnya mereduksi ferricytochrome c. Reduksi ferricytochrome c diamati berdasarkan peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 550 nm. Pengukuran aktivitas ini dilakukan pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ , larutan xantin oksidase harus disimpan dalam keadaan dingin sebelum digunakan. Media reaksi disiapkan segera sebelum pengukuran dengan memasukkan 2,9 mL larutan A (campuran larutan 0,76 mg xantin dalam 10 mL 0,001 M NaOH, dengan larutan 1,8 mg sitokrom c dalam 100 mL buffer fosfat pH 7,8 tanpa EDTA) ke dalam tabung reaksi 3 mL. Kemudian ditambahkan 50  $\mu\text{L}$  larutan standar (kontrol) atau sampel dan divorteks perlahan. Reaksi dimulai dengan menambahkan 50  $\mu\text{L}$  larutan B (xantin oksidase 2,88 mg/mL dalam

buffer fosfat EDTA) dan divorteks secara perlahan. Diamati perubahan absorban yang terjadi pada spektrofotometer (Septiawati, 2013).



### 3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

### 3.7. Tempat dan waktu penelitian

#### 3.7.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### 3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian diadakan bulan Agustus 2021 – September 2021.

### 3.8. Analisis Hasil

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan program software statistic memakai pengujian homogenitas data mempergunakan uji levene's test beserta uji Saphiro-Wilk bagi pengujian normalitas. Data terdistribusi normal serta homogen dengan  $P > 0,05$ , sehingga diteruskan uji *One Way Anova* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, dari uji *One Way Anova* didapatkan hasil  $p < 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan bermakna, kemudian dilakukan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui uji perbedaan antara dua kelompok. Analisis data dilaksanakan menggunakan program SPSS (Notoatmodjo, 2012).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

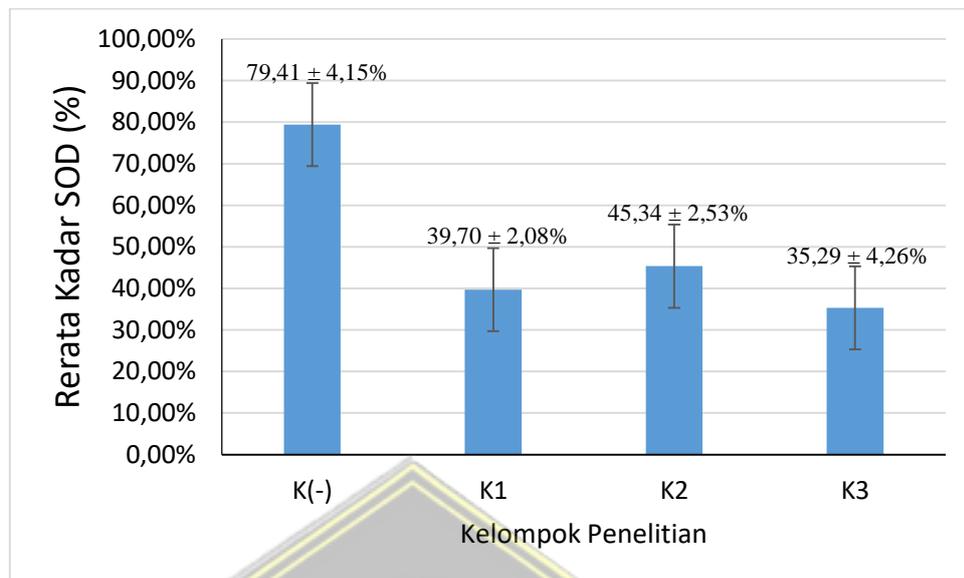
Penelitian ini mengenai perbedaan metode induksi aterosklerosis terhadap kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*) yang diberi injeksi adrenalin pada hari pertama disertai diet tinggi lemak secara *intermittent* dan paparan asap rokok selama 28 hari. Total sampel tikus yang digunakan adalah 24 ekor tikus. Setelah dilakukan intervensi selama 28 hari, didapatkan hasil bahwa tidak terdapat tikus yang mengalami *dropout* karena penurunan berat badan >10% atau mati. Hasil analisis rerata berat badan tikus sebelum dan setelah diberikan intervensi tertera pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data Rerata Pengukuran Berat Badan Tikus (*Rattus Norvegicus*)

Kelompok Penelitian	n	BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)
K(-)	6	183.67±3.9	232.17± 5.1
K1	6	182±3.1	280.5± 2.3
K2	6	184.67±3.7	283.17± 4.1
K3	6	185.83±4.0	311.5± 3.2

Keterangan:

- K(-) : Kelompok yang hanya diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum*
- K1 : Kelompok perlakuan pemberian injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak
- K2 : Kelompok perlakuan pemberian paparan asap rokok
- K3 : Kelompok perlakuan pemberian injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok



Gambar 4.1. Diagram Batang Data Rerata Kadar *Superoxide Dismutase* (%)

Keterangan:

- K(-) : Kelompok yang hanya diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum*  
 K1 : Kelompok perlakuan pemberian injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak  
 K2 : Kelompok perlakuan pemberian paparan asap rokok  
 K3 : Kelompok perlakuan pemberian injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok

Kadar rerata *Superoxide Dismutase* pada kelompok kontrol K(-) didapatkan hasil  $79,41 \pm 4,15\%$ . Data kelompok perlakuan 2 (K2) yang diberikan perlakuan dengan paparan asap rokok, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol K(-) mengalami penurunan sebesar  $45,34 \pm 2,53\%$ , akan tetapi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain rerata kelompok perlakuan 2 (K2) lebih tinggi hal ini dikarenakan kelompok perlakuan 2 (K2) hanya diberikan induksi menggunakan paparan asap rokok saja. Kelompok perlakuan 1 (K1) mengalami penurunan menjadi  $39,70 \pm 2,08\%$  akibat adanya induksi adrenalin dosis injeksi  $0.006 \text{ mg}/200 \text{ grBB}$

disertai diet tinggi lemak dengan menggunakan kuning telur bebek 10 gram. Data rerata kelompok perlakuan 3 (K3) yang diinduksi secara kombinasi menggunakan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok menunjukkan kadar rerata *Superoxide Dismutase* yang mengalami penurunan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang lainnya yaitu sebesar  $35,29 \pm 4,26\%$ . Hasil uji statistik dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Analisis Uji Normalitas, Homogenitas, dan *One Way Anova*

Kelompok	<i>p-value</i>		
	Normalitas ( <i>Shapiro Wilk</i> )	Homogenitas ( <i>Levene</i> )	<i>One Way Anova</i>
K(-)	.523*	.284**	0.000***
K1	.960*		
K2	.830*		
K3	.985*		

Keterangan: \* = data terdistribusi normal, \*\* = varian data homogeny, \*\*\* = berbeda bermakna

Tabel 4,2 menunjukkan hasil analisis normalitas data pada tiap kelompok terpenuhi ( $p > 0.05$ ) dengan varian data pada keempat kelompok yang diuji homogenitas didapatkan hasil homogen ( $p > 0.05$ ), sehingga syarat pengujian hipotesis dengan uji parametrik dapat dilakukan yaitu dengan uji *One Way Anova*. Uji *One Way Anova* tersebut diperoleh nilai  $p$  sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang artinya data kadar *Superoxide Dismutase* pada keempat kelompok uji memiliki perbedaan rerata yang signifikan. Analisis lebih lanjut dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar *Superoxide Dismutase*

antar kelompok, yaitu dengan uji *Post Hoc LSD* dan diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.3. Hasil analisis Uji *Post Hoc LSD*

Kadar <i>Superoxide Dismutase</i>	K(-)	K1	K2	K3
K(-)	-	.000*	.000*	.000*
K1		-	.009*	.036*
K2			-	.000*
K3				-

Keterangan: (\*) perbedaan bermakna

Tabel 4.3 menunjukkan hasil uji *Post Hoc LSD* yaitu adanya tanda bintang (\*) pada semua kelompok yang menjelaskan bahwa setiap kelompok memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok lain. Kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan 1 (K1), kelompok perlakuan 2 (K2), dan kelompok perlakuan 3 (K3). Kelompok perlakuan 1 (K1) yang diberikan perlakuan berupa injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif K(-), kelompok perlakuan 2 (K2), dan kelompok perlakuan 3 (K3). Kelompok perlakuan 2 (K2) yang diberikan perlakuan berupa paparan asap rokok memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif K(-), kelompok perlakuan 1 (K1), dan kelompok perlakuan 3 (K3). Kelompok perlakuan 3 (K3) yang diberikan perlakuan berupa injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif K(-), kelompok perlakuan 1 (K1), dan kelompok perlakuan 2 (K2).

## 4.2. Pembahasan

Hasil penelitian rerata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada setiap kelompok perlakuan memperlihatkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penurunan kadar SOD dapat dilihat pada hasil pengukuran rerata SOD pada ketiga kelompok baik yang diberikan perlakuan berupa injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok. Hal ini sejalan dengan teori yang menjelaskan penurunan antioksidan di dalam tubuh, semakin tinggi paparan yang diberikan membuat produksi ROS di dalam tubuh meningkat dan terjadi penurunan kadar antioksidan SOD yang dapat menyebabkan terbentuknya keadaan stress oksidatif (Ardiaria, 2019).

Kelompok perlakuan yang diinduksi paparan asap rokok terjadi penurunan kadar SOD dibandingkan dengan kelompok kontrol akan tetapi memiliki kadar SOD paling tinggi dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Penurunan kadar enzim antioksidan akibat paparan rokok terjadi karena dalam tubuh terjadi ketidakseimbangan antara pertahanan dan detoksifikasi. Diketahui enzim antioksidan merupakan pertahanan pertama dalam tubuh ketika terjadi ROS (Qussay *et al.*, 2017). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari, (2016) dimana tikus jantan galur wistar yang dipaparkan asap rokok tiga batang per hari selama 14 hari memiliki kadar SOD yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kulit buah rambutan sebagai pemicu peningkatan antioksidan yaitu dengan hasil rerata kadar SOD pada kelompok yang hanya diberikan paparan asap rokok adalah  $29,45 \pm 3,50\%$  dan rerata kadar SOD pada kelompok dengan

paparan asap rokok disertai pemberian ekstrak rambutan terjadi peningkatan kadar SOD sebesar  $42,91 \pm 6,62\%$  (Wulandari, 2016). Penelitian lain yang dilakukan oleh Joshi *et al.*, (2020) membandingkan kadar SOD pada orang perokok dan bukan perokok didapatkan hasil kadar SOD pada orang yang tidak merokok lebih tinggi yaitu sebesar  $208.56 \pm 75.63\%$  dibandingkan dengan orang perokok dengan kadar SOD yaitu sebesar  $44.45 \pm 16.60\%$  (Joshi *et al.*, 2020). Enzim SOD juga berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutase dari anion superoksida menjadi  $H_2O_2$  dan  $O_2$ . Enzim SOD melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Reaksi yang dikatalis SOD terjadi sangat cepat dan adanya kadar SOD di dalam sel dan jaringan dalam jumlah yang cukup dan seimbang akan menjaga konsentrasi anion superoksida ( $O_2^-$ ) (Raddam *et al.*, 2017). Proses fosforilasi dalam mitokondria menyebabkan 1 molekul  $O_2$  tereduksi oleh 4 elektron bersama-sama dengan ion  $H^+$  membentuk 2 molekul  $H_2O$  sedangkan ketika proses fosforilasi berlangsung tidak sempurna maka akan terbentuk senyawa radikal bebas (Lisdiana, 2021). Radikal bebas dapat menyerang molekul penting seperti DNA, protein dan lipid, radikal bebas juga dapat memperbanyak diri, sehingga akan menciptakan kerusakan yang signifikan dalam tubuh (Fitria *et al.*, 2013).

Penurunan kadar SOD pada kelompok perlakuan yang diberikan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan kadar rerata SOD paling rendah terjadi pada kelompok dengan pemberian kombinasi induksi aterosklerosis. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nasution *et al.*, (2017)

menyatakan bahwa tikus jantan galur wistar yang diberi injeksi inisial adrenalin 0,006 mg i.v. pada hari pertama, dilanjutkan dengan diet intermittent kuning telur 10 mg tiap dua hari sekali selama 30 hari didapatkan hasil bahwa rerata kadar kolesterol total, trigliserida, kolesterol LDL meningkat dan kadar kolesterol HDL menurun pada kelompok yang hanya diberikan induksi aterosklerosis, sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan radikal bebas dan menimbulkan stress oksidatif yang memicu terbentuknya plak aterosklerosis. (Nasution *et al.*, 2017). Penelitian lain yang dilakukan oleh Setiawan *et al.*, (2016) pada tikus kondisi hiperkolesterolemia dengan pemberian diet tinggi lemak menunjukkan kadar SOD paling rendah terdapat pada kelompok penelitian yang hanya diberikan diet tinggi lemak yaitu sebesar 79,23 U/ml dibandingkan dengan kelompok perlakuan dengan hasil kadar SOD sebesar 239,14 U/ml (Setiawan *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Sriyanti *et al.*, (2019) didapatkan hasil bahwa kadar rerata SOD pada orang yang mengalami obesitas pada kelompok kontrol lebih rendah yaitu sebesar  $0,42 \pm 0,12$  U/ml jika dibandingkan dengan orang yang mengalami obesitas yang diberikan intervensi perlakuan dengan hasil kadar SOD sebesar  $0,45 \pm 0,14$  U/ml (Sriyanti *et al.*, 2019). Penurunan rerata kadar SOD pada kelompok perlakuan dengan pemberian kombinasi induksi aterosklerosis sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nuruzzaman, (2019) tikus yang diberikan perlakuan dengan menggunakan induksi aterosklerosis secara kombinasi dengan diet tinggi lemak dan paparan *immobilization stress* dapat

menyebabkan peningkatan kadar MDA oleh karena banyaknya paparan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh tikus (Nuruzzaman, 2019).

Pemberian injeksi adrenalin menyebabkan timbulnya suatu stres fisik di dalam tubuh, adanya stress fisik menyebabkan gerakan otot yang cepat untuk membentuk metabolisme anaerobik di dalam tubuh. Tenaga yang dihasilkan berasal dari pemecahan ATP yaitu dari hasil pemecahan ADP atau AMP yang berlangsung di mitokondria. Pelepasan energi disertai dengan peningkatan aliran elektron dalam rangkaian respirasi mitokondria menyebabkan terbentuknya oksigen reaktif ( $O_2$ ) dan  $H_2O_2$  dan adanya upaya pembentukan ATP (Wahjuni, 2015). Stres fisik akan menyebabkan berkurangnya jumlah ATP dan meningkatnya jumlah ADP yang akan merangsang proses ADP katabolisme dan konversi *Xanthine dehydrogenase* menjadi *Xanthene oxidase*. *Xanthene oxidase* inilah akan membentuk radikal bebas ( $O_2^-$ ). Terbentuknya radikal bebas akan menyebabkan ketidakseimbangan yang disebut sebagai stress oksidatif dengan hasil akhir rusaknya lemak, protein, dan DNA (Wahjuni, 2015).

Komposisi injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak menyebabkan terjadinya kondisi hiperlipidemia. Hiperlipidemia meningkatkan pembentukan LDL dan trigliserida. Kondisi ini akan memicu terjadinya inflamasi di dalam tubuh (Sari *et al.*, 2019). Proses terjadinya inflamasi juga memiliki peran dalam peningkatan radikal bebas dan penurunan kadar antioksidan di dalam tubuh. Kondisi ketidakseimbangan pada proses reaksi reduktase ini dapat menyebabkan penurunan antioksidan atau terjadi stres oksidatif (Tazkia *et al.*,

2019). Mekanisme aterosklerosis akibat stress oksidatif diawali oleh terbentuknya peroksidasi lipid pada lapisan intima (sub endotel) yang kemudian bermigrasi ke sel endotel dan selanjutnya menyebabkan kerusakan sel endotel (disfungsi endotel) yang berdampak pada berkurangnya aktivitas sintesis, dan inaktivasi nitrit oksida. Pada sel endotel, lipid peroksidasi menginduksi adhesi leukosit endotel, mensekresi *monosit chemotactic protein-1* (MCP-1), dan *makrofag colony-stimulating factor* (M-CSF). Keadaan sel endotel mengalami disfungsi, sehingga LDL akan mudah masuk ke dalam lapisan intima (sub endotel), dan teroksidasi oleh enzim *15-lipooksigenase* atau iNOS menjadi bentuk LDL-teroksidasi (ox-LDL) yang dipicu oleh karena adanya ROS yang menangkap atom  $H^+$  maka akan terbentuk hidroperoksida lipid. Ox-LDL selanjutnya mengalami kemotaksis menuju monosit, sehingga monosit diambil dan diikat oleh sel endotel dengan perantara atau mediator beberapa molekul adhesi pada permukaan sel endotel, seperti *intercellular cell adhesion molecule-1* (ICAM-1), *endothelial leucocyte adhesion molecule-1* (ELAM-1), dan *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) untuk bermigrasi masuk ke dalam lapisan intima (sub endotel). Proses ini juga peran dari regulasi prostaglandin dan sitokin (Parwata, 2016). M-CSF memicu diferensiasi monosit menjadi jaringan makrofag. Ox-LDL tidak lagi dikenal oleh reseptor LDL, melainkan diambil oleh reseptor *scavenger* pada permukaan makrofag. Reseptor *scavenger* di atas permukaan makrofag memfasilitasi masuknya ox-LDL ke dalam semua sel, dan mentransfer makrofag yang berisi akumulasi lemak menjadi sel busa. Makrofag dan sel busa terus berkembang dengan

bantuan berbagai mediator inflamasi, seperti IL-4, IL-10, sitokin pro inflamasi membentuk plak fibrous pada lapisan intima dan mudah pecah (Wahjuni, 2015).



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan bahwa:

- 5.1.1. Terdapat perbedaan yang bermakna dari metode induksi aterosklerosis masing-masing kelompok, baik dengan menggunakan injeksi adrenalin, diet tinggi lemak, dan paparan asap rokok menunjukkan hasil yang signifikan terhadap kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*).
- 5.1.2. Rerata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok kontrol negatif (K(-)) yang hanya diberikan pakan standar dan air *ad libitum* selama 28 hari didapatkan hasil  $79,41 \pm 4,15\%$ .
- 5.1.3. Rerata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok perlakuan 1 (K1) yang diinduksi dengan injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak selama 28 hari didapatkan hasil  $39,70 \pm 2,08\%$ .
- 5.1.4. Rerata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok perlakuan 2 (K2) yang diinduksi paparan asap rokok selama 28 hari didapatkan hasil  $45,34 \pm 2,53\%$ .

- 5.1.5. Rerata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada tikus jantan galur wistar (*Rattus Norvegicus*) pada kelompok perlakuan 3 (K3) yang diinduksi injeksi adrenalin disertai diet tinggi lemak dan paparan asap rokok selama 28 hari didapatkan hasil  $35,29 \pm 4,26\%$ .

## 5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran terkait dengan keterbatasan penelitian ini adalah:

- 5.2.1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar konsentrasi *Superoxide Dismutase* (SOD) sampai dengan tahap jaringan dan membran sel
- 5.2.2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengukuran kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) pada sampel selain darah dan pengukuran secara langsung pada tingkat sel
- 5.2.3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan rokok mana yang lebih signifikan dapat menurunkan kadar *Superoxide Dismutase* (SOD).
- 5.2.4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui berapa persen kadar radikal bebas yang dapat menyebabkan penurunan kadar *Superoxide Dismutase* (SOD).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Rasheed, O. F., & Al-Rubayee, W. T. (2013). Effects of cigarette smoking on lipid peroxidation and antioxidant status in cancer patients from Western Nepal. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 12(1), 313–316.
- Adi, P. (2014). *Pencegahan dan Penatalaksanaan Aterosklerosis. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* (Ed I). Interna Publishing.
- Adyitia, A., Untari, E. K., & Wahdaningsih, S. (2014). Efek Ekstrak Etanol Daun Premna cordifolia terhadap Malondialdehida Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(2), 104–115. <https://doi.org/10.7454/psr.v1i2.3302>
- Alfatin, A. S. (2021). *Pengaruh Pemberian Suplemen Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L.) Terhadap Kadar Glutathione Peroksidase, Katalase dan Superoxide Dismutase (Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Herbisida Paraquat)*. Universitas Islam Sultan Agung.
- Ardiaria, M. (2019). Disfungsi Mitokondria dan Stress Oksidatif. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*, 7(3), 50–55.
- Arief, H., & Widodo, M. A. (2018). Peranan Stres Oksidatif pada Proses Penyembuhan Luka. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 5(2), 22. <https://doi.org/10.30742/jikw.v5i2.338>
- Arsana, P. M., M, A. M. A., & Soewondo, P. (2021). *Panduan Pengelolaan Dislipidemia di Indonesia*. PB PERKENI.
- Bahri, S., Alifatin, A., & Sunardi. (2015). Hubungan Antara Konsumsi Rokok Elektrik Dan Kejadian Hipertensi. *Health Research*.
- Dinas Kesehatan Jawa Tengah. (2021). Buku Saku Kesehatan Kerja Tahun 2021 Triwulan 1. *Pocket Consultant*, 3511351(24), 172–176.
- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. (2016). *Profil kesehatan Profinsi Jawa Tengah Tahun 2016*. 3511351(24), 1–112.
- Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular. (2019). *Buku Pedoman Manajemen Penyakit Tidak Menular*.
- Effendi, A. P. (2022). *Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (Persea americana M.) Terhadap Kadar MDA dan Kadar TNF- $\alpha$  (Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diberi Paparan Asap Rokok)*.
- Farahdika, A., & Azam, M. (2015). Faktor Risiko yang Berhubungan dengan Penyakit Jantung Koroner pada Usia Dewasa Madya (41-60 Tahun) (Studi Kasus di RS Umum Daerah Kota Semarang). *UJPH Unnes Journal of Public Health*, 4(2), 117–123. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ujph>
- Fitria, Triandita, R. I. N. K. R., Mangimbulude, J. C., & Karwur, F. F. (2013). Merokok dan Oksidasi DNA. *Sains Medika*, 5, 113–120.

<http://jurnal.unissula.ac.id/index.php/sainsmedika/article/view/352/291>

- Ghosh, R., & Deb, P. (2014). a Study on Antioxidant Properties of Different Bioactive Compounds. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 4(2), 105–115. <https://doi.org/10.22270/jddt.v4i2.772>
- Glantz, S. A., & Bareham, D. W. (2018). E-Cigarettes: Use, Effects on Smoking, Risks, and Policy Implications. *Physiology & Behavior*, 176(1), 139–148. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-040617-013757.E-Cigarettes>
- Gutowski, M., & Kowalczyk, S. (2013). A study of free radical chemistry: Their role and pathophysiological significance. *Acta Biochimica Polonica*, 60(1), 1–16. [http://www.actabp.pl/pdf/1\\_2013/1.pdf%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed11&NEWS=N&AN=23513192](http://www.actabp.pl/pdf/1_2013/1.pdf%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed11&NEWS=N&AN=23513192)
- Guyton, Hall, J. E., & C, A. (2016). *Guyton and hall textbook of medical physiology* (E. Ilyas Ibrahim (ed.); Revision). Elsevier Saunders.
- Held, P. (2015). An Introduction to Reactive Oxygen Species Measurement of ROS in Cells. *BioTek Instruments*, 1–14. <http://www.biotek.com/resources/articles/reactive-oxygen-species.html>
- Hininger-Favier, I., Osman, M., Roussel, A. M., Intes, L., & Montanari, B. (2016). Effets bénéfiques d'une supplémentation orale par le Glisodin, un extrait de melon combiné à de la gliadine, dans un modèle animal de stress oxydant induit par l'alimentation. *Phytotherapie*, 14(1), 29–34. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0928-4>
- Hunjri, A., & Rahmah, A. (2019). Jurnal Penelitian Efektivitas Rimpang Kunyit Terhadap Penurunan Risiko Aterosklerosis. *Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro, RW*, 10(1), 113–120. <http://jurnal.untad.ac.id/jurnal/index.php/preventif/index>
- Jannah, R., Widodo, Putri, J. F., Rhman, S., & Lukirasari, M. (2013). Pengukuran Kadar OX-LDL (Low Density Lipoprotein Oxidation) pada Penderita Aterosklerosis dengan Uji Elisa. *Biotropika*, 1(2), 62–65. <http://id.portalgaruda.org/index.php?ref=browse&mod=viewarticle&article=191356>
- Jenifer, H. D., Bhola, S., Kalburgi, V., Warad, S., & Kokatnur, V. M. (2015). The influence of cigarette smoking on blood and salivary super oxide dismutase enzyme levels among smokers and nonsmokersdA cross sectional study. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(2), 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.003>
- 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*, 19–23. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2020/45948.14138>
- Kahnamoei, J. R., Maleki, F., & Nasirzadeh, M. R. (2014). The effects of cigarette

- smoking on plasma MDA and TAC in university students. *Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences*, 4(3), 329–333. <http://www.cibtech.org/J-LIFE-SCIENCES/PUBLICATIONS/2014/Vol-4-No-3/JLS-046-054-RAHMANI-THE-STUDENTS.pdf>
- Karam, I., Ma, N., Yang, Y.-J., & Li, J.-Y. (2018). Induce Hyperlipidemia in Rats Using High Fat Diet Investigating Blood Lipid and Histopathology. *Journal of Hematology and Blood Disorders*, 4(1), 1–5. <https://doi.org/10.15744/2455-7641.4.104>
- Kattoor, A. J., Goel, A., & Mehta, J. L. (2019). LOX-1: Regulation, signaling and its role in atherosclerosis. *Antioxidants*, 8(7), 1–15. <https://doi.org/10.3390/antiox8070218>
- Khasanah, Z. (2018). Pengaruh Pemberian Jus Tomatm (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Terhadap Kadar Melondialdehida (MDA) Dan Gambaran Histologi Pembuluh Darah Jantung Mencit (*Mus musculus*) Yang Dipapar Adap Rokok. *Skripsi*, 13620084, 24.
- Krisnawati, D. I. (2017). Efek Hipoglykemia 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>
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2013). *Robbins Basic Pathology* (E. C. Klatt, R. Kumar, & R. N. Mitchell (eds.); 9th ed.). Elsevier Saunders.
- Kunaedi, A., & Nur, S. (2018). Uji Hipoksia Asap Rokok Tembakau Dan Rokok Elektrik Terhadap Mencit Putih Jantan ( *Mus musculus* ) Hypocsia Test Of Tobacco Cigarettes And Electric Cigarettes On White Male Mice ( *Mus musculus* ). *Medical Sains*, 3(1), 43–50.
- Kusumastuty, I., Falahia, E., & Adi, P. (2014). Effect of Purple Sweet Potato Leaves on Superoxide Dismutase Level on Rats Exposed To Cigarette Smoke. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 1(2), 128–134.
- Lisdiana. (2021). *Pengaruh Smoking dan Vaping terhadap Kadar Antioksidan Endogen pada Darah Tikus* (F. K. Toharoh (ed.); 1st ed.). LPPM UNNES.
- Malaeny, C., Katuuk, M., & Onibala, F. (2017). Hubungan Riwayat Lama Merokok Dan Kadar Kolesterol Total Dengan Kejadian Penyakit Jantung Koroner Di Poliklinik Jantung Rsu Pancaran Kasih Gmim Manado. *Jurnal Keperawatan UNSRAT*, 5(1), 111644.
- 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.
- Maulana, A., Lestari, R. D., & Damayanti, D. S. (2019). Efek Infusa Daun Sirsak ( *Annona muricata* ) pada Kadar LDL dan HDL Serum Tikus Wistar ( *Rattus norvegicus* ) yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 7(1), 117–123.

- Moghadamtousi, S. Z., Rouhollahi, E., Hajrezaie, M., Karimian, H., Abdulla, M. A., & Kadir, H. A. (2015). *Annona muricata* leaves accelerate wound healing in rats via involvement of Hsp70 and antioxidant defence. *International Journal of Surgery*, 18, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.ijisu.2015.03.026>
- Nasution, F. M., Mardia, R. S., Azri, A., Hutabarat, R. R., Izza, F. A., & Asfur, R. (2017). Pengaruh pemberian ekstrak tinta cumi (squid ink) terhadap aterosklerosis. *Jurnal E-Biomedik*, 5(2). <https://doi.org/10.35790/ebm.5.2.2017.16612>
- Negoro, S. H. (2017). Pembentukan Sikap Oleh Perokok Remaja Melalui Peringatan Bahaya Merokok Pada Kemasan Rokok. *Interaksi: Jurnal Ilmu Komunikasi*, 5(2), 112. <https://doi.org/10.14710/interaksi.5.2.112-122>
- Notoatmodjo, P. D. S. (2012). *Metodologi Penelitian Kesehatan* (Cetakan 2). Rineka Cipta.
- Novidiyanto, Farmawati, A., & Lestari, L. A. (2016). Pengaruh pemberian kecambah kacang hijau (*Phaseolus radiatus* (L.)) terhadap kadar malonaldehid (MDA) plasma dan jaringan hati tikus Sprague Dawley yang diberi pakan lemak tinggi. 13(2), 82–89.
- Nuruzzaman, M. F. (2019). *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Mda Pankreas Dan Histopatologi Pankreas Tikus Putih (Rattus Novergicus) Yang Diberi Paparan Immobilization Stress*. Universitas Brawijaya.
- OECD. (2018). *Test No. 412: Subacute Inhalation Toxicity: 28-Day Study*. <https://doi.org/https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264070783-en>
- Oktaviani, H., Kariada, N., & Utami, N. R. (2012). Pengaruh Pengasinan Terhadap Kandungan Zat Gizi Telur Bebek yang Diberi Limbah Udang. *Unnes Journal of Life Science*, 1(2), 106–112. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/UnnesJLifeSci>
- Parwata, M. O. A. (2016). Antioksidan. *Kimia Terapan Program Pascasarjana Universitas Udayana*, April, 1–54.
- Porwal, V., Khandelwal, S., Jain, D., & Gupta, S. (2016). Histological classification of atherosclerosis and correlation with ischemic heart disease: A autopsy based study. *Annals of Pathology and Laboratory Medicine*, 3(2), A100–A104.
- Pratiwi, A., Mustofa, S., & Susantiningsih, T. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 95% Cabai Jawa (*Piper refractum* Vahl.) Terhadap Kadar HDL. 1–8.
- Prochnow, J. A. (2017). E-cigarettes: A Practical, Evidence-based Guide for Advanced Practice Nurses. *Journal for Nurse Practitioners*, 13(7), 449–455. <https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2017.03.015>
- Puspitasari, M. L., Wulansari, T. V., Widyaningsih, T. D., & Mahar, J. (2016). Aktivitas Antioksidan Suplemen Herbal Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Pangan Dan Agroindustri*, 4(1),

283–290.

- Raddam, Q. N., Zeidan, M. M., Asaad, N. K., & Abdulrahman, M. A. (2017). Smoking Effects on Blood Antioxidants Level: Lactate Dehydrogenase, Catalase, Superoxide Dismutase and Glutathione Peroxidase in University Students. *Journal of Clinical & Experimental Pathology*, 07(06). <https://doi.org/10.4172/2161-0681.1000331>
- Rahmayanti, I., & Hanriko, R. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Black Garlic (*Allium sativum*) Sebagai Penghambat Aterosklerosis yang Diinduksi Minyak Jelantah. *Jurnal Medika Hutama*, 02(01), 402–406.
- Roslizawaty, Rusli, Nazaruddin, Syafruddin, Bangun, I. S., & Jumaidar. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap Peningkatan Aktivitas Enzim Lipoprotein Lipase (LPL) dan Perbaikan Histopatologis Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 10(1), 77–81.
- Saggu, T. K., Masthan, K., Dudanakar, M. P., & Nisa, S. U. (2012). Evaluation of Salivary Antioxidant Enzymes among Smokers and Nonsmokers. *World Journal of Dentistry*, 3(1), 18–21. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10015-1121>
- Saraswati, R. A., Maharani, N., & Utomo, A. W. (2018). Pengaruh ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap kadar enzim superoxide dismutase (SOD) tikus yang diinduksi minyak jelantah. *Astika Widy Utomo JKD*, 7(2), 1511–1519.
- Sari, E. D., Falyani, S. A., & Damayanti, D. S. (2019). Efek Air Daun Sirsak (*Annona muricata*. L) Terhadap Kadar SGOTc dan SGPT Serum Serta Jumlah Nekrosis Sel Hepar Tikus Model Hiperlipidemia. *Jurnal Kedokteran Komunitas*, 1, 1–10. [riset.unisma.ac.id](http://riset.unisma.ac.id)
- Septiawati, A. (2013). *Pengaruh Ekstrak Etanol Umbi Uwi Ungu (*Dioscorea alata*) Terhadap Kadar TNF - Mencit Model Alergi.*
- Setiawan, D. I., Tjahyono, K., & Afifah, D. N. (2016). Pemberian kecambah kacang kedelai terhadap kadar malondialdehid (MDA) dan superoxide dismutase (SOD) tikus Sprague Dawley hiperkolesterolemia. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 13(1), 20. <https://doi.org/10.22146/ijcn.22815>
- Setyanda, Y. O. G., Sulastri, D., & Lestari, Y. (2015). Hubungan Merokok dengan Kejadian Hipertensi pada Laki-Laki Usia 35-65 Tahun di Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 4(2), 434–440. <https://doi.org/10.25077/jka.v4i2.268>
- Simatauw, A. Z., & Unitly, A. J. A. (2019). Gambaran Siklus Estrus Tikus *Rattus Norvegicus* yang Terpapar Asap Rokok setelah diterapi Ekstrak Etanol Rumput Kebar. *Ramphus Pattimura Biological Journal*, 1(1), 1–7.
- Sriyanti, S., Damayanthi, E., & Anwar, F. (2019). Status Antioksidan dan Oksidatif Laki-laki yang Mengalami Kegemukan dengan Pemberian Minuman Rosela Ungu. *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 7(2), 76–

85. <https://doi.org/10.14710/jgi.7.2.75-85>

- Suryadinata, R. V., Wirjatmadi, B., & Adriani, M. (2017). Efektivitas Penurunan *Malondialdehyde* dengan Kombinasi Suplemen Antioksidan *Superoxide Dismutase* Melon dengan Gliadin Akibat Paparan Asap Rokok. *Global Medical & Health Communication (GMHC)*, 5(2), 79. <https://doi.org/10.29313/gmhc.v5i2.1860>
- Sutejo, I. R., Rasyada, I., & Yuniar, A. (2017). Aktivitas Antihiperlipidemi dan Ateroprotektif Ekstrak Etanol Daun Kepuh (*Sterculia foetida*) pada Tikus yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak Antihiperlipidemi and Atheroprotective activity of Kepuh (*Sterculia foetida*) Leaves Ethanolic Extract on High-Fat-Diet. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 3(1), 44–49.
- Tazkia, R., Amalia, Y., & Damayanti, D. S. (2019). The Effects of Soursop (*Annona Muricata*) Leaves Water Extract in SOD and MDA Hepar Levels of Wistar Rats Induced High Fat and High Fructose Diet. *Jurnal Biokomplementer Medicine*, 6(3), 1–8. [riset.unisma.ac.id](http://riset.unisma.ac.id)
- Thrisnadia, S., Damayanti, D. S., & Falyani, S. A. (2019). Efek Ekstrakair Daun Sirsak (*Annona muricata*L.) Terhadap Kadar Superoxide Dismutase (SOD) dan Malondialdehida (MDA) Jaringan Ginjal Kanan Tikus Wistar yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa. *Bio Komplementer Medicine*, 6(3). [riset.unisma.ac.id](http://riset.unisma.ac.id)
- Tolik, D., Ewa, P., Charuta, A., Sebastian, N., & Cooper, R. (2014). Characteristics of Egg Parts, Chemical Composition and Nutritive Value of Japanese Quail Eggs – a Review. *Folia Biologica (Kraków)*, 62(2), 135–142. <https://doi.org/10.3409/fb62>
- Wahjuni, S. (2015). *Superoksida Dismutase ( SOD ) Sebagai Prekursor Antioksidan Endogen Pada Stress Oksidatif* (I. H. Utama (ed.); 1st ed.). Udayana University Press.
- Werdhasari, A. (2014). Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), 59–68.
- WHO. (2018). *Noncommunicable Diseases Country Profiles 2018*. In World Health Organization.
- Widarta, I. wayan R. (2018). Teknologi Telur. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Widayati, E., Hikma, A. S., & Wahyuningsih, H. (2020). *Efek Diet Tinggi Karbohidrat, Diet Zone, dan Restriksi Kalori Terhadap Interleukin-1, Apoptosis, dan Sel. September.*
- Widyaningsih, W., Sativa, R., & Primardiana, I. (2015). Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Ganggang Hijau (*Ulva lactuca* L.) Terhadap Kadar Melondiadehid (MDA) dan Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Tikus yang Diinduksi CCl<sub>4</sub>. *Media Farmasi*, 12(2), 163–175.
- Wulandari, E. (2016a). Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kadar MDA

dan SOD Tikus yang Dipapar Asap Rokok. In *Universitar Negeri Semarang: Vol. Semarang*.

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

Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish Publisher.

<https://books.google.co.id/books?id=QRxmDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Pe%0Angantar+Radikal+Bebas+dan+Antioksidan&hl=en&sa=X&ved=0ahUKEwi2hL7P6-%0AnkAhXJdn0KH1ZDSIQ6AEIKzAA#v=onepage&q=Pengantar Radikal Bebas%0A dan Antioksidan&f=false>

