

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BEKATUL BERAS MERAH  
TERHADAP PERUBAHAN DIAMETER LUMEN ARTERI KORONARIA  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG  
DIINDUKSI PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK**

**( Skripsi )**

**Oleh  
Ocsi Zara Zettira**



**UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BEKATUL BERAS  
MERAH TERHADAP PERUBAHAN DIAMETER LUMEN  
ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)  
JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI  
PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK**

Oleh

Ocsi Zara Zettira

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Lulus Sarjana Kedokteran

Pada

Fakultas Kedokteran  
Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## ABSTRACT

### THE EFFECT OF RED RICE BRAN EXTRACT ON CHANGES IN LUMEN DIAMETER OF CORONARY ARTERY OF MALE WHITE RAT (*Rattus Novergicus*) *Sprague dawley* STRAIN INDUCED EXPOSURE TO CLOVE CIGARETTE SMOKE

By

OCSI ZARA ZETTIRA

**Background:** Smoking for some Indonesians is regarded as a lifestyle without knowing that cigarettes are a source of oxygen free radicals that are harmful to the heart's organs through the effects of oxidative stress generated. therefore, to fight the oxidative stress is needed antioxidants, one of which comes from rice bran.

**Objective:** The aim of this research is to know the effect of red rice bran extract on changes in lumen diameter of coronary artery.

**Method:** Experimental research using 25 rats divided into 5 groups i.e K (-) not treated, K (+) exposed to cigarette smoke, P1 exposed to cigarette smoke and ethanol extract of rice bran at red dose 100mg / kgBB, P2 exposed to cigarette smoke and rice bran ethanol extract dose 200mg / kgBB and P3 given exposure to cigarette smoke and ethanol extract rice bran rice 400mg / kgBB. Treatment was carried out for 30 days. data were analyzed by One Way Anova Test.

**Result:** The results showed that there was an effect of red rice bran ethanol extract on changes in diameter of coronary artery lumen ( $p = 0,00$ ). the mean diameter of the coronary artery lumen K (+), K (-), P1, P2, and P3 were  $56,12 \pm 0,65$ ,  $38,46 \pm 0,82$ ,  $66,94 \pm 2,82$ ,  $79,71 \pm 5,35$ ,  $101,83 \pm 7,46$ .

**Conclusion:** There was an effect of red rice bran extract on changes in diameter of coronary artery lumen.

Keywords: cigarettes, free radicals, red rice bran extract.

## ABSTRAK

### PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP PERUBAHAN DIAMETER LUMEN ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK

Oleh

OCSI ZARA ZETTIRA

**Latar Belakang:** Merokok untuk sebagian masyarakat Indonesia dianggap sebagai gaya hidup tanpa mengetahui bahwa rokok merupakan sumber radikal bebas eksogen yang berbahaya bagi organ jantung melalui efek stress oksidatif yang dihasilkan. Oleh sebab itu, untuk melawan stress oksidatif tersebut maka diperlukan antikoksidan yang salah satunya berasal dari bekatul beras merah.

**Tujuan :** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria

**Metode:** Penelitian eksperimental dengan menggunakan 25 ekor tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu K(-) tidak diberi perlakuan, K(+) diberi paparan asap rokok, P1 diberi paparan asap rokok dan ekstrak etanol bekatul beras merah dosis 100 mg/KgBB, P2 diberi paparan asap rokok dan ekstrak etanol bekatul beras merah dosis 200 mg/KgBB dan P3 diberi paparan asap rokok dan ekstrak etanol bekatul beras merah dosis 400 mg/KgBB. Perlakuan dilakukan selama 30 hari. Data dianalisis dengan uji *One Way Anova*.

**Hasil:** Hasil menunjukkan terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria ( $p=0,00$ ). Rerata diameter lumen arteri koronaria K(-), K(+), P1, P2 dan P3 adalah  $56,12\pm 0,65$ ,  $38,46\pm 0,82$ ,  $66,94\pm 2,82$ ,  $79,71\pm 5,35$ ,  $101,83\pm 7,46$ .

**Simpulan:** Terdapat pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria.

Kata kunci: ekstrak bekatul beras merah, radikal bebas, rokok.



**Judul Skripsi** : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP PERUBAHAN DIAMETER LUMEN ARTERI KORONARIA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI PAPARAN ASAP ROKOK KRETEK**

**Nama Mahasiswa** : Ocsi Zara Zettira

**No. Pokok Mahasiswa** : 1418011158

**Program Studi** : Pendidikan Dokter

**Fakultas** : Kedokteran



**Prof. Dr. dr. Efrida Warganegara, S.Ked., M.Kes., Sp.MK.** dr. **Hanna Mutiara, S.Ked., M.Kes.**  
NIP. 19501223 197710 2 001 NIP. 19820715 200812 2 004

**MENGETAHUI**

**2. Dekan Fakultas Kedokteran**

**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA**

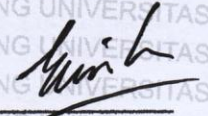
NIP. 19701208 200112 1 001



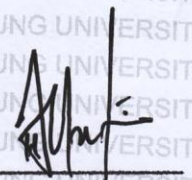
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

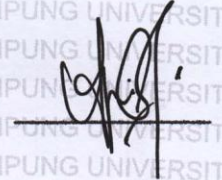
**Ketua : Prof. Dr.dr. Efrida Warganegara, S.Ked., M.Kes., Sp.MK.**



**Sekretaris : dr. Hanna Mutiara, S.Ked., M. Kes.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : dr. Ety Apriliana, S.Ked., M.Biomed.**



**2. Dekan Fakultas Kedokteran**



**Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA  
NIP. 19701208 200112 1 001**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Januari 2018**

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bekatul Beras Merah terhadap Perubahan Diameter Lumen Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan galur *Sprague dawley* yang Diinduksi Paparan Asap Rokok Kretek adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut dengan plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 29 Januari 2018

Pembuat pernyataan,



Ocsi Zara Zettira

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Lampung Selatan pada tanggal 16 Oktober 1996, sebagai anak kedua dari dua bersaudara. Penulis merupakan anak dari Hendra Gunawan dan Ibu Siti Aisyah .

Pendidikan Taman kanak-kanak penulis di TK Al-Kautsar Bandar Lampung ditempuh selama satu tahun dan diselesaikan pada tahun 2002. Pendidikan Sekolah Dasar penulis dijalani di SD Al-Kautsar Bandar Lampung dan diselesaikan pada tahun 2008. Pendidikan dilanjutkan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 8 Bandar Lampung serta dapat diselesaikan pada tahun 2011. Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 2014.

Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama aktif menjadi mahasiswa, penulis mengikuti beberapa kegiatan organisasi yang terdapat di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penulis tercatat sebagai Anggota tetap LUNAR Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2014.



## **Bismillahirrahmanirrahim**

“ Sebuah persembahan sederhana dari anakmu tercinta untukmu. Yang dibesarkan dengan kasih dan sayangmu. Aku bersyukur kepada Allah SWT telah dititipkan kepadamu. Orang tua yang tak pernah berhenti berdoa dan melakukan yang terbaik untuk anak-anaknya. Terimakasih Papaku, Mamaku”

“Dan sesungguhnya yang kemudian itu lebih baik bagi-mu daripada yang permulaan (Q.S. Ad-Duha [93:4])

## SANWACANA

Puji serta syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya selama pelaksanaan penyusunan skripsi ini hingga skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bekatul Beras Merah terhadap Perubahan Diameter Lumen Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan galur *Sprague dawley* yang Diinduksi Paparan Asap Rokok Kretek” dapat diselesaikan.

Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak sekali bantuan, saran, bimbingan, masukan, serta kritikan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp. PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Prof. Dr. dr. Efrida Warganegara, S.Ked., M.Kes., Sp.MK. selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, ilmu, nasihat, saran, motivasi, kritik serta selalu memberikan catatan pengingat yang dapat membangun selama penyusunan skripsi ini;

4. dr. Hanna Mutiara, S.Ked., M.Kes. selaku Pembimbing Kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan bimbingan, ilmu, nasihat, saran, motivasi serta selalu memberikan catatan pengingat dalam penulisan skripsi ini,
5. dr. Ety Aprilia, S.Ked., M. Biomed. selaku Penguji Utama (Pembahas) yang telah meluangkan waktu, memberikan saran, ilmu, nasihat serta kritik yang dapat membangun dalam penyusunan skripsi ini;
6. dr. Roro Rukmi Windi Perdani, S.Ked., M.Kes., Sp.A sebagai Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran serta ilmu yang telah bermanfaat selama ini;
7. Terima kasih kepada Ibu Nuriah dan Mbak Yani, atas seluruh bantuan dan bimbingan kepada saya dan tim selama di Laboratorium Biomol Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
8. Terima kasih kepada Mas Bayu atas seluruh bantuan dan bimbingan kepada saya dan tim selama di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
9. Seluruh staf dosen dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan waktu yang telah diberikan selama perkuliahan;
10. Terima kasih sebesar-besarnya kepada Papa Hendra Gunawan dan Mama Siti Aisyah tercinta untuk setiap doa, perhatian, dukungan, nasihat, kasih sayang yang telah diberikan untuk Tira dan Cici. Terima kasih telah mengingatkan untuk selalu mengingat Allah swt., terima kasih karena mama papa sudah selalu mengajarkan Tira dan Cici untuk selalu bersyukur, dan terima kasih sudah memberikan bekal dunia akhirat yang berharga dan



motivasi terbesar dalam hidup Tira. Semoga Allah swt. selalu melindungi mama papa serta memberikan kesehatan dan kebahagiaan dunia maupun akhirat;

11. Terima kasih kepada kakakku tercinta dan tersayang Lola Navirillia Pancarani atas doa, motivasi, dukungan, konsultasi dan semangat selama ini dalam menggapai cita-cita;
12. Terima kasih kepada kakekku Muhammad Alim, nenekku Maimunah, Uyutku Hj. Nursiah, Om Udin, Om Uki, Om Uji, Om Aceng, dan Om Makmur untuk setiap doa, dukungan, motivasi, dan semangat selama ini;
13. Terima kasih kepada kak Pidie, kak Riko, Diah, dan mama serta papa kak Pidie yang telah memberikan doa, dukungan, dan semangatnya selama ini;
14. Terima kasih untuk sahabatku dan saudaraku tercinta Nabila Aninditya yang selalu setia menemani, memberi motivasi, perhatian, dan semangatnya selama ini;
15. Terima kasih untuk tim penelitian terhebat dan tersolid Nandya, Leni dan Nana atas doa, dukungan, tenaga, kebersamaan, dan kerjasama selama ini;
16. Terima kasih untuk teman-teman Kampus Hijau Residence (Tia, Lulu, Nana, Leni, Osy, Ratu, dan Vika) untuk segala kebaikannya;
17. Terima kasih untuk Ade Triajayanti dan Sarah Nabila Istiqomah dengan kebaikan dan ketulusannya dalam membantu menyelesaikan skripsi ini;
18. Terima kasih untuk teman-teman CRAN14L yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu. Terima kasih atas suka, duka, dan kebersamaan selama 3,5 tahun, semoga kita dapat menjadi dokter yang amanah bagi siapapun dan selalu mengingat Sumpah Dokter untuk selamanya.

Semua yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu, terima kasih atas doa dan dukungan kalian. Penulis menyadari jika masih banyak kekurangan dalam pembuatan skripsi ini. Namun penulis berharap, skripsi yang jauh dari kata sempurna ini tetapi dikerjakan dengan penuh semangat ini, dapat bermanfaat untuk kita semua. Terima kasih.

Bandar Lampung, 29 Januari 2018

Penulis,

Ocsi

Zara

Zettira

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
 <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
 <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Jantung.....	7
2.1.1 Anatomi Jantung .....	7
2.1.2 Fisiologi Jantung .....	8
2.1.3 Histologi Jantung.....	9
2.2 Arteri Koronaria .....	10
2.2.1 Anatomi Arteri Koronaria .....	10
2.2.2 Fisiologi Arteri Koronaria .....	11
2.2.3 Histologi Arteri Koronaria .....	12
2.2.4 Histopatologi Arteri Koronaria .....	13
2.3 Rokok .....	15
2.3.1 Profil Rokok .....	15
2.3.2 Pengertian dan Kandungan Rokok .....	16
2.3.3 Jenis Rokok .....	18
2.3.4 Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Lumen Arteri Koronaria .	19
2.4 Metabolisme Lipid .....	22
2.5 Peroksida Lipid.....	24



2.6 Radikal Bebas.....	27
2.7 Antioksidan .....	27
2.8 Bekatul.....	30
2.8.1 Toksonomi.....	30
2.8.2 Kandungan Nutrisi Bekatul .....	31
2.8.3 Bekatul Sebagai Antioksidan .....	32
2.9 Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Galur Sprague Dawley .....	34
2.10 Kerangka Teori .....	36
2.11 Kerangka Konsep .....	37
2.12 Hipotesis Penelitian.....	37

### **BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN**

3.1 Desain Penelitian .....	38
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	38
3.3 Subyek Penelitian .....	39
3.3.1 Populasi .....	39
3.3.2 Sampel Penelitian.....	39
3.3.3 Kriteria Inklusi dan Eklusi.....	41
3.4 Alat dan Bahan .....	42
3.4.1 Alat .....	42
3.4.2 Bahan Penelitian.....	43
3.5 Prosedur Penelitian.....	44
3.5.1 Pemilihan Hewan Coba .....	44
3.5.2 Aklamatisasi Hewan Coba .....	44
3.5.3 Pembuatan Ekstrak Bekatul .....	45
3.5.4 Induksi Paparan Asap Rokok Kretek .....	47
3.5.5 Terminasi Hewan Coba .....	48
3.5.6 Prosedur Pengambilan Bagian Arteri Koronaria.....	49
3.5.7 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat .....	49
3.6 Identifikasi Variabel Operasional.....	50
3.6.1 Identifikasi Variable .....	50
3.7 Definisi Operasional Variabel Penelitian .....	51
3.8 Rancangan Analisis Data .....	51
3.9 Etika Penelitian .....	52
3.10 Alur Penelitian.....	54

### **BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Penelitian.....	55
4.1.1 Hasil pengamatan diameter lumen arteri koronaria tikus.....	55
4.1.2 Uji statistik diameter lumen arteri koronaria.....	59
4.2 Pembahasan.....	61

**BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Simpulan.....65  
5.2 Saran.....65

**DAFTAR PUSTAKA.....66**

**LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Bioaktif Bekatul Beras Merah dengan Pelarut Etanol 96%.....	32
2. Kandungan Bioaktif Bekatul Beras Merah dengan metode analisis RP-HPLC.....	32
3. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Bekatul.....	33
4. Definisi Operasional Variabel.....	51
5. Rerata Diameter Lumen Arteri Koronaria.....	56
6. Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk.....	59
7. Hasil Uji <i>Post Hoc Tamhane's</i> .....	60



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Potongan Longitudinal Jantung.....	8
2. Arteri Koronaria dari Pandangan Anterior.....	11
3. Histologis Arteri Koronaria.....	13
4. Rokok dan Kandungannya.....	18
5. Peranan LDL dalam Proses Aterosklerosis.....	22
6. Mekanisme Rokok Menyebabkan Peroksidasi Lipid.....	25
7. Bekatul Beras Merah.....	30
8. Struktur Bekatul di Dalam Padi.....	31
9. Tikus Rattus norvegicus galur Sprague dawley.....	35
10. Kerangka Teori.....	36
11. Kerangka Konsep.....	37
12. Smoking Chumber.....	48
13. Alur Penelitian.....	54
14. Gambar Arteri Koronaria dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin (Pembesaran 400x).....	57

## **DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran 1. Surat Etik Penelitian
- Lampiran 2. Data Hasil Diameter Lumen Arteri Koronaria
- Lampiran 3. Foto Hasil Penelitian Diameter Lumen Arteri Koronaria
- Lampiran 4. Hasil Uji Normalitas Diameter Lumen Arteri Koronaria
- Lampiran 5. Hasil Uji One Way Anova Pada Setiap Kelompok
- Lampiran 6. Foto Kegiatan Selama Penelitian
- Lampiran 7. Sertifikat Tikus Putih Galur Sprague dawley
- Lampiran 8. Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Merokok untuk sebagian besar masyarakat Indonesia masih dianggap sebagai perilaku yang wajar dan menjadi gaya hidup tanpa memahami risiko serta bahaya kesehatan terhadap dirinya maupun orang lain di sekitarnya (Ema, Mulyanti, dan Sumbara 2014). Data dari *Global Adult Tobacco Survey* yang dilakukan oleh World Health Organization (WHO) tahun 2011 menyatakan bahwa Indonesia merupakan negara dengan jumlah perokok terbanyak ketiga setelah China dan India serta menempati peringkat pertama dibandingkan negara lain di Asia Tenggara. Jumlah perokok di Indonesia sebanyak 65 juta orang atau 28% penduduk, artinya dari setiap 4 orang penduduk Indonesia terdapat seorang perokok (Cancer Helps, 2013) dan remaja adalah penyumbang angka perokok terbanyak di Indonesia menurut *Global Youth Tobacco Survey* tahun 2014.

Berdasarkan hasil Riskesdas pada tahun 2013 didapatkan bahwa proporsi perokok di Indonesia saat ini adalah 29,3%, dengan proporsi tertinggi di kepulauan Riau yaitu 27,2 %. Lampung sendiri memiliki angka yang tidak jauh beda dengan Kepulauan Riau yaitu sebesar 26,5% (Kemenkes RI, 2013). Setiap



harinya sekitar 15 milyar rokok terjual dan diperkirakan tahun 2025 di Indonesia terdapat 5.675.700 orang dengan usia mulai dari 15 tahun merokok setiap harinya (WHO, 2015). Rokok yang paling banyak di konsumsi adalah rokok kretek yakni sebesar 80,4% (WHO, 2011). Rokok kretek yang dijual di Indonesia mengandung 1,9-2,76 mg nikotin dan 34-65 mg tar per batang, sedangkan rokok putih mengandung 0,05-1,4 mg nikotin dan 0,5-24 mg tar per batang. Rokok kretek berpotensi menghasilkan asap yang lebih banyak dibandingkan dengan rokok putih (Susanna, Hartono, dan Fauzan, 2003).

Sebatang rokok mengandung lebih dari tujuh ribu zat kimia yang sebagian besar dari zat kimia tersebut memiliki sifat beracun dan merusak sel organ tubuh (CDC, 2010). Asap dari rokok merupakan sumber radikal bebas eksogenus yang memiliki sifat reaktivitas tinggi (Mangimbulude dan Karwur, 2013). Asap rokok tersebut dapat merusak biomolekul di dalam tubuh. Jika terjadi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan yang disebut dengan stres oksidatif maka dapat menimbulkan peroksidasi lipid pada dinding sel termasuk sel endotel sehingga memicu terjadinya gangguan endothelial yang akan mengakibatkan terjadi aterosklerosis (Baraas, 2006).

Pada umumnya, seorang perokok akan menghisap sebanyak 4000 bahan kimia dan 200 diantaranya beracun antara lain nikotin, tar, dan karbon monoksida (CO) yang merupakan komponen utama asap rokok dan berhubungan erat dengan penyakit jantung. Nikotin menyebabkan terjadinya lipolisis (pemecahan lemak yang melibatkan hidrolisis trigliserida) dengan

menghasilkan pelepasan asam lemak bebas yang kemudian akan diambil oleh hati dan disekresi dalam sirkulasi sebagai Very Low Density Lipoprotein (VLDL). Kemudian dalam sirkulasi, trigliserida dalam VLDL akan mengalami hidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase* (LPL) sehingga VLDL berubah menjadi Intermediate Density Lipoprotein (IDL) yang juga akan mengalami hidrolisis dan berubah menjadi Low Density Lipoprotein (LDL) (Adam, 2007; Bano dan Saeed, 2014). LDL memiliki diameter yang kecil dan padat sehingga mudah teroksidasi. LDL yang teroksidasi dapat menyebabkan timbulnya lesi aterosklerotik yang menyebabkan lumen pembuluh darah semakin kecil. Tersumbatnya pembuluh darah oleh lesi aterosklerotik ini disebut aterosklerosis yang merupakan salah satu penyakit yang berhubungan dengan jantung (Valavanidis, 2009).

Untuk mencegah kerusakan dinding pembuluh darah karena efek dari radikal bebas (ROS) tersebut maka kadar antioksidan dalam tubuh harus ditingkatkan. Saat ini terdapat beragam jenis antioksidan, salah satunya adalah bekatul beras merah. Bekatul sebagai hasil samping penggilingan padi diperoleh dari lapisan luar karyopsis beras. Pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa bekatul diyakini banyak mengandung antioksidan (Wulandari, 2011). Bekatul beras merah memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dibandingkan dengan bekatul beras hitam maupun bekatul beras putih. Bekatul beras merah mengandung antioksidan utama yaitu vitamin E (tokoferol dan tokotrienol) dan  $\gamma$ -oryzanol sebesar 88,07% (Dewi dan Indisari, 2011; Widarta *et al.*, 2013).

Penggunaan bekatul dalam kehidupan sehari-hari sangat bervariasi yakni sebagai bahan bakar, bahan makanan, pupuk, obat-obatan, sabun dan pakan. Selain itu, bekatul juga dapat digunakan untuk minyak salad, bahan baku kosmetik dan suplemen kesehatan (Nursalim dan Razali, 2007). Bekatul yang digunakan sebagai bahan baku pangan yakni sebagai bahan pencampur pada pembuatan biskuit dan kue, diawetkan dengan ekstruder sebagai sarapan sereal, dan sebagai minuman yang kaya akan sumber vitamin B15 dalam bentuk kapsul (Damayanthi, 2001). Dalam berbagai industri lainnya, minyak bekatul yang tidak termurnikan dapat dimanfaatkan untuk produksi sabun dari asam lemak sedangkan minyak bekatul murni dapat digunakan sebagai pupuk pengganti insektisida, industri tekstil, dan kulit (Nursalim dan Razali, 2007).

Vitamin E dalam bekatul merupakan vitamin larut dalam lemak yang termasuk dalam antioksidan sekunder. Mekanisme kerja vitamin E bersifat memutus rantai lemak kemudian setelah rantai lemak terputus maka lemak akan mudah dikenali dan akan dibawa oleh HDL ke hati dan sisanya diubah menjadi energi atau difungsikan kembali sebagai antioksidan. Tokoferol merupakan isomer vitamin E larut lemak paling potensial. Selain tokoferol, tokotrienol, dan  $\gamma$ -oryzanol, terdapat antosianin yang hanya ditemukan pada beras merah dan hitam yang berfungsi sebagai antioksidan (Nashriana, 2015). Pada penelitian Laili, Taufiqurrachman, dan Eni tahun 2016 dikatakan bahwa kadar antioksidan bisa diukur salah satunya dengan menggunakan Total Antioxidant Status (TAS). Berdasarkan penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa dosis

200 mg/kgBB memiliki Total Antioxidant Status (TAS) paling tinggi dibandingkan dosis yang lainnya.

Berdasarkan dari efek negatif yang ditimbulkan oleh asap rokok dan efek positif dari antioksidan yang terkandung dalam bekatul beras merah maka peneliti ingin menghubungkan efek dari kandungan antioksidan bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri karonaria pada hewan percobaan yang terpapar asap rokok kretek.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis merumuskan masalah yaitu apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi paparan asap rokok kretek?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi paparan asap rokok kretek.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

### 1. Bagi peneliti

Mendapatkan pengetahuan dan pengalaman dari melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah dalam perubahan diameter lumen arteri koronaria tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok kretek

### 2. Bagi masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat khususnya perokok mengenai efek negatif rokok terhadap jantung dan manfaat dari bekatul beras merah bagi kesehatan jantung yang bernilai ekonomis.

### 3. Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Memberikan informasi kepada Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang bergerak di bidang *agromedicine* tentang manfaat bekatul beras merah sebagai antioksidan.

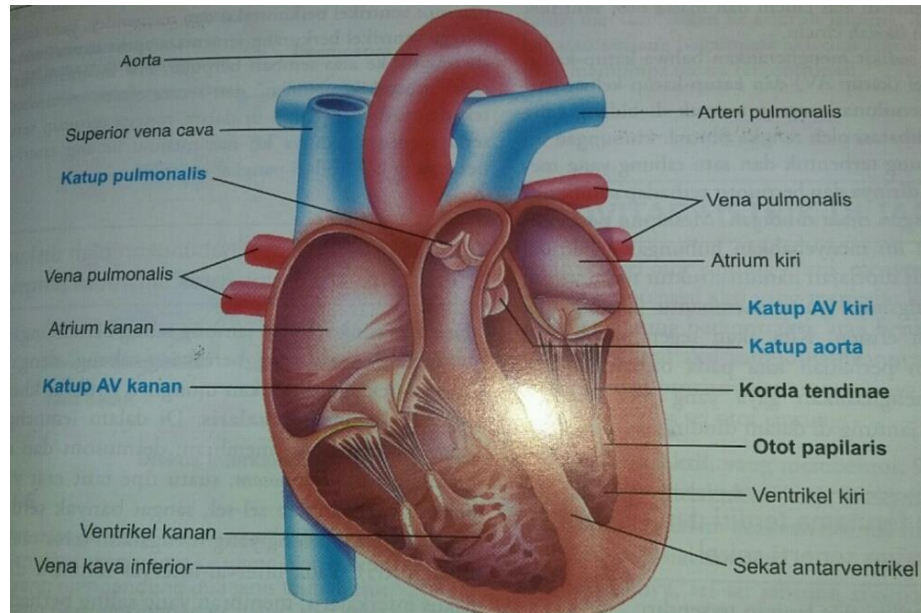
## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Jantung**

##### **2.1.1 Anatomi Jantung**

Jantung merupakan pompa tekanan dan pengisap ganda yang dapat menyesuaikan sendiri, bagian-bagian yang bekerja serentak untuk mengeluarkan darah ke semua bagian tubuh. Jantung seukuran kepalan tangan manusia yang memiliki berat 250- 350 gram. Organ ini terletak di rongga toraks sekitar garis tengah antara sternum di sebelah anterior dan vertebra di posterior. Sisi kanan jantung (jantung kanan) menerima darah yang tidak teroksigenasi dengan baik dari tubuh melalui vena cava superior dan vena cava inferior serta memompanya melalui truncus pulmonalis ke paru untuk oksigenasi. Sisi kiri jantung (jantung kiri) menerima darah yang teroksigenasi dengan baik dari paru melalui vena pulmonalis dan memompanya ke dalam aorta untuk distribusi ke tubuh (Moore dan Agur, 2013; Sherwood, 2011). Berikut ini adalah potongan longitudinal jantung yang memberikan ilustrasi kerja jantung kanan dan kiri.



**Gambar 1.** Potongan Longitudinal Jantung (Sherwood, 2011)

### 2.1.2 Fisiologi Jantung

Semua darah melewati jantung namun otot jantung tidak dapat menyerap  $O_2$  atau nutrisi dari darah di dalam rongga-rongganya karena lapisan endokardium yang kedap air sehingga darah tidak memungkinkan untuk mengalir dari rongga jantung ke dalam miokardium. Selain itu, dinding jantung terlalu tebal untuk difusi  $O_2$  dan zat lain dari darah di dalam rongga ke masing-masing sel jantung. Oleh karena itu, otot jantung harus menerima darah melalui pembuluh darah yakni sinus koronaria. Arteri-arteri koronaria bercabang dari aorta tepat setelah katup aorta dan vena-vena koronaria mengalirkan isinya ke dalam atrium kanan (Sherwood, 2011).



### 2.1.3 Histologi Jantung

Jantung adalah organ yang berfungsi untuk memompa darah. Ventrikel kanan dan kiri memompa darah, masing-masing ke paru-paru dan bagian tubuh lain. Atrium kanan dan kiri menerima darah, masing-masing dari tubuh dan vena pulmonalis. Dinding keempat bilik jantung terdiri dari tiga tunika: endokardium di dalam, miokardium di tengah, dan epikardium di luar (Junqueira, 2011).

Endokardium terdiri dari selapis sel endotel gepeng, yang berada di atas selapis tipis subendotel jaringan ikat longgar yang mengandung serat elastin dan kolagen selain sel otot polos. Miokardium terdiri dari sel-sel otot jantung yang tersusun belapis-lapis dan merupakan tunika yang paling tebal di jantung, susunan sel-sel otot sangat bervariasi pada potongan jaringan. Epikardium dapat disetarakan dengan lapisan viseral perikardium yaitu membran serosa tempat jantung berada. Epikardium dilapisi oleh epitel selapis gepeng (mesotel) yang ditopang oleh selapis tipis jaringan ikat dan merupakan permukaan eksternal jantung yang terdiri dari tunika serosa dan tela subserosa. Pada manusia, tela subserosa mengandung banyak jaringan lemak putih dan terdapat pembuluh darah koronaria serta saraf (Junqueira, 2011; Paulsen dan Waschke, 2013).

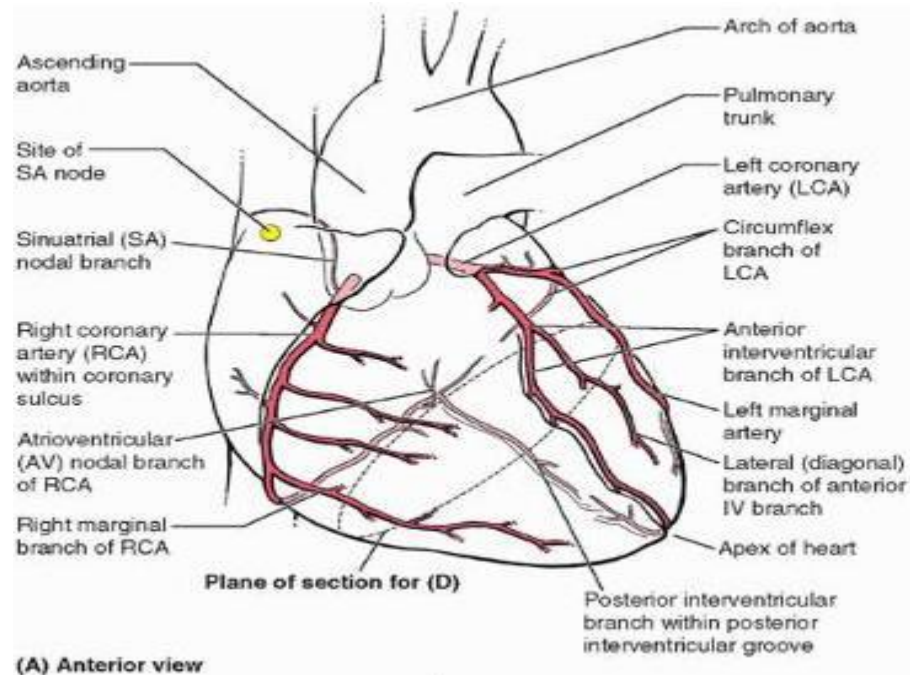
## 2.2 Arteri Koronaria

### 2.2.1 Anatomi Arteri Koronaria

Arteri koronaria adalah arteri yang memperdarahi miokardium dan epikardium yang berasal dari sinus aorta yang berhubungan pada bagian proksimal aorta ascendens sebagai arteri koronaria dextra (RCA) dan arteri koronaria sinistra (LCA). Arteri koronaria juga memperdarahi atrium dan ventrikel tetapi cabang–cabang atrial biasanya kecil dan tidak tampak dalam jantung kadaver. Arteri koronaria dekstra berasal dari sinus aorta dekstra dan berjalan ke sisi kanan truncus pulmonalis dan berjalan pada sulcus coronarius. Kemudian arteri koronaria dekstra naik dalam sulcus coronarius dan melepaskan cabang ramus marginalis dekstra yang memperdarahi batas kanan jantung. Arteri koronaria dekstra juga akan melepaskan cabang ramus interventrikularis posterior (arteri descendens posterior) yang memperdarahi ventrikel dan arteri descendens posterior merupakan arteri yang menjadi dominasi pada sistem arteri coronarius (Moore dan Agur, 2013; Tao dan Kendall, 2013).

Arteri koronaria sinistra berasal dari sinus aorta kiri, berjalan pada sisi kiri truncus pulmonalis dan berjalan dalam sulcus coronarius. Ketika masuk sulcus coronarius, arteri koronaria sinistra terbagi menjadi dua cabang yaitu ramus interventrikularis anterior (arteri descendens anterior sinistra) yang berjalan sepanjang sulcus intereventrikularis ke apeks jantung dan ramus sirkumfleksa (arteri sirkumfleksa sinistra) yang lebih

kecil mengikuti sulcus coronarius di sekitar batas kiri jantung ke permukaan bagian posterior jantung (Moore dan Agur, 2013). Berikut adalah arteri koronaria pandangan anterior:



**Gambar 2.** Arteri Koronaria dari Pandangan Anterior (Moore dan Agur, 2013)

### 2.2.2 Fisiologi Arteri Koronaria

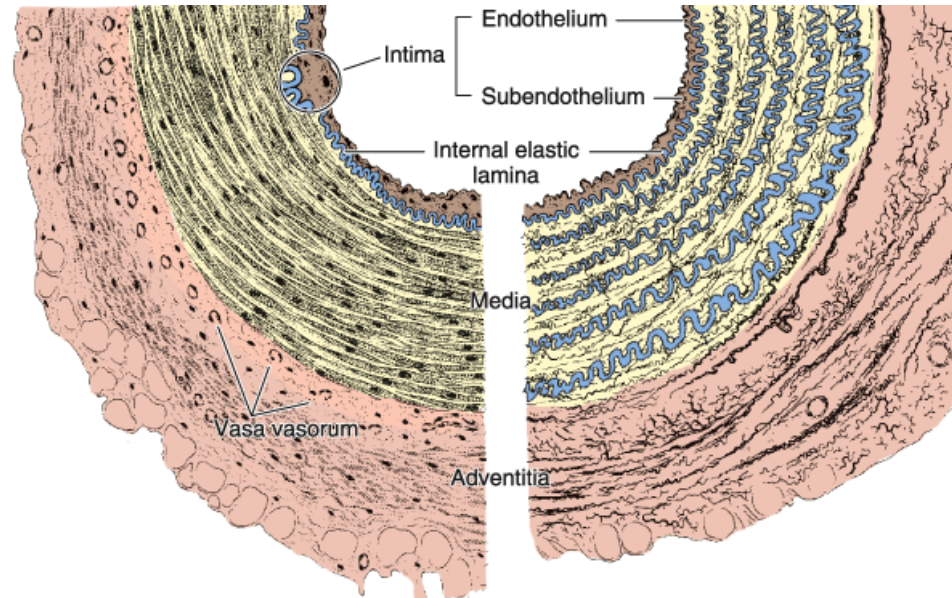
Arteri koronaria adalah arteri yang memperdarahi miokardium dan epikardium, sedangkan endokardium akan menerima O<sub>2</sub> dan nutrisi dari kontak langsung dengan darah di dalam ruang jantung. Arteri koronaria kiri menyuplai bagian anterior dan lateral ventrikel kiri dan arteri koronaria kanan menyuplai sebagian besar ventrikel kanan serta bagian posterior ventrikel kiri. Aliran yang melewati arteri koronaria terutama terjadi saat distol sebab miokardium saat itu mengalami relaksasi dan tidak lagi menghambat aliran darah. Tetapi, saat sistol maka miokardium

akan mengalami kontraksi yang meningkatkan tekanan eksterna pada pembuluh dan menghambat darah mengalir melewati pembuluh tersebut. Jika aliran lewat arteri koronaria terganggu maka jaringan subendokardium paling rentan menjadi cedera iskemik sebab jaringan ini terletak pada daerah terjauh dari salah satu suplai darahnya (Tao dan Kendall, 2013). Selain itu, sirkulasi aliran koronaria dipengaruhi oleh faktor mekanis yang berhubungan dengan besar kecilnya lumen arteri koroner. Makin kecil lumen yang disebabkan oleh proses aterosklerosis maka makin kecil pula aliran darah koronaria (Sherwood, 2011).

### **2.2.3 Histologi Arteri Koronaria**

Pembuluh darah koronaria terdiri dari lapisan atau tunika yaitu tunika intima (lapisan paling dalam), tunika media (lapisan tengah), dan tunika adventitia (lapisan paling luar). Tunika intima memiliki satu lapis sel endotel yang dibawahnya terdapat jaringan subendotel. Pada arteri, tunika intima dipisahkan oleh lamina elastika interna (komponen terluar intima) dari tunika media. Lamina tersebut memiliki celah (fenestra) dan elastin sehingga memungkinkan terjadinya difusi zat untuk memberikan nutrisi ke sel-sel bagian dalam dinding pembuluh. Tunika media terdiri dari lapisan konsentris sel-sel otot polos yang tersusun secara berpilin. Diantara sel otot terdapat serat elastik, lamella, serat retikular (kolagen tipe III), proteoglikan dan glikoprotein. Pada arteri, tunika media memiliki lamina elastika eksterna yang lebih tipis sebagai pemisah

dengan tunika adventitia. Tunika adventitia terdiri atas serat kolagen tipe 1 dan elastin (Junquiera, 2011).



**Gambar 3.** Histologis Arteri Koronaria (Mescher, 2010)

#### 2.2.4 Histopatologi Arteri Koronaria

Salah satu patologi pada arteri koronaria yaitu disfungsi atau adanya kerusakan endotel pembuluh darah akibat stres oksidatif berulang. Disfungsi endotel ini dianggap sebagai suatu awalan yang berperan dalam terjadinya penyakit pembuluh darah seperti aterosklerosis (Baraas, 2006).

Sel endotel merupakan lapisan terdalam dari tunika intima yang berbentuk pipih dan poligonal dengan ukuran sekitar  $10 \times 50 \mu\text{m}$  dan tebal  $1-3 \mu\text{m}$ , serta sumbu panjang sel sejajar dengan aliran darah. Sel ini berada di seluruh struktur pembuluh darah termasuk arteri koronaria dan

berhubungan langsung dengan aliran darah (Guyton dan Hall, 2008; Baraas, 2006). Fungsi dari sel endotel adalah mengatur aliran darah yang dipompa oleh jantung menuju ke seluruh tubuh dan begitu juga sebaliknya (Baraas, 2006).

Selain itu, sel endotel mengeluarkan Oksida Nitrit (NO) yang berfungsi dalam mempertahankan tonus pembuluh darah khususnya untuk proses relaksasi pembuluh darah (Libby, Ridker, dan Maseri, 2002; Baraas, 2006). Nitrit oksida adalah hasil dari proses perubahan L-Arginine menjadi sitrulin yang dikatalisis oleh enzim *Nitric Oxyde Syntase* (NOS) yang termasuk dalam kelompok sitokrom P-450.

Oksida Nitrit bekerja lokal (autokrin dan parakrin) disebabkan waktu paruhnya sangat pendek dan segera bereaksi dengan air dan oksigen membentuk nitrit dan nitrat. Oksida Nitrit selalu diproduksi dan didegradasi secara sangat dinamik di dalam sel-sel endotel (Baraas, 2006). NOS terdiri dari tiga isoform yaitu *neural NOS* (*nNOS*), *inducible NOS* (*iNOS*) dan *endothelial constitutive NOS* (*ecNOS*). Produksi NOS oleh sel endotel distimulasi dan dipertahankan oleh adanya konsentrasi ion  $Ca^{2+}$  intrasel yang menyebabkan eNOS aktif (Baraas, 2006).

Apabila terjadi stres oksidatif akibat paparan radikal bebas pada sel endotel pembuluh darah dapat mengakibatkan kerusakan pada dinding pembuluh darah sehingga permeabilitas dan adhesivitasnya meningkat

terhadap lipoprotein, leukosit, platelet dan kandungan plasma lain. Hal ini dapat meningkatkan risiko terbentuknya lesi aterosklerotik (Robbins dan Kumar, 2007; Prasetyo dan Udadi, 2009).

Lesi aterosklerotik ditandai dengan penebalan intima setempat, proliferasi sel otot polos dan unsur jaringan ikat ekstrasel, dan pengendapan kolesterol dalam sel otot polos dan makrofag. Bila dipenuhi oleh lipid, sel tersebut disebut sebagai sel busa (foam cells) dan membentuk guratan-guratan lemak (fatty streak) serta plak yang tampak secara makroskopik. Penebalan tersebut mengakibatkan lumen pembuluh darah menyempit hingga dapat menyumbat aliran darah. Keadaan inilah yang dikenal sebagai aterosklerosis. Arteri koronaria termasuk arteri yang paling mudah terkena aterosklerosis (Tao dan Kendall, 2013; Junqueira, 2011).

## **2.3 Rokok**

### **2.3.1 Profil Rokok**

*World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa 50% kematian di Asia disebabkan oleh tingginya peningkatan konsumsi rokok. Angka kematian akibat rokok di negara berkembang meningkat hampir 4 kali lipat dan berdasarkan data dari Aliansi Pengendalian Tembakau Indonesia tahun 2013 menyatakan bahwa pada tahun 2000 jumlah kematian akibat merokok sebesar 2,1 juta serta pada tahun 2030



diperkirakan menjadi 6,4 juta jiwa. Tetapi, jumlah kematian akibat merokok di negara maju mengalami penurunan yaitu dari 2,8 juta pada tahun 2000 dan menjadi 1,6 juta jiwa pada tahun 2030. Merokok merupakan penyebab kematian pada penderita penyakit degeneratif dan penyakit non-infeksi sebesar 14% dan 5% dari total kematian pada perokok (Saleh, 2011).

### **2.3.2 Pengertian dan Kandungan Rokok**

Rokok adalah hasil olahan tembakau yang dibungkus dengan kertas berbentuk silinder dengan panjang 20-120 mm (Nurasizah, 2015). Rokok juga merupakan salah satu produk industri dan komoditi internasional yang mengandung 4.000 jenis senyawa kimia beracun yang berbahaya untuk tubuh dan 43 diantaranya bersifat karsinogenik (Depkes, 2013). Bahan utama rokok terdiri dari 3 zat, yaitu nikotin, tar dan karbon monoksida.

Nikotin adalah zat atau bahan senyawa pyrolidine yang terdapat dalam tanaman tembakau *Nicotiana tabacum*, *Nicotiana rustica* dan spesies lainnya yang bersifat adiktif serta dapat menyebabkan ketergantungan (Nurasizah, 2015). Nikotin dalam waktu 10 detik secara cepat terdistribusi ke otak. Kadar batas nikotin berdasarkan peraturan pemerintah No 81 tahun 1999 tentang pengamanan rokok bagi kesehatan dalam satu batang rokok tidak boleh melebihi dari 1,5 mg (Amarudin 2012).

Kandungan dalam tar yaitu *Hydroquinone/quinone* dapat berdifusi pada membran sel dan ikut dalam reaksi redoks yang terjadi di ekstraseluler dan intraseluler sehingga akan membentuk senyawa *semiquinone* dan speroksida yang merupakan senyawa yang berhubungan dengan terjadinya peroksida lipid (Mardjun, 2012).

Karbon monoksida (CO) adalah suatu gas yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa, mudah terbakar, tidak mengiritasi namun sangat beracun (Rivanda, 2015). Karbon monoksida menggantikan 15% oksigen yang seharusnya dibawa oleh sel-sel darah merah dimana gas CO 200 kali lebih mudah berikatan dengan hemoglobin (Hb) dibandingkan dengan oksigen. Karbon monoksida yang berikatan dengan hemoglobin akan menyebabkan sel darah merah kekurangan oksigen. Keadaan kekurangan oksigen mengakibatkan terbentuknya ROS yang selanjutnya menyebabkan stress oksidatif dan terjadi peroksida lipid. Dimana peroksida lipid dapat merusak lapisan dalam pembuluh darah dan meningkatkan endapan lemak pada dinding pembuluh darah sehingga menyebabkan pembuluh darah tersumbat (Harris, Ikhsan, dan Rogayah, 2012).



**Gambar 4.** Rokok dan Kandungannya (Harris, Ikhsan, dan Rogayah, 2012)

### 2.3.3 Jenis Rokok

Rokok yang banyak dikonsumsi dan beredar di Indonesia adalah rokok putih yang disebut juga rokok filter. Filter yang terdapat dalam rokok berfungsi untuk mengurangi jumlah nikotin dan tar yang dikonsumsi (Boyle *et al.*, 2010) dan rokok kretek yang disebut rokok cengkeh. Rokok jenis ini mengandung sekitar 60% tembakau dan 40% cengkeh giling, serta ratusan zat aditif. Kandungan nikotin, tar, dan karbon monoksida dalam rokok kretek lebih tinggi daripada rokok putih.

Beberapa penelitian di Indonesia menunjukkan bahwa merokok kretek dihubungkan dengan masalah pada paru maupun pembuluh darah (Bernard, 2010; ASPA, 2012). Rokok kretek adalah rokok yang terbuat dari campuran tembakau dan cengkeh, biasanya dibuat dengan cara di

linting dengan tangan atau alat bantu sederhana. Rata-rata kandungan nikotin pada asap utama rokok kretek adalah 1,165 - 1,306 mg/batang sementara rokok putih sebesar 0,904 – 1,140 mg/batang (Amarudin, 2012).

Merek rokok kretek yang populer antara lain sampoerna, rokok gudang garam internasional filter, dan rokok *a mild* 16 sampoerna (Piade *et al.*, 2014). Tapi, dalam hasil analisis yang telah dilakukan oleh Piade tahun 2014 didapatkan bahwa rokok kretek gudang garam menghasilkan komposisi nikotin, tar, dan karbonmonoksida sebesar 1,78 mg/cig, 39,9 mg/cig, dan 17,8 mg/cig sedangkan rokok kretek sampoerna menghasilkan komposisi nikotin, tar, dan karbonmonoksida sebesar 1,72 mg/cig, 29,0 mg/cig, dan 18,7 mg/cig dan rokok kretek a mild sampoerna menghasilkan komposisi nikotin, tar, dan karbonmonoksida sebesar 0,74 mg/cig, 14,4 mg/cig, dan 8,98 mg/cig (Piade *et al.*, 2014).

#### **2.3.4 Pengaruh Paparan Asap Rokok terhadap Lumen Arteri Koronaria**

Rokok adalah salah satu sumber radikal bebas (Arief, 2007). Jika radikal bebas yang dihasilkan melebihi kapasitas antioksidan atau keadaan dimana jumlah antioksidan menurun maka keadaan tersebut dinamakan stres oksidatif. Radikal bebas yang berlebihan terutama spesies oksigen reaktif akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) pada membran sel yang kemudian dikenal dengan proses peroksidasi lipid (Roberts dan Hubel, 2009).

Peroksidasi lipid mengakibatkan hilangnya homeostasis ion yang menyebabkan terjadinya gangguan kompartemen dan kekacauan ion utamanya ion  $\text{Ca}^{2+}$ . Hilangnya homeostasis  $\text{Ca}^{2+}$  menyebabkan hilangnya kontrol metabolik sel endotel (Eberhardt, 2001). Hilangnya ion kalsium dari dalam sel dapat mengganggu fungsi eNOS (*endothelial Nitric Oxide Synthase*) sehingga L-arginin tidak mampu dirubah menjadi oksida nitrat, dan akhirnya terjadi penurunan kadar oksida nitrat. Oksida nitrat (NOS) terdapat pada sel endotel dengan penurunan NOS dapat menyebabkan disfungsi endotel karena fungsi NOS untuk vasodilator menurun (Lyell dan Belfort, 2007).

Penjelasan lain menyatakan bahwa nikotin mempengaruhi *Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis* dengan melepas *corticotropine releasing hormone* (CRH) di hipotalamus, yang akan menginduksi produksi *adrenocorticotropic hormone* (ACTH) di hipofisis anterior dan menginduksi pelepasan kortisol. Nikotin juga memicu pelepasan katekolamin dari medulla kelenjar adrenal sebagai hasil dari inervasi saraf simpatis. Kedua proses tersebut memicu terjadinya lipolisis dan pelepasan asam lemak bebas (Bano dan Saeed, 2014; Peckett, Wright DC, dan Riddell, 2011).

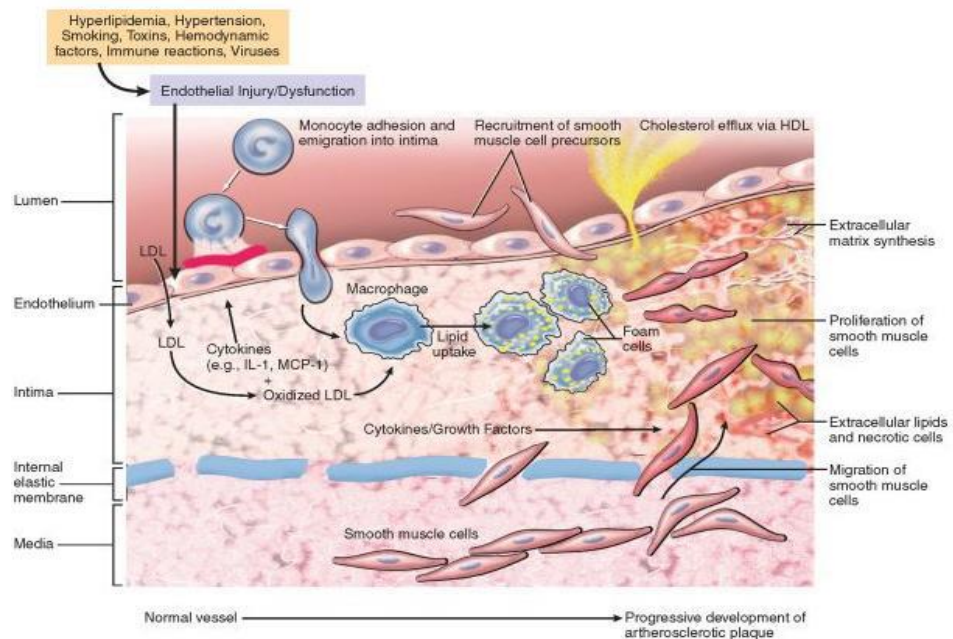
Merokok dapat meningkatkan pelepasan asam lemak bebas dari jaringan adiposa sekitar 77% (Benowitz *et al.*, 2012). Asam lemak bebas ini

umumnya akan diambil oleh hati dan diekspektasikan dalam sirkulasi dengan meningkatkan sintesis VLDL. Peningkatan kadar VLDL akan meningkatkan sintesis IDL dan LDL. Partikel LDL lebih kecil dari lipoprotein lain (Adam, 2007).

LDL melalui lapisan sel endotel selanjutnya akan menembus dinding pembuluh darah yang lebih dalam yaitu tunika intima. LDL yang masuk ke dalam tunika intima akan mengalami oksidasi. LDL teroksidasi akan memicu pelepasan sitokin inflamasi yang mengubah monosit menjadi makrofag menembus lapisan endotel dan masuk ke dalam intima. LDL tersebut ditangkap oleh reseptor *scavenger-A* (SRA) di makrofag sehingga terbentuk sel busa (foam cell), menumpuk dibawah dinding pembuluh darah dan membentuk fatty streak (bentuk paling dini plak aterosklerotik). Karena itu, tahap paling awal pada pembentukan plak ditandai oleh akumulasi endapan kaya kolesterol dibawah endotel (Adam, 2007).

Penyakit berkembang sewaktu sel-sel otot polos di dalam dinding pembuluh darah bermigrasi dari tunica media ke tunica intima dan menutupi akumulasi lemak tersebut. Migrasi dipicu oleh bahan-bahan kimia yang dibebaskan ditempat peradangan. Dilokasinya yang baru, sel-sel otot polos membelah diri dan membesar membentuk ateroma. Inti sel dan otot polos yang menutupinya bersama-sama membentuk plak matang yang secara progresif menonjol ke dalam lumen pembuluh yang

akan mengakibatkan tersumbatnya lumen (Tao dan Kendall, 2013; Sherwood, 2011). Berikut ini adalah penjelasan mengenai proses pembentukan aterosklerosis, gambaran komponen-komponen plak dan gambaran plak aterosklerosis di arteri koronaria.



**Gambar 5.** Peranan LDL dalam Proses Aterosklerosis (Mitchell dan Schoen, 2010)

## 2.4 Metabolisme Lipid

Metabolisme lipid di dalam tubuh berasal dari jalur metabolisme eksogen, jalur metabolisme endogen dan jalur *reverse cholesterol transport* (Sebastian, 2012). Jalur metabolisme eksogen diawali oleh memakan makanan yang berlemak. Dimana asupan lemak yang biasa dimakan melalui diet adalah trigliserida dan kolesterol. Selain kolesterol yang berasal dari makanan, dalam usus juga terdapat kolesterol dari hati yang diekskresikan bersama empedu ke



usus halus. Baik lemak di usus halus yang berasal dari makanan maupun yang berasal dari hati disebut lemak eksogen (Adam, 2007).

Lemak eksogen sebagian besar merupakan asam lemak dan monogliserida yang tidak larut dalam air sehingga proses pengangkutannya memerlukan alat transport. Alat transport dari sel enterosit ke dalam darah disebut dengan miselius. Dalam sel enterosit, asam lemak dan monogliserida segera dibentuk menjadi trigliserida dan dibentuk kilomikron. Selanjutnya kilomikron masuk ke dalam aliran darah melalui sistem limfatik dan berikatan dengan endotel kapiler dalam otot dan jaringan adiposa. Di dalam otot dan jaringan adiposa, saat tubuh membutuhkan energi dari lipid, maka trigliserida akan dipecah menjadi asam lemak dan gliserol untuk dioksidasi menjadi energi. Proses ini disebut dengan lipolisis (Adam, 2007).

Asam lemak hasil dari lipolisis disebut dengan asam lemak bebas (*free fatty acid*) untuk disimpan dalam jaringan adiposa dan selebihnya disimpan dalam hati. Asam lemak bebas tersebut memiliki rantai yang panjang. Sedangkan kolesterol yang diserap menjadi kolesterol ester akan menghasilkan sisa kolesterol ester yang disebut kilomikron *remnant* (sisa), kemudian akan diambil oleh hati. Proses tersebut akan masuk ke jalur endogen (Adam, 2007).

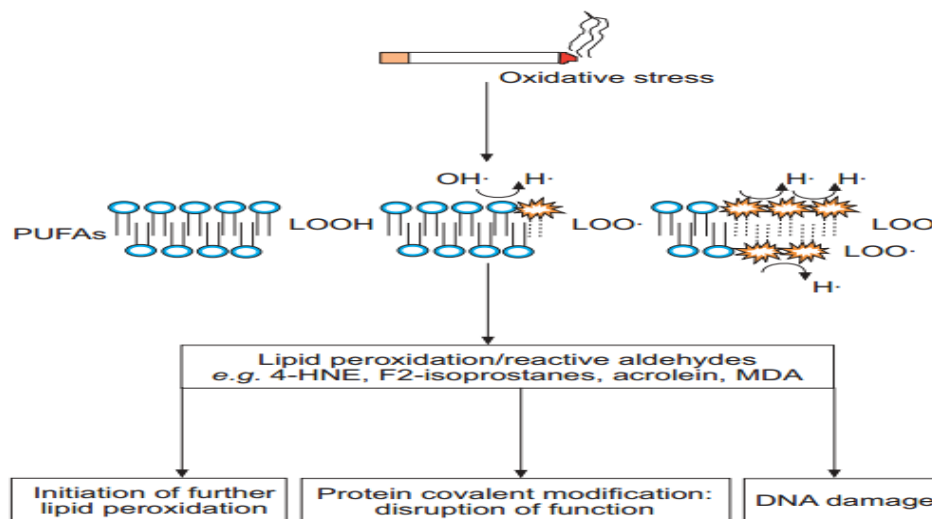
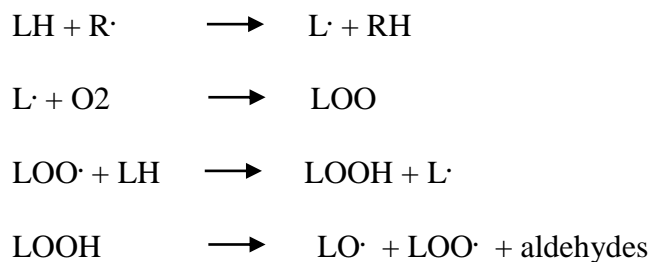
Kilomikron kemudian akan disintesis di hati dan disekresi ke dalam sirkulasi sebagai VLDL. Dalam sirkulasi, trigliserida dalam VLDL akan mengalami hidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase* (LPL) sehingga VLDL berubah

menjadi IDL yang juga akan mengalami hidrolisis dan berubah menjadi LDL (Adam, 2007). *Low Density Lipoprotein* (LDL) adalah lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol. Sebagian dari kolesterol dalam LDL akan dibawa ke hati dan jaringan. Sebagian lagi dari kolesterol-LDL akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh reseptor *scavenger-A* (SRA) di makrofag dan akan menjadi sel busa (*foam cell*).

Makin banyak kadar kolesterol LDL dalam plasma makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh sel makrofag (Adam, 2007). Setelah itu terdapat satu jalur yang berfungsi untuk memobilisasi kembali kolesterol dari jaringan untuk kembali ke hati. Jalur ini dinamakan jalur *reverse cholesterol transport*. HDL merupakan lipoprotein yang berperan pada jalur ini dimana HDL akan membawa kembali kolesterol dari sel ke hati (Hilbert dan Lifshitz, 2007).

## **2.5 Peroksida Lipid**

Peroksida lipid adalah degradasi oksidasi dari lipid. Dalam prosesnya, radikal bebas akan mengambil elektron dari lipid di membran sel yang dapat berupa asam lemak tak jenuh (PUFA), fosfolipid, glikolipid, kolesterol ester dan kolesterol. Diantara semua bahan tersebut, asam lemak tak jenuh merupakan bahan yang paling sering terlibat dalam mekanisme oksidasi yang akan mengakibatkan kerusakan pada sel (Eberhardt, 2001; Balasaheb dan Pal, 2015). Berikut adalah proses terjadinya peroksida lipid:



**Gambar 6.** Mekanisme Rokok Menyebabkan Peroksidasi Lipid  
(Chung dan Adcock, 2008)

Proses umum peroksida lipid yaitu LH yang merupakan asam lemak tak jenuh/PUFA dan R adalah radikal pengoksidasi awal. Oksidasi PUFA menghasilkan radikal asam lemak, yang dengan cepat menambahkan oksigen untuk membentuk radikal peroksil asam lemak (LOO). Radikal peroksil adalah pembawa reaksi rantai. Radikal peroksil dapat mengoksidasi lebih lanjut molekul PUFA dan memulai reaksi berantai baru menghasilkan hidroperoksida lipid (LOOH) yang dapat menghancurkan spesies yang lebih radikal. Hidroperoksida lipid selalu memecah menjadi aldehida. Banyak aldehid ini adalah senyawa aktif biologis yang dapat menyebar dari tempat serangan asli dan menyebarkan serangan ke bagian sel lain. Peroksida lipid dikaitkan dengan cedera jaringan dan penyakit (Balasaheb dan Pal, 2015).

## 2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya (Miryanti *et al.*, 2011). Dalam keadaan normal elektron hadir secara berpasangan sehingga radikal bebas yang bersifat tidak berpasangan memiliki tendensi untuk mencari pasangan elektronnya (Ramatina, 2011). Radikal bebas tersebut dapat timbul akibat berbagai proses kimia yang kompleks dalam tubuh ataupun berasal dari polutan lingkungan seperti asap rokok, radiasi zat-zat kimia, racun, makanan cepat saji, dan makanan yang digoreng pada suhu tinggi (Selewa, Runtuwene, dan Citraningtyas, 2013).

Radikal bebas dapat merusak berbagai biomolekul di dalam tubuh apabila terjadi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan. Radikal bebas yang berlebihan akan merusak membran sel dan lipoprotein dengan proses yang disebut sebagai peroksidasi lipid (Caillet *et al.*, 2012). Lipid tersusun dari asam lemak dengan protein yang tersebar secara mosaik. Fluiditas membran sel pada lipid dapat berfungsi dengan baik karena adanya PUFA (*Poly Unsaturated Acid*). Apabila PUFA berikatan dengan radikal bebas maka akan terjadi peroksidasi lipid yang mempengaruhi proses pembentukan plak aterosklerosis sehingga mengakibatkan penyempitan pada lumen (Priyanto, 2010).

Radikal bebas terpenting yang terdapat dalam tubuh merupakan derivat oksigen atau oksid-radikal yang sering disebut *reactive oxygen species* (ROS).

Radikal tersebut terdapat dalam bentuk oksigen singlet ( $O_2$ ), anion superoksida ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil (OH), nitrogen oksida (NO), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), asam hipoklorit (HOCL), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), radikal alkoksil (LO), radikal peroksil (LOO), hidroperoksida lipid (LOOH) (Shah dan Channon, 2004).

Produksi radikal bebas di dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan dari luar. Antioksidan dapat melindungi kerusakan sel dengan menetralkan radikal bebas (Muchtadi, 2014).

## **2.7 Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi (Rohdiana, 2001). Sejalan dengan pendapat Wildman tahun 2001 yang juga menyatakan bahwa antioksidan adalah agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi (radikal bebas) dalam tubuh. Oksidasi adalah reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator dan dapat menghasilkan radikal bebas yang memicu reaksi berantai penyebab kerusakan sel tubuh. Sifat antioksidan adalah mencegah pembentukan radikal bebas atau menangkap radikal bebas yang sudah ada, menetralsir, dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Baynes, 2005).

Antioksidan dibagi menjadi dua jenis yaitu antioksidan internal dan antioksidan eksternal. Antioksidan internal diproduksi sendiri di dalam tubuh manusia (endogen) dan disebut juga antioksidan enzimatik. Antioksidan

internal terdiri dari Superoksida dismutase (SOD), Catalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx) dan lain-lain (Murray, Granner, dan Mayes, 2003). Antioksidan eksternal (antioksidan non-enzimatis) yang berperan sebagai pencegah dan sistem pertahanan tubuh. Antioksidan eksternal antara lain vitamin A, vitamin C, vitamin E,  $\beta$  karoten, flavonoid, likopen yang dapat ditemukan pada sayuran dan buah-buahan. Senyawa antioksidan non-enzimatis bekerja dengan cara memutus rantai lemak (Bahorun *et al.*, 2006).

Sayuran yang mengandung antioksidan antara lain daun katuk dan selada air. Buah-buahan yang mengandung antioksidan antara lain durian, jeruk manis, kelengkeng, pisang, tomat, dan pala. Berdasarkan penelitian Widarta, Putu, dan Ketut tahun 2013 didapatkan hasil aktivitas antioksidan bekatul beras merah sebesar 88,07%. Nilai aktivitas antioksidan untuk daun katuk sebesar 72% (Andari, 2010). Uji aktivitas antioksidan selada air sebesar 11,25%, hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada selada yang terbukti lemah dalam menghambat pembentukan bilangan peroksida (Salawah, Purwaningsih, Permatasari, 2011).

Aktivitas antioksidan untuk durian, jeruk manis, dan kelengkeng sebesar 22,06%, 26,47%, dan 38,97% (Muhtadi *et al.*, 2014). Nilai aktivitas antioksidan total pada bekatul lebih tinggi daripada jus tomat (Damayanti *et al.*, 2010). Pada ekstrak daging pisang didapatkan aktivitas antioksidan sebesar 66,45% (Alfiani, 2014) dan aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol buah pala sebesar 6,89% (Miyanti, 2010). Dari penelitian yang telah dilakukan

mengenai aktivitas antioksidan pada sayuran dan buah-buahan didapatkan hasil bahwa sayuran seperti daun katuk dan selada air serta buah-buahan seperti naga, rambutan, durian, jeruk manis, tomat, pisang, dan pala memiliki nilai aktivitas antikoksidan lebih rendah dibandingkan bekatul.

Bekatul mengandung vitamin E yang merupakan suatu fitonutrien penting yang memiliki 8 isomer yaitu 4 tokoferol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) dan 4 tokotrienol ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) homolog. Makanan kaya vitamin dan antioksidan mampu menurunkan risiko penyakit aterosklerosis dengan cara melindungi LDL dari oksidasi. Senyawa turunan vitamin E sangat beraneka ragam, tetapi yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi adalah dalam bentuk senyawa  $\alpha$ -tokoferol. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ROS menyebabkan abnormalnya fungsi endotel dan antioksidan dapat mencegahnya (Dimmeler dan Zeiher, 2004).

## 2.8 Bekatul

### 2.8.1 Taksonomi

Bekatul merupakan limbah proses penggilingan padi yang jarang dimanfaatkan secara optimal. Proses penggilingan padi dengan kadar air 14% menghasilkan rendaman beras 57-60%, sekam 18-20% dan bekatul 8-10%. Adapun nomenklatur beras merah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

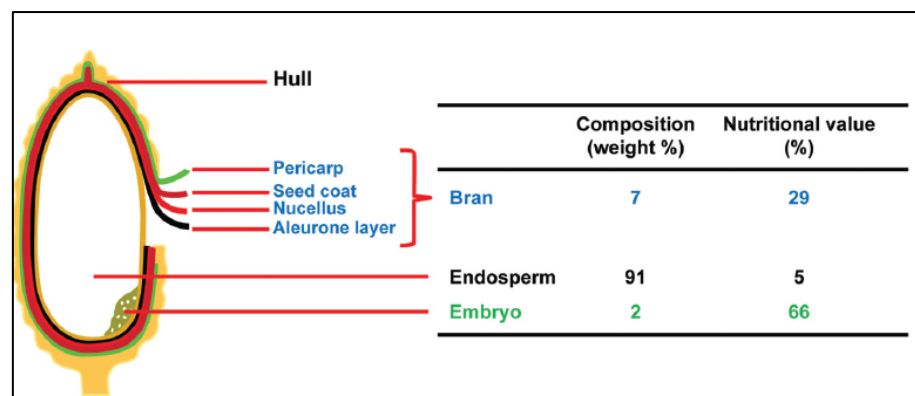
Kelas : Monocotyledoneae

Bangsa : Poales  
 Suku : Gramineae  
 Marga : Oryza  
 Jenis : Oryza sativa L (Widarta dan Arnata, 2014;  
 Tjitrosoepomo, 2010).



**Gambar 7.** Bekatul Beras Merah (Avery, 2016).

Bekatul terdapat diantara endosperm dan sekam. Bekatul merupakan bagian dari beras yang terdiri atas pericarp, lapisan aleurone, lapisan benih dan nucellus (Park, Lee, dan Choi. 2017).



**Gambar 8.** Struktur Bekatul di Dalam Padi (Park, Lee, dan Choi, 2017)



### 2.8.2 Kandungan Nutrisi Bekatul

Kandungan nutrisi pada bekatul meliputi minyak (20-29%), karbohidrat (20-27%) dan protein (10-15%) sebagai tiga komponen utama nutrisi. Selain itu, terdapat juga kandungan nutrisi penting lainnya seperti fitonutrien, antioksidan, mineral, dan vitamin B kompleks (Park, Lee, dan Choi, 2017). Bekatul juga memiliki kandungan bioaktif terdiri dari tokoferol (isomer vitamin E), senyawa fenol, antosianin, dan  $\gamma$ -oryzanol yang berfungsi untuk memutus rantai peroksidasi lipid sehingga mencegah dari kerusakan membran sel (Mumpuni, 2013) dan bahan bioaktif tersebut menunjukkan aktivitas signifikan dari antioksidan (Sharma, Srivastava, dan Sexena 2015).

Pada penelitian yang dilakukan Laili tahun 2016 menyatakan ekstrak bekatul 200mg/kgBB dengan menggunakan pelarut etanol 96% dapat meningkatkan Total Antioxidant Status (TAS). Selain itu, penelitian yang telah dilakukan mengenai komponen bioaktif bekatul beras merah yang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Dalam penelitian tersebut komponen bioaktif yang di teliti adalah kandungan fenol, total antosianin dan aktivitas antioksidan (Widarta *et al.*, 2013).

**Tabel 1.** Komponen Bioaktif Bekatul Beras Merah dengan Pelarut Etanol 96%

Total antosianin (mg/100g)	106,90
Total fenol (mg/100g)	4,30
Aktivitas antioksidan (%)	88,07 %

Sumber: (Widarta *et al.*, 2013).

Pada penelitian yang dilakukan mengenai komponen biaktif bekatul beras merah dengan menggunakan metode analisis RP-HPLC (*Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography*) yang didalamnya terdapat pelarut etanol, didapatkan senyawa yang terkandung pada bekatul beras merah yaitu  $\gamma$ -oryzanol,  $\gamma$ -tokoferol dan  $\alpha$ -tokoferol (Moongngarm, Daomukda, dan Khumpika, 2012).

**Tabel 2.** Komponen Bioaktif Bekatul Beras Merah

$\alpha$ - tokoferol ( $\mu\text{g/g}$ )	44 $\pm$ 1,05
$\gamma$ - oryzanol (mg/g)	8,58 $\pm$ 0,02
$\gamma$ -tokoferol ( $\mu\text{g/g}$ )	25 $\pm$ 0,17

Sumber: (Moongngarm, Daomukda, dan Khumpika, 2012).

### 2.8.3 Bekatul Sebagai Antioksidan

Bekatul memiliki lebih dari seratus antioksidan yang terkandung di dalamnya. Bekatul yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah bekatul beras merah sebesar 58,69% jauh lebih tinggi dari bekatul beras putih yang memiliki aktivitas antioksidan sebesar 43,44% (Susanto, 2011).

**Tabel 3.** Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Bekatul

Jenis	Aktivitas antioksidan (%)
Putih	43.44 $\pm$ 0.82
Merah	58.69 $\pm$ 5.20

Sumber: (Susanto, 2011)

Kandungan bioaktif dari bekatul yang berperan sebagai antioksidan salah satunya yaitu tokoferol (isomer vitamin E), dimana vitamin E adalah antioksidan yang larut lemak dan berfungsi mencegah terbentuknya metabolit oksidasi yang bersifat toksik seperti lipid peroksida dengan cara

menangkap radikal bebas (Mindasari, 2010). Tokoferol terdiri dari  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , dan  $\delta$  tokoferol tetapi  $\alpha$  tokoferol merupakan isomer vitamin E yang kuat dan potensial yang berfungsi sebagai antioksidan yang memecah rantai reaktif oksigen spesies yang terdapat di membran sel. Ketika terjadi reaksi pemecahan ROS maka  $\alpha$  tokoferol akan berubah menjadi radikal bebas. Radikal bebas dari  $\alpha$  tokoferol akan bereaksi dengan peroksidasi asam lemak (LOO) dengan cara:  $\text{LOO}\cdot + \alpha\text{-tocopherol-OH} \longrightarrow \text{LOOH} + \alpha\text{-tocopherol-O}\cdot$ , sehingga terbentuk molekul yang stabil dan mengakhiri rantai peroksidasi (Balasaheb dan Pal, 2015; Duncan dan Suzuki, 2017; Young dan Woodside, 2001).

Pada penelitian yang dilakukan Susanto tahun 2011 terdapat korelasi negatif antara kadar lemak dan aktivitas antioksidan yang artinya semakin rendah kadar lemak maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Berarti terdapat zat lain dalam bekatul yang jumlahnya banyak dan tidak larut lemak yang berperan sebagai antioksidan. Zat tersebut adalah  $\gamma$ -oryzanol yang memiliki komposisi 13-20 kali lebih banyak dibandingkan tokoferol dalam bekatul (Zhaoli, 2004). Dalam tubuh manusia,  $\gamma$ -oryzanol akan di metabolisme menjadi asam ferulat, *steryl ferulates* dan kolesterol.  $\gamma$ -oryzanol akan bekerja sebagai antioksidan dengan cara menangkap ROS pada reaksi peroksidasi lipid (Minatel, 2016). Antosianin dan senyawa fenol merupakan senyawa yang berperan untuk menghambat peroksidasi lipid. Adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatis pada molekul senyawa fenolik dan antosianin, dapat memberikan komponen

yang diperlukan sebagai penangkap senyawa radikal (Balasaheb dan Pal, 2015; Widarta, Nocianitri, dan Sari, 2013).

## **2.9 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley***

Tikus merupakan hewan mamalia yang secara luas digunakan untuk penelitian di laboratorium. Tikus pada penelitian ini menggunakan jenis tikus putih dengan nama latin *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley*. Tikus ini memiliki kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah dan sistem ekskresinya yang menyerupai manusia (Isroi, 2010). Selain itu, tikus putih memiliki keunggulan sebagai hewan percobaan sebab dapat berkembang biak dengan cepat, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, lebih tahan terhadap perlakuan, dan cocok untuk berbagai macam penelitian (Putra, 2009). Adapun klasifikasi tikus putih menurut Akhtar (2012) sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Odontoceti

Familia : Muridae

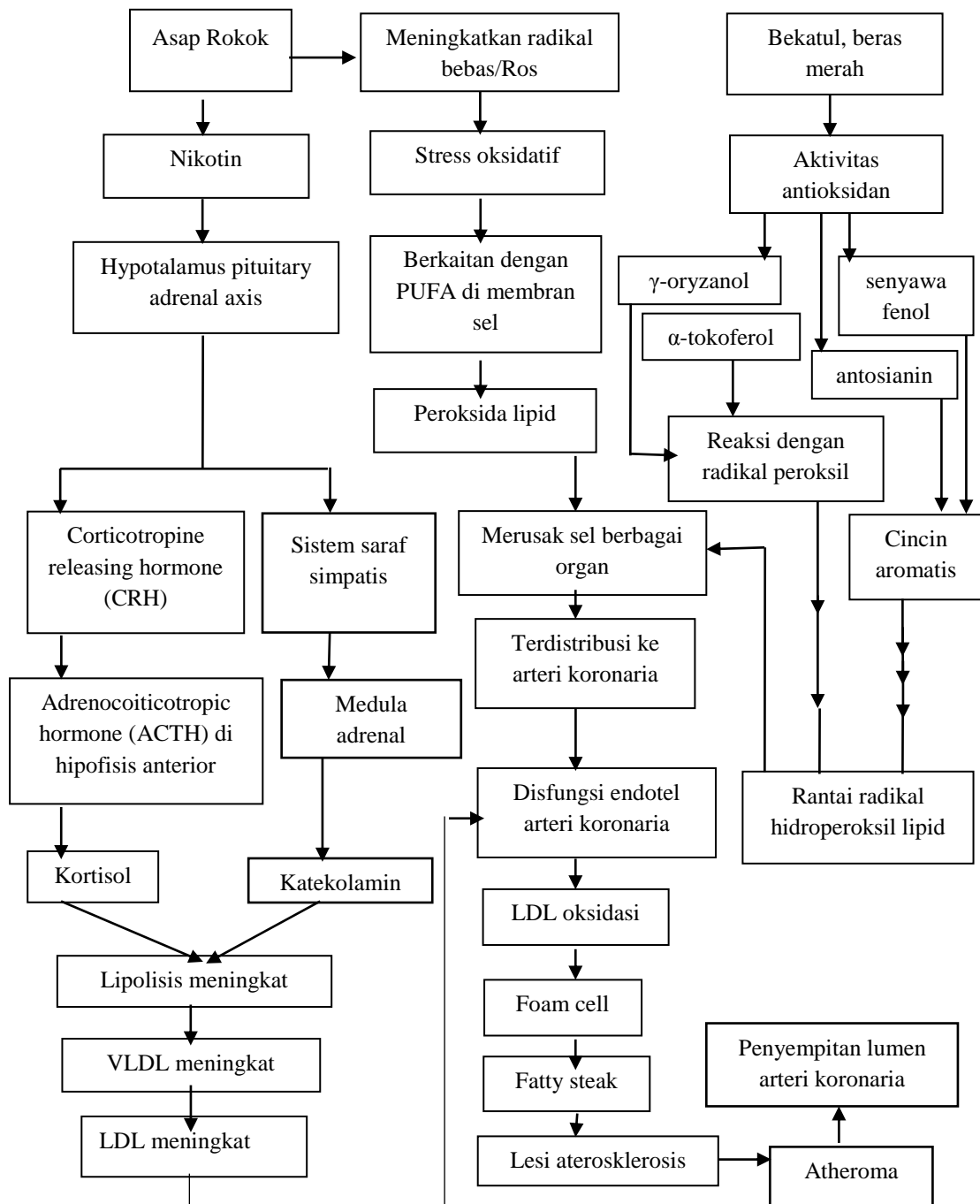
Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*



**Gambar 9.** Tikus *Rattus norvegicus* galur Sprague dawley (Estina, 2010).

## 2.10 Kerangka Teori



Keterangan :

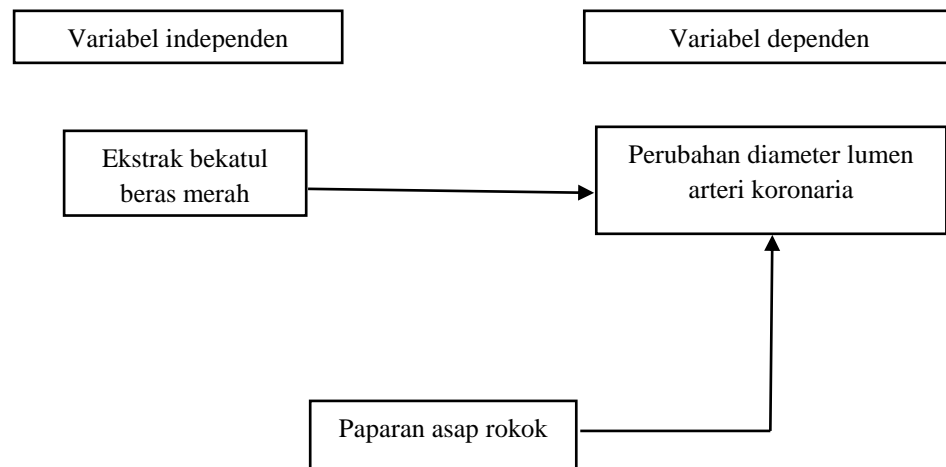
→ = menyebabkan

→→ = memutus rantai

→→→ = menangkap

**Gambar 10.** Kerangka Teori (Bano dan Saeed, 2014; Benowitz *et al.*, 2012; Peckett, Wright, Riddell, 2011; Roberts dan Hubel, 2009; Widarta, Nociantri, dan Sari, 2013)

## 2.11 Kerangka Konsep



**Gambar 11.** Kerangka Konsep

## 2.12 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis pada penelitian ini adalah :

Ho : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria pada Tikus Putih galur *Sprague dawley* yang diinduksi paparan asap rokok kretek.

Ha : Ada pengaruh pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap perubahan diameter lumen arteri koronaria pada Tikus Putih galur *Sprague dawley* yang diinduksi paparan asap rokok kretek

## **BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan metode rancangan *posttest only controlled group design* (Notoatmodjo, 2012). Sebanyak 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* dewasa umur 2,5-3 bulan dipilih secara acak (*random sampling*) pada kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol yang dibagi menjadi 5 kelompok. Pengambilan data dilakukan setelah akhir penelitian dengan membandingkan hasil pada kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diberi perlakuan dengan kelompok kontrol.

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama 30 hari pada bulan Oktober- November 2017. Pemeliharaan tikus dan pemberian intervensi dilakukan di *Pet House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung mulai tahap adaptasi, melakukan perlakuan hingga terminasi. Pembedahan dan pembuatan preparat histologi dan pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas



Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak bekatul beras merah akan dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Unila.

### 3.3 Subyek Penelitian

#### 3.3.1 Populasi

Populasi penelitian yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) dewasa jantan galur *Sprague dawley*, berumur 2,5-3 bulan dengan berat 200-350 gram yang diperoleh dari Institusi Pertanian Bogor (IPB).

#### 3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah tikus putih dewasa jantan galur *Sprague dawley* yang dipilih secara randomisasi atau acak lengkap dan dibagi ke dalam 5 kelompok. Ulangan setiap kelompok percobaan dihitung dengan menggunakan rumus Frederer tahun 1977.

Rumus :

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

Keterangan :

t = jumlah kelompok percobaan.

n = merupakan jumlah sampel tiap kelompok

$$(5 - 1)(n - 1) \geq 15$$

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

$$n - 1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan banyaknya ulangan setiap kelompok percobaan adalah lima ekor, sehingga pada penelitian ini dibutuhkan 25 ekor tikus dari populasi yang ada. Adapun 5 kelompok perlakuan yaitu :

1. Kelompok 1 (K-) : kelompok kontrol negatif diberi pangan standar, tanpa diberi perlakuan paparan asap rokok kretek maupun ekstrak bekatul beras merah selama 30 hari.
2. Kelompok 2 (K+) : kelompok kontrol positif diberi pangan standar dan perlakuan paparan asap 2 batang rokok kretek perhari selama 30 hari tanpa diberi ekstrak bekatul.
3. Kelompok P1 : kelompok perlakuan 1 diberikan pangan ekstrak bekatul beras merah dengan dosis 100 mg/kgBB perhari dan perlakuan paparan asap 2 batang rokok kretek perhari selama 30 hari.
4. Kelompok P2 : kelompok perlakuan 2 diberikan pangan ekstrak bekatul beras merah dengan dosis 200 mg/kgBB perhari dan perlakuan paparan asap 2 batang rokok kretek perhari selama 30 hari.
5. Kelompok P3 : kelompok perlakuan 3 diberikan pangan ekstrak bekatul beras merah dengan dosis 400 mg/kgBB perhari dan perlakuan paparan asap 2 batang rokok kretek perhari selama 30 hari.

Selanjutnya untuk mengantisipasi *drop out* atau hilangnya unit eksperimen, maka rumus diolah kembali dengan rumusan :

$$N = \frac{n}{1 - F}$$

Keterangan :

N = Besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

F = perkiraan proporsi *drop out* 10% (Sastroasmoro dan Ismael, 2010).

$$N = \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,55$$

$$N = 6$$

Jadi, 1 ekor tikus putih jantan ditambahkan pada masing-masing kelompok perlakuan untuk menghindari *drop out* sehingga total keseluruhan sampel yang dibutuhkan adalah 30 ekor.

### 3.3.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

#### 1. Kriteria Inklusi

- a) Tikus putih galur *Sprague dawley*
- b) Berat tikus 200-350 gram

- c) Berusia sekitar 2,5-3 bulan
- d) Jenis kelamin jantan

## 2. Kriteria Ekslusi

- a) Sakit (tikus dengan rambut kusam, rontok dan aktivitas kurang atau tidak aktif)
- b) Mati selama masa intervensi atau perlakuan
- c) Terjadi penurunan berat badan tikus 10% selama aklimatisasi

## 3.4 Alat dan Bahan

### 3.4.1 Alat

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a) Neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 300 gr/0,1 g untuk menimbang tikus
- b) Sduit
- c) Sonde lambung
- d) Mikroskop cahaya
- e) Sarung tangan karet
- f) Masker
- g) Minor set untuk membelah perut tikus (*laparotomy*)
- h) Rotatory microtom
- i) Embedding casesette
- j) Scalpel

- k) Cover glass
- l) Object glass
- m) Rokok kretek
- n) Kandang dan wadah pakan tikus.

### 3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a) Tikus putih jantan galur *Sprague dawley* usia 2,5-3 bulan
- b) Bekatul beras merah
- c) Etanol 96%
- d) Pakan tikus
- e) Air minum tikus
- f) Sekam tikus
- g) Pewarna Haris Hematoksilin
- h) Formalin 10%
- i) Alkohol 70%
- j) Alkohol 96%
- k) Alkohol absolut
- l) Xylol I dan II
- m) Minyak emersi

### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Pemilihan Hewan Coba**

Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh bekatul beras merah pada hewan coba. Sebagai model dipilih tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tikus ini dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia. Selain itu, dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba, maka pengaruh diet dapat benar-benar dikendalikan dan terkontrol.

Tetapi, hal ini juga mempunyai kelemahan karena manusia dapat mengkonsumsi makanan yang lebih beragam, sehingga kondisi yang dicapai pada penelitian kemungkinan akan berbeda dengan kenyataan pada manusia. Walaupun demikian, hal ini merupakan pendekatan yang paling dapat dilaksanakan.

#### **3.5.2 Aklimatisasi Hewan Coba**

Tikus putih jantan galur *Sprague dawley* akan menjalani masa aklimatisasi selama 7 hari di kandang pemeliharaan *Animal House* FK Unila untuk menyeragamkan cara hidup dan makanannya sebelum diberi perlakuan. Kandang dari tikus putih berjumlah 5 dimana setiap tikus dimasukkan dalam kandang secara acak dan setiap kandang berisi 6 tikus putih jantan galur *Sprague dawley*. Dilakukan penimbangan pada tikus

putih. Ukuran kandang untuk 1 kelompok tikus minimal 35x35x17 cm, dengan atapnya ditutup dengan anyaman kawat (NRC, 2011). Temperatur untuk pemeliharaan tikus putih adalah 25-30°C. Makanan untuk tikus menggunakan makanan BRAVO512 yang telah berstandar untuk diberikan pada tikus dalam penelitian.

### **3.5.3 Pembuatan Ekstrak Bekatul**

Bekatul beras merah merupakan limbah proses penggilingan padi yang didapatkan dari daerah Serang, Banten. Ekstrak bekatul beras merah dilakukan di Fakultas Pertanian Program studi Teknik Hasil Pertanian. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebab etanol bersifat tidak toksik dan meningkatkan dari aktivitas antioksidan (Widarta dan Arnata, 2014). Pada tahap awal, bekatul beras merah diayak menggunakan mesh ukuran 60. Kemudian, diinkubasi dengan oven pada suhu 105° selama 5 menit untuk mendeaktivasi enzim lipase yang mengakibatkan bekatul menjadi tengik (Purwanto, Fajriyati, & Wahyuningtyas, 2014). Selanjutnya, bekatul beras merah yang sudah disiapkan akan di ekstraksi dengan metode maserasi dengan cara bekatul tersebut direndam dalam pelarut etanol 96%, pelarut dipersiapkan sesuai dengan perbandingan 1 gr : 6 ml sambil diaduk menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 7 pada suhu kamar. Hasil kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat akan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 30° sehingga didapatkan ekstrak bekatul beras

merah. Setiap 1 kg bekatul utuh menghasilkan ekstrak 31,197 gram (Laili, Taufiqurrachman, dan Eni, 2016).

### 3.5.3.1 Perhitungan dosis bekatul beras merah

Menurut penelitian sebelumnya, didapatkan dosis ekstrak bekatul efektif yaitu 200 mg/KgBB (Laili, Taufiqurrachman, dan Eni, 2016). Oleh karena itu, peneliti menggunakan dosis 200 mg/KgBB. Dosis pertama diturunkan menjadi 100 mg/KgBB dan dosis ketiga dinaikkan menjadi 400 mg/KgBB. Perhitungan dosis ekstrak bekatul pada tikus yang memiliki BB 200 gram :

Dosis 1 ekstrak bekatul :

$$100 \frac{mg}{KgBB} \times 0,2 Kg = 20 mg$$

Dosis 2 ekstrak bekatul :

$$200 \frac{mg}{KgBB} \times 0,2 Kg = 40 mg$$

Dosis 3 ekstrak bekatul :

$$400 \frac{mg}{KgBB} \times 0,2 Kg = 80 mg$$

Jadi, total ekstrak bekatul selama penelitian untuk tikus dengan BB 200 gram :

$$\text{Dosis 1 ekstrak bekatul : } 20 \text{ mg} \times 6 \times 30 = 3600 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 2 ekstrak bekatul : } 40 \text{ mg} \times 6 \times 30 = 7200 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 3 ekstrak bekatul : } 80 \text{ mg} \times 6 \times 30 = 14400 \text{ mg} +$$

---


$$\text{Total} = 25200 \text{ mg}$$

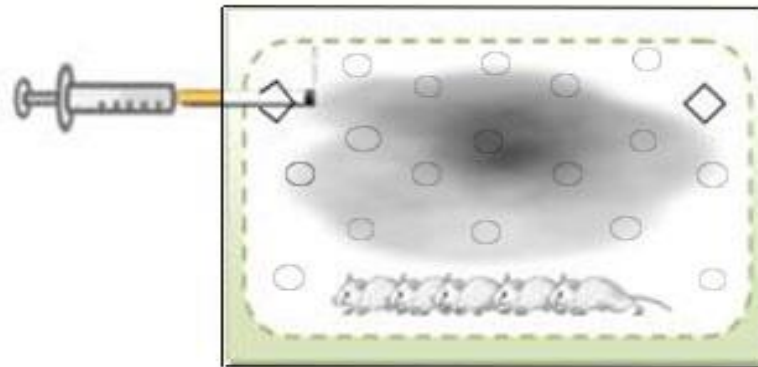


Dari total ekstrak bekatul yang dibutuhkan sebesar 25200 mg = 25,2 gram, maka dapat dihitung banyaknya bekatul yang akan diekstraksi yaitu:

$$\begin{aligned} \frac{1000}{X} &= \frac{31,197}{25,2} \\ X &= \frac{25,2 \times 1000}{31,197} \\ X &= 807,76 \text{ gram.} \end{aligned}$$

#### 3.5.4 Induksi Paparan Asap Rokok Kretek

Setiap harinya selama kurang lebih 30 hari, kelompok kontrol 2 dan kelompok percobaan 1–3 akan mendapatkan paparan asap rokok. Rokok yang dipakai adalah rokok kretek dimana 1 batang rokok mengandung nikotin 2.3 mg dan tar 39 mg. Pemaparan dilakukan menggunakan smoking chamber dengan membuat desain yang diberi 2 celah. Celah 1 untuk air pump dengan spuit 10cc dan dihubungkan oleh selang karet sepanjang 3 cm untuk menghantarkan asap rokok ke dalam kandang pemaparan dan celah 2 digunakan untuk ventilasi udara (Fitriana, Sutyarso, dan Susantiningsih, 2014). Dalam mencegah hipoksia pada tikus maka smoking chamber dibuat beberapa lubang. Berikut gambar smoking chamber untuk mencegah hipoksia pada tikus.



**Gambar 12.** Smoking Chamber (Fitriana, Sutyarso, dan Susantiningsih, 2014)

Pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemaparan asap rokok kretek dengan dosis 2 batang per hari selama 1 bulan dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif pada eritrosit tikus yang dipapar asap rokok kretek. Stress oksidatif yang terjadi pada eritrosit dapat meningkatkan kadar lipid peroksida sebab eritrosit atau sel darah merah memiliki membran yang mengandung asam lemak tak jenuh yang sangat rawan terhadap serangan radikal hidroksil (OH). Apabila asam lemak tak jenuh berikatan dengan OH maka dapat menyebabkan kerusakan sel pada berbagai organ (Syamsulina, 2005).

### 3.5.5 Terminasi Hewan Coba

Pada akhir perlakuan, tikus akan dimasukkan dalam toples berisi kapas yang dibasahi eter kemudian ditunggu sampai mati. Setelah itu dilakukan pembedahan untuk mengambil organ arteri koronaria pada tikus. Bangkai tikus dimusnahkan dengan cara pembakaran di Balai Veteriner Bandar Lampung.

### 3.5.6 Prosedur Pengambilan Bagian Arteri Koronaria

Pada penelitian ini akan dilakukan pengamatan terhadap diameter lumen arteri koronaria. Bagian arteri koronaria diambil dengan potongan longitudinal dibawah 3 mm dari perbatasan atrium dan ventrikel (Eckman *et al.*, 2013). Rumus yang digunakan untuk menghitung rerata diameter lumen arteri tersebut yaitu:4 titik yang dapat mewakili diameter arteri koronaria secara keseluruhan kemudian dirata-ratakan

### 3.5.7 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

- a). *Fixation*
- b). *Trimming*
- c). *Dehidrasi*
- d). *Clearing*
- e). *Impregnasi*
- f). *Embedding*
- g). *Cutting*
- h). *Straining* (Pewarnaan) dengan Prosedur Pulasan Hematoksilin– Eosin
- i). *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*
- j). *Slide* dibaca dengan mikroskop (Tim Laboratorium Histologi, 2017).

### 3.6 Identifikasi Variabel Operasional

#### 3.6.1 Identifikasi variabel

a) Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak bekatul beras merah yang diberikan pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley*.

b) Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan diameter lumen arteri koronaria tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

### 3.7 Definisi Operasional Variabel Penelitian

**Tabel 4.** Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Ekstrak bekatul beras merah	Pemberian ekstrak bekatul beras merah. Diberikan dengan dosis bervariasi yaitu dosis 1: 100 mg/kgBB gr, dosis 2 : 200 mg/kgBB gr, dan dosis 3: 400 mg/kgBB	Sonde lambung	mg/ekor	Ordinal
Diameter lumen arteri koronaria	Diameter lumen arteri koronaria yang diukur pada 4 titik yang dapat mewakili diameter arteri koronaria secara keseluruhan kemudian dirata-ratakan (Tim Laboratorium Histologi, 2017)	Mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x (Tim Laboratorium Histologi, 2017)	Nilai rerata diameter lumen arteri koronaria hewan coba	Numerik

### 3.8 Rancangan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan terhadap gambaran histopatologi arteri koronaria hewan coba dengan mikroskop diuji analisis statistik. Hasil penelitian akan dianalisis apakah memiliki distribusi normal ( $p > 0,05$ ) dengan uji normalitas *Shapiro–Wilk* karena jumlah sampel  $\leq 50$ . Jika berdistribusi normal maka akan dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*. Pada uji ANOVA apabila menghasilkan nilai  $p < 0,05$  maka akan dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc Bonferonni* atau *Tamhane's*. Tetapi, sebelum melakukan analisis *Post Hoc* maka akan dilakukan uji Levene untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama

( $p > 0,05$ ) atau tidak. Apabila tidak memenuhi syarat uji parametrik maka akan dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Jika pada uji non parametrik *Kruskal Wallis* menghasilkan nilai  $p < 0,05$  maka akan dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc Mann Whitney* (Dahlan, 2011).

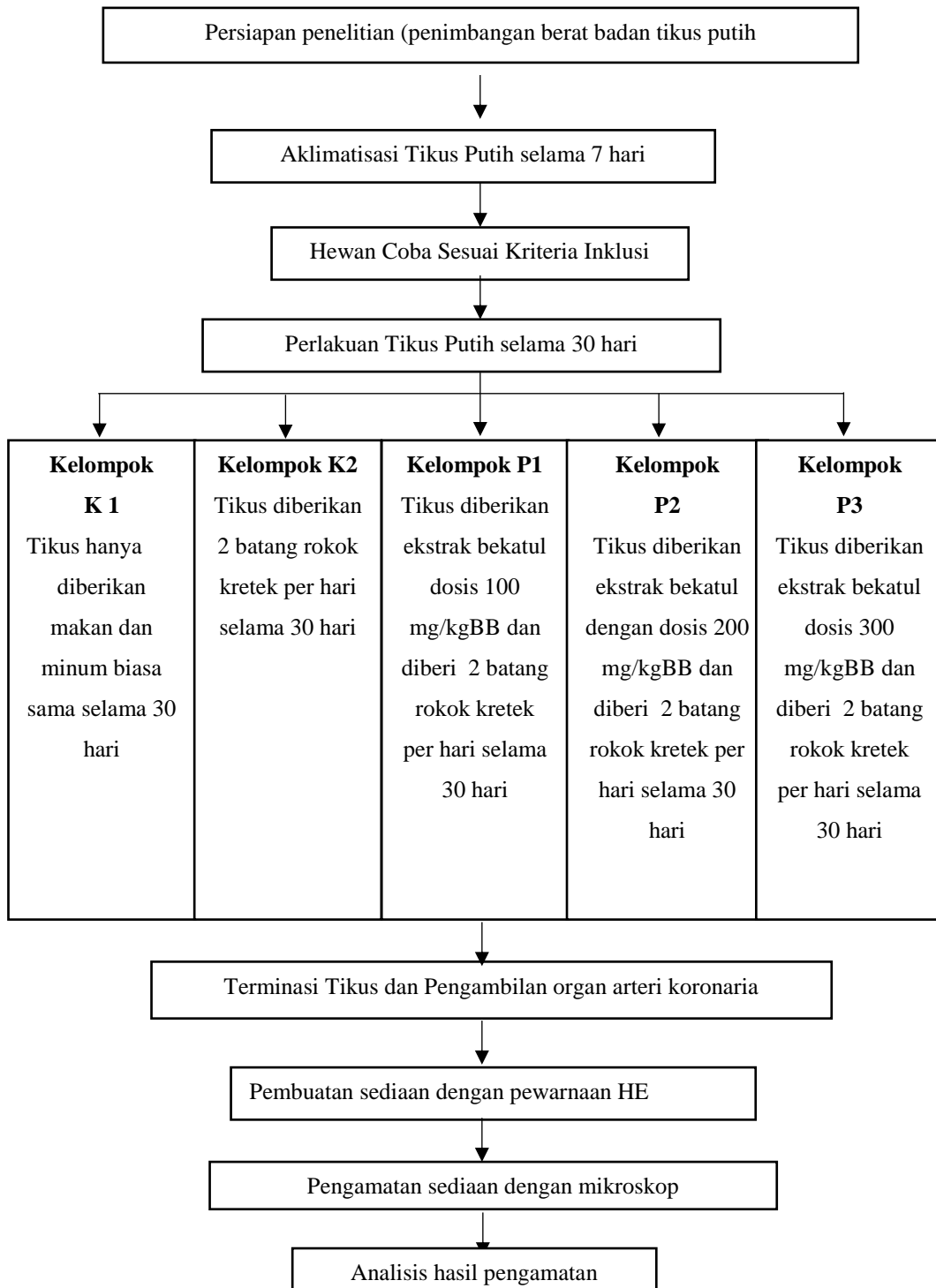
### 3.9 Etika Penelitian

Ethical Clearance penelitian ini akan didapatkan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Prinsip etika dalam menggunakan hewan coba untuk penelitian harus memenuhi prinsip 3R yaitu:

1. *Replacement* adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan secara seksama, baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.
2. *Reduction* adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Dalam penelitian ini sampel dihitung berdasarkan rumus Frederer yaitu  $t(n-1) \geq 15$ , dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan.
3. *Refinement*, adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi, dengan prinsip dasar membebaskan hewan coba dalam beberapa kondisi.
  - a. Bebas dari rasa lapar dan haus, pada penelitian ini hewan coba diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*.

- b. Bebas dari ketidaknyamanan, pada penelitian hewan coba ditempatkan di *pet house* dengan suhu terjaga 20–25°C, kemudian hewan coba terbagi menjadi 3–4 ekor tiap kandang. *Pet house* berada jauh dari gangguan bising dan aktivitas manusia serta kandang dijaga kebersihannya sehingga mengurangi stress pada hewan coba.
- c. Bebas dari nyeri dan penyakit dengan menjalankan program kesehatan, pencegahan dan pemantauan, serta pengobatan terhadap hewan percobaan jika diperlukan, pada penelitian hewan coba diberikan perlakuan dengan menggunakan *nasogastric tube* dilakukan dengan mengurangi rasa nyeri sesedikit mungkin, dosis perlakuan diberikan berdasarkan pengalaman terdahulu maupun literatur yang telah ada.

### 3.10 Alur Penelitian



**Gambar 13.** Alur Penelitian



## **BAB 5**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Pemberian ekstrak bekatul beras merah berpengaruh terhadap diameter lumen arteri koronaria. Semakin tinggi dosis ekstrak bekatul, maka semakin meningkat diameter lumen arteri koronaria.

#### **5.2 Saran**

1. Bagi peneliti lain disarankan untuk meneliti lebih lanjut dengan pemberian dosis yang berbeda dalam menilai bagaimana hubungan pemberian ekstrak bekatul beras merah terhadap diameter lumen arteri koronaria.
  
2. Bagi masyarakat disarankan untuk menghindari konsumsi rokok dan memanfaatkan bekatul beras merah dalam kehidupan sehari-hari.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam JMF. 2007. Dislipidemia. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-6. Jakarta: InteraPublishing. hlm. 1926–28.
- Akhtar A. 2012. Animal in public health. Amerika Serikat: Palgrave Macmillan.
- Alfiani R. 2014. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit dan daging buah pisang (*Musa Paradisiaca* L.) dengan metode Dpph [tugas akhir]. Surakarta: Universitas Surakarta.
- Amarudin. 2012. Pengaruh merokok terhadap kualitas sperma pada pria dengan masalah infertilitas studi kasus control di Jakarta [tesis]. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Andari A. 2010. Uji aktivitas ekstrak daun katuk (*Sauropus andogynus* L, Merr.) sebagai antioksidan pada minyak kelapa [skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Arief S. 2007. Radikal bebas. Surabaya: Ilmu kesehatan Anak FK Universitas Airlangga.
- ASPA. 2012. Smoked tobacco products. Department of Health and Human Services [intenet] [diunduh 24 Juli 2017]. Tersedia dari <http://betoaccpfree.hhs.gov/about-tobacco/Smoked-Tobacco-Products/>
- Avery L. 2016. Rice bran may guard against colon cancer [intenet] [diunduh 28 Juli 2017]. Tersedia dari: <http://www.healthguidance.org/entry/16800/1/Rice-Bran-May-Guard-Against-Colon-Cancer.html>.

- Bahorun T, Sobrattee MA, Laximon V, Arouma OI. 2006. Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. *J Med Update*. 1(2): 25-41.
- Balasaheb S, Pal D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*. 5:27986–28006.
- Bano S, Saeed S. 2014. Gender differences in nicotine induced dyslipidemia and hyperglycemia in mice. *J Appl Sci*. 10(1): 33-8.
- Baraas F. 2006. Kardio molekuler, radikal bebas, disfungsi endotel, aterosklerosis, antioksidan, latihan fisik dan rehabilitasi jantung. Jakarta: Yayasan Kardia Ikratama.
- Baynes JW. 2005. Carbohydrate storage and synthesis in liver and muscle. Dalam: Baynes JW, Dominiczak MH, editor. *Medical Biochemistry*. Edisi ke-2. Philadelphia. Elsevier Mosby. hlm: 157-74.
- Benowitz NL, Dains KM, Hall SM, Syewart S, Wilson M, Dempsey D, et al. 2012. Smoking behavior and exposure to tobacco toxicants during 6 month of smoking progressively reduced nicotine content cigarettes. *N. Engl J Med*. 21: 761-9.
- Bernard D. 2010. Cigarette smoke toxicity: linking individual chemical to human disease. Austria: Wiley-vch. hlm. 121-144.
- Boyle P, Gray N, Henningfield J, Seffrin J, Zatonski W. 2010. Tobacco: science, policy and public health. Inggris: Oxford University Press. hlm. 287-307.
- Caillet S, Lorenzo G, Cote J, Sylvain JF, Laroxic M. 2012. Free radical scavenging properties and antioxidant activity and chemical constituents from cranberry products. *J Nutrit Sci*. 3(1): 337-47.
- CancerHelps. 2013. 10 Negara perokok dunia [internet] [diunduh 27 Juli 2017]. Tersedia dari: <http://www.cancerhelps.co.id/Hot-News/daftar-10-negara-perokok-terbesar-di-dunia.html>.
- Centers for Disease and Prevention (CDC). 2010. Chemistry and toxicology of cigarette smoke and biomarkers of exposure and harm. Geneva: CDC.

- Cholidah DK. 2017. Pemberian ekstrak bekatul beras merah (*Oryza nivara*) sama efektif dengan simvastatin dalam memperbaiki kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) dislipidemia [tesis]. Denpasar: Universitas Udayana.
- Chung KF, Adcock IM. 2008. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction. *Eur Respir J*. 31(1): 1334–56.
- Dahlan MS. 2011. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Jakarta: Salemba Medika. hlm. 89–127.
- Damayanti E, Kustiyah L, Khalid M, Farizal H. 2010. Aktivitas antioksidan bekatul lebih tinggi daripada jus tomat dan penurunan aktivitas antioksidan serum setelah intervensi minuman kaya antioksidan. *J Nutrition Food*. 5(3): 205-10.
- Damayanthi E. 2001. Rice Bran Stabilization and  $\gamma$ -Oryzanol Content of Two Local Paddy Varieties “IR 64” and “Cisadane Muncul”. *J Teknologi dan Industri Pangan XV* (1). hlm: 11-19.
- Dimmeler S, Zeiher AM. 2004. Unchain my heart: the scientific foundation of cardiac repair. *J Chin Incest*. 115: 572-83.
- Duncan KR, Suzuki YJ. 2017. Vitamin E nicotinate. *J Antioxidants*. 6(1): 20.
- Depkes. 2013. Peraturan pemerintah tembakau. Menyelamatkan Kesehatan Masyarakat dan Perekonomian.
- Dewi S, Indisari. 2011. Pengaruh penyosongan gabah dan pemasakan terhadap kandungan vitamin B bekatul beras merah. *J Pertanian Pangan*. 30(3): 15-23.
- Eberhardt MK. 2001. Mechanisms of lipid peroxidation-induced pathogenesis. Reactive oxygen metabolites chemistry and medical consequences. *CRC Plos One*. 8(2): 1-6.
- Eckman DM, Stacey RB, Rowe R, Agostino RD, Kock ND. 2013. Weekly doxorubicin increases coronary arteriolar wall and adventitial thickness. *J Plos One*. 8(2): 1-6.

- Ema, Mulyatin T, Sumbara. 2014. Hubungan kebiasaan merokok dengan kejadian penyakit jantung koroner di Poli Dalam Rawat Jalan RSUD Sumedang. *Bhakti Kencana Medika*. 4(1):1-74.
- Estina, 2010. Jenis dan ciri-ciri tikus laboratorium disertai gambar [internet]. [diunduh 23 Juli 2007]. Tersedia dari: <https://dokterternak.wordpress.com/2010/11/05/jenis-dan-ciri-ciri-tikus-labolatorium-disertai-gambar/>
- Federer WT. 1977. *Experimental design theory and aplication*. Edisi ke-3. Inggris: Oxford and IBH Publishing.
- Fitriana R, Sutyarso, Susantiningsih T. 2014. The effect of red ginger ethanol extract (*zingiber officinale roxb var rubrum*) on sperm motility and morphology of cigarette smoke-induced male rats (*rattus norvegicus*) sprague dawley strains. *Majority*. 3(2): 154-63.
- Guyton AC, Hall JE. 2008. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Harris A, Ikhsan M, Rogayah R. 2012. *Asap rokok sebagai bahan pencemar dalam ruangan*. Departemen Pulmonologi dan Ilmu Kedokteran Respirasi. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hilbert T, Lifshitz MS. 2007. *Lipids and dyslipoproteinemia dalam: henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. US: Saunders Elsevier. hlm: 201-17.
- Isdadiyanto, Moeljopawiro S, Puniawati SN, Wuryastuty H. 2013. Chitosan mempertipis dinding dan memperbesar diameter lumen arteri koroner tikus putih yang diberi lemak tinggi. *J Veteriner*. 14:310-6.
- Isroi. 2010. *Biologi rat (Rattus norvegicus)* [internet] [diunduh 23 Juli 2017]. Tersedia dari: <http://www.isroi.wordpress.com>.
- Junqueira LC, Carneiro J. 2011. *Histologi dasar teks dan atlas*. Jakarta: EGC.

- Kementerian Kesehatan RI. 2013. Riset kesehatan dasar. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Laili NH, Taufiqurrachman, Eni. 2016. Pengaruh ekstrak bekatul terhadap peningkatan total antioxidant status (TAS) pada tikus yang diinduksi MSG [skripsi]. Semarang: Universitas Islam Sultan Agung.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. 2002. Inflammation and atherosclerosis. *J. Circulation*. 1(5): 1135–43.
- Lyell F, Belfort M. 2007. The role of oxidative stress in preeclampsia. *Preeclampsia etiology and clinical practice*. hlm. 121-137.
- Mangimbulude JC, Karwur FF. 2013. Merokok dan oksidasi DNA. *J Sains Medika*. 5(2): 113–120.
- Mardjun Y. 2012. Perbedaan keadaan tulang alveolar antara perokok dan bukan perokok [skripsi]. Makassar: Universitas Hasanudin.
- Mescher AL. 2010. Junqueira`s basic histology text and atlas. US: McGraw–Hill. hlm. 203–17.
- Minatel IO, Francisqueti FV, Corrêa CR, Pace G, Lima P. 2016. Antioxidant activity of  $\gamma$ -oryzanol : a complex network of interactions. *J Mol Sci*. 17(8): 1–15.
- Mindasari R. 2010. Studi antioksidan pada pembuatan tempe dari kedelai, jagung, dan dedek padi [skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Miryanti A, Sapei L, Budiono K, Indra S. 2011. Estraksi antioksidan dari kulit buah manggis. Laporan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Pengantar ilmu gizi. Bandung: Alfabeta.
- Miyanti G. 2010. Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah pala dan ekstrak air buah pala (*Myristica Fragan Houtt*) dengan metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil) [skripsi]. Semarang: Universitas Negeri Surakarta.

- Muchtadi D. 2014. Pengantar ilmu gizi. Bandung: Alfabeta.
- Muhtadi, Leoni A, Hidayati, Suhendi A, Azizah T, Sudjono, et al. 2014. Pengujian daya antioksidan dari beberapa ekstrak kulit asli indonesia dengan metode FTC. Simposium Nasional RAPI XIII FT UMS; 2013 desember 5; Surakarta. Indonesia: RAPI. hlm. K50-8.
- Mumpuni PD, Ayustaningwarno F. 2013. Analisis Kadar Tokoferol,  $\gamma$ -Oryzanol dan  $\beta$ -karoten Serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar. Journal of Nutrition College. 2(3):350-7.
- Mitchell RN, Schoen FJ. 2010. Blood vessels. Dalam: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, penyunting. Robbins and Contran pathologic basis of disease. Edisi ke-8. Philadelphia: Saunders Elsevier. hlm. 516-7.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA. 2003. Biokimia harper. Edisi ke-25. Jakarta: EGC.
- Moongngarm A, Daomukda N, Khumpika S. 2012. Chemical compositions , phytochemicals, and antioxidant capacity of rice bran , rice bran layer, and rice germ. APCBEE Procedia. 2(2012): 73–9.
- Moore KL, Agur AMR. 2013. Anatomi klinis dasar. Jakarta: Hipokrates.
- Nashriana N. 2015. Combined food (bekatul dan lemak) menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL pada tikus galur wistar. J FK Brawijaya. 28 (3): 208-12.
- Notoadmodjo S. 2012. Metodologi penelitian kesehatan. Jakarta: PT Rineka Cipta
- NRC. 2011. Guide for the care and use of laboratory animals. Edisi ke-8. Washington DC. National Academic Press.
- Nurasizah. 2015. Faktor individu yang berhubungan dengan tindakan merokok mahasiswa di universitas hasanuddin [skripsi]. Makasar: Universitas Hasanudin.

- Nursalim Y dan Razali ZY. 2007. Bekatul Makanan yang Menyehatkan. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Park H, Lee K, Choi H. 2017. Rice bran constituents: immunomodulatory and therapeutic activities. *Food Funct.* 22(8): 935-43.
- Paulsen F, Waschke J. 2013. Atlas anatomi sobotta jilid 3. Edisi ke-23. Jakarta: EGC.
- Piade J, Roemer E, Dempsey R, Schorp MK. 2014. Toxicological assessment of kretek cigarettes part 2: kretek and american-blended cigarettes, smoke chemistry and in vitro toxicity. *Regulatory Technology and Pharmacology.* 70(14): 515-25.
- Peckett AJ, Wright C, Riddell MC. 2011. The effect of glucocorticoid on adipose tissue lipid metabolism. *Metabolism.* 60(11): 1500-10.
- Prasetyo A, Udadi S. 2009. Profil lipid dan ketebalan dinding arteri abdominalis tikus wistar pada injeksi inisial adrenalin intra vena dan diet kuning telur intermitten. *Media Medika Indonesia.* 35(3): 149-57.
- Priyanto. 2010. Toksikologi, mekanisme, terapi antidotum, dan penilaian resiko. Depok: Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi.
- Purwanto A, Fajriyati NA, Wahyuningtyas D. 2014. Pengaruh jenis-jenis pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan dalam ekstrak minyak bekatul padi (rice bran oil). *J Teknik Kimia UNS.* 13(1): 29-34.
- Putra AP. 2009. Efektivitas pemberian kedelai pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) bunting dan menyusui terhadap pertumbuhan dan kinerja reproduksi anak tikus betina [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ramatina. 2011. Efektivitas berbagai suplemen antioksidan terhadap penurunan status oksidatif (Malondialdehid (MDA) plasma) pada mahasiswi alih jenis IPB [tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rivanda A. 2015. Pengaruh paparan karbon monoksida terhadap daya konduksi trakea. *Majority.* 4(8): 1-7.



- Rukmini A. 2001. Komparasi efektivitas adsorben komersial dan non komersial dalam proses regenerasi minyak jelantah. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan; 2001 Oktober 9-10; Semarang. Indonesia: Universitas Widya Mataram.
- Robbins SL, Kumar V. 2007. Buku ajar patologi. Edisi ke-7. Jakarta: EGC.
- Roberts JM, Hubel CA. 2009. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 30: 32–7.
- Rohdiana D. 2001. Radical scavengers activity of tea polyphenol. *Majalah Farmasi Indonesia*. 12(1): 53-8.
- Sastroasmoro S, Ismael S. 2010. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta: Sagung Seto.
- Saleh KNB. 2011. Prevalensi penderita penyakit paru obstruksi kronis (PPOK) dengan riwayat merokok di rumah sakit umum pusat haji adam Malik [skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Salawah E, Purwaningsih S, Permatasari E. 2011. Aktivitas antioksidan dan komponen bioaktif pada selada air (*Nasturtium officinale* L.R.Br). *J Perikanan Indonesia* . 14(2): 85-91.
- Sebastian C. 2012. *Metabolisme Lipid*. Jakarta: FK Universitas Trisakti. hlm. 1–25.
- Selewa W, Runtuwene MR, Citraningtyas G. 2013. Kandungan flavanoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1): 18-22.
- Shah AM, Channon KM. 2004. Free radicals and redox signalling in cardiovascular disease. *J. of Heart*. 1(1):486–7.
- Sharma R, Srivastava T, Saxena DC. 2015. Studies on rice bran and its benefits- a review. *International hournal of engineering research and applications*. 5(5): 107–112

- Sherwood L. 2011. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Jakarta: EGC.
- Susanna D, Hartono B, Fauzan H. 2003. Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok. *J FKMUI*. 7(2): 2–5.
- Susanto D, Ayustaningwarno F. 2011. Potensi bekatul sebagai sumber antioksidan dalam produk selai kacang [artikel penelitian]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Syamsulina R. 2005. Efek proteksi ekstrak buah merah terhadap stress oksidatif di eritrosit *Rattus novvergicus galur wistar* yang terpapar asap rokok kretek [tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Tao L, Kendall K. 2013. Sinopsis organ sistem kardiovaskular, diterjemah oleh Hartono A dan Gunardi S. Tangerang Selatan: Karisma Publishing Group.
- Tim Laboratorium Histologi. 2017. Instruksi kerja pembuatan preparat histopatologi laboratorium anatomi, histologi, dan patologi anatomi fakultas kedokteran universitas lampung. Lampung: Universitas Lampung.
- Tjitrosoepomo, G. 2010. Taksonomi tumbuhan (Spermatophyta). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ulilalbab A, Wirjatmadi B, Adriani M. 2015. Ekstrak kelopak rosella merah mencegah kenaikan malondialdehid tikus wistar yang dipapar asap rokok. *J Farmasi Indonesia*. 13(2): 215-20.
- Valavanidis T. 2009. 8-OhdG: A critical biomaker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Sci Health [online journal]* [diunduh pada 10 september 2017]. Tersedia dari: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10590500902885684?scroll=top&needAccess=true>.
- WHO. 2011. Global adult tobacco survey: Indonesia report.
- WHO. 2015. WHO Global Report on Trends in Prevalence of Tobacco Smoking. Switzerland: WHO press.

- Widarta IWR, Tengah IGP, Suter IK, Arnata IW. 2013. Aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah dalam sistem pangan [artikel penelitian]. Denpasar: Universitas Udayana.
- Widarta IWR, Nocianitri KA, Sari LPIP. 2013. Ekstraksi komponen bioaktif bekatul beras lokal dengan beberapa jenis pelarut. *J Teknol Pangan*. 2(2): 75–79.
- Widarta IWR, Arnata IW. 2014. Stabilitas aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap oksidator dan pemanasan pada berbagai. *J Teknol dan Industri Pangan*. 25(2): 193-99.
- Wulandari J, Suter IK, Putra NK, Widarta IWR. 2011. Bekatul beras merah sebagai salah satu alternatif sumber antioksidan [artikel penelitian]. Denpasar: Universitas Udayana.
- Young LS, Woodside JV. 2001. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*. 54: 176-86.
- Zhaoli D. 2004. Fecal steroid excretion of rats fed rice bran oil and oryzanol. Master of Science [tesis]. Guangzhou: Jinan University.