

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ALOE VERA TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS*)
GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI ETANOL**

(Skripsi)

Oleh

AVICENNA MUHAMMAD ARCHIE



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ALOE VERA TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH JANTAN (*RATTUS
NORVEGICUS*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI
ETANOL**

Oleh:

AVICENNA MUHAMMAD ARCHIE

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2022**

Judul Skripsi

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ALOE VERA TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH
JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR
SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI
ETANOL**

Nama Mahasiswa

: Avicenna Muhammad Archie

No. Pokok Mahasiswa

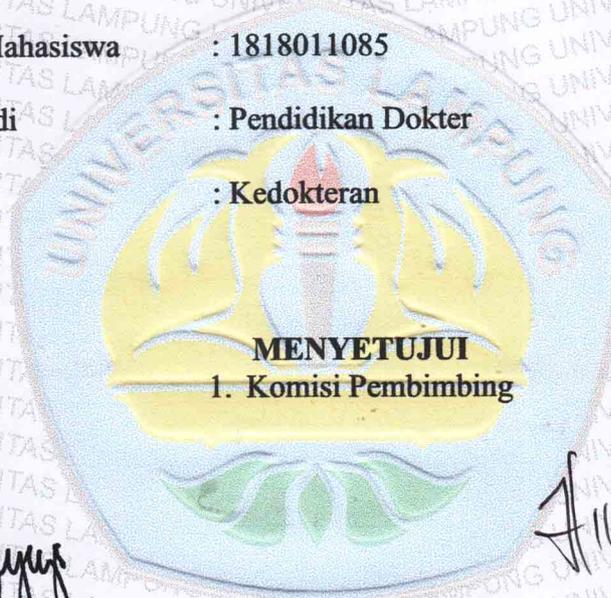
: 1818011085

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

dr. Putu Ristyaning A. S, M.Kes, Sp.PK

NIP. 231401760222201

dr. Helmi Ismunandar, Sp.OT

NIP. 198212112009121004

2. Dekan Fakultas Kedokteran



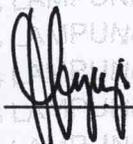
Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW., S. KM., M. Kes

NIP. 19720628 199702 2 001

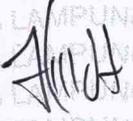
MENGESAHKAN

1. **Tim Penguji**

Ketua : dr. Putu Ristyning A. S, M.Kes, Sp.PK



Sekretaris : dr. Helmi Ismunandar, Sp.OT



Penguji

Bukan Pembimbing : Agustyas Tjiptaningrum, S. Ked., Sp. PK



2. **Dekan Fakultas Kedokteran**



Prof. Dr. Dyah Wulan SRW, S.K.M., M.Kes

NIP. 19720628 199702 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 07 April 2022

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ALOE VERA TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI ETANOL”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme. Hal intelektual dan 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, 13 April 2022
Pembuat pernyataan,



Avicenna Muhammad Archie

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Surakarta, Jawa Tengah pada tanggal 10 Agustus 2000, merupakan anak kedua dari dua bersaudara yang dilahirkan dari pasangan Bapak Adi Rastono dan Ibu Susiana Masithah Sudian Penulis memiliki kakak laki-laki yang bernama Muhammad Rafif Azzaki.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Djama'atul Ikhwan pada tahun 2005, Sekolah Dasar di SDIT Nur Hidayah di Surakarta pada tahun 2006 dari kelas satu sampai dua SD dan pindah sekolah ke SD Islam Al-Azhar 10 Kota Serang mengikuti pekerjaan orang tua pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama di SMP Islam Al-Azhar 11 Kota Serang pada tahun 2012 dan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Kota Serang pada tahun 2015. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Program Studi Pendidikan Dokter pada tahun 2018 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti kegiatan lembaga kemahasiswaan, yaitu FSI Ibnu Sina tahun 2019-2020 serta menjadi Kepala Departemen Danus periode 2019/2020.

**“Kupersembahkan karyaku ini kepada kedua orang tuaku, Mama, Papa,
dan Kakakku”**

وَقُلْ أَعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَى
عِلْمِ الْغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُمْ بِمَا كُنْتُمْ تَعْمَلُونَ

“Dan bekerjalah kamu, maka Allah dan Rasul-Nya serta orang-orang mukmin akan melihat pekerjaanmu itu, dan kamu akan dikembalikan kepada (Allah) Yang Mengetahui akan yang ghaib dan yang nyata, lalu diberitakan-Nya kepada kamu apa yang telah kamu kerjakan.”

(Qs. At-Taubah [9] : 105)

SANWACANA

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ALOE VERA TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI ETANOL”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung.

Penulis menyadari dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapat masukan, dukungan, bimbingan dan saran serta kritik yang membangun dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menghaturkan ucapan terimakasih dengan tulus yang sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT tuhan semesta alam yang selalu memberikan rahmat dan karuniaNya serta berbagai nikmat baik keimanan, kesehatan dan kesempatan, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua yang sangat saya hormati dan sayangi, Mama saya Susiana Masithah Sudian, S. H., M. Kn. dan Papa saya dr. Adi Rastono, Sp. B - KBD terimakasih atas segala doa, kasih sayang, perhatian, nasihat,

ilmu dan *support* di setiap langkah yang penulis tempuh untuk menggapai cita-cita dan masa depan yang insyaallah baik dan sesuai dengan harapan penulis semoga kelak apa yang telah dilakukan dapat berbalik sebagai kebaikan.

3. Kakak yang sangat saya hormati dan sayangi Muhammad Rafif Azzaki, terimakasih atas *support* dukungan, pengertian, nasihat dan ilmu yang telah diberikan melalui pembahasan mendalam mengenai berbagai hal sehingga penulis mendapat wawasan yang lebih luas dan pandangan melalui berbagai perspektif semoga kelak sukses dan apa yang dilakukan dapat berbalik sebagai kebaikan.
4. Prof. Dr. Karomani, M.Si selaku Rektor Universitas Lampung.
5. Dr. Dyah Wulan SRW, SKM, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
6. dr. Putu Ristyning A. S, M.Kes, Sp.PK., selaku pembimbing utama atas kesediannya meluangkan waktu, tenaga dan pikiran di tengah kesibukannya untuk mengajarkan, membukakan pikiran penulis, memberikan masukan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. dr. Helmi Ismunandar, Sp.OT selaku pembimbing kedua penulis yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga serta nasihat-nasihat kepada penulis di tengah kesibukannya.
8. dr. Agustyas Tjiptaningrum, S. Ked., Sp. PK selaku pembahas utama yang telah memberikan masukan, saran, kritik yang membangun serta ilmu penelitian kepada penulis dalam proses penyusunan skripsi ini.

9. dr. Oktafany., M.Pd.Ked., selaku Pembimbing Akademik penulis di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah memberikan masukan dan dukungannya dalam bidang akademik.
10. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan penulis di masa preklinik.
11. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi ini.
12. Untuk Bu Nuriah yang sudah bersedia meluangkan waktunya membantu dan berbagi ilmu kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
13. Untuk sahabat saya Muhammad Irfan Hamdi terimakasih atas ilmu, dukungan dan bantuan yang diberikan selama saya mengenal anda, semoga kelak sukses dan segala yang diharapkan dan diusahakan untuk kebaikan dapat tercapai.
14. Untuk teman dekat saya yang tidak bisa saya sebutkan satu-satu terimakasih atas segala bantuan yang pernah diberikan sampai saat ini, semoga kelak dapat sukses dan dapat menggapai cita-cita yang diharapkan
15. Untuk keluarga besar kost D'Sofia baik penghuni maupun pengurus, terimakasih banyak atas canda-tawa, ilmu, dan pengalaman yang diberikan semoga kita semua dapat sukses dan menggapai cita-cita yang diharapkan.
16. Untuk tutor 11 Cardi-B (HFD, Dery, Bunbun/Dwika, Farid, Herman, Hasri, Betsheba, Dhaifany, Syarifa) terimakasih atas canda-tawa dan ilmu yang telah diberikan semoga kelak sukses dan dapat menggapai cita-cita yang diharapkan.

17. Kelompok BAMBANG, Dhani Achmad Maulana dan Muhammad Reivan Athoriq, terimakasih atas ilmu, waktu, usaha, dan keringat yang telah digunakan untuk menyelesaikan skripsi ini secara bersama, semoga kelak kita dapat sukses dan mewujudkan impian kita.
18. Kepada teman-teman GRUBB ONLEN yang telah membantu penulis dalam menimba ilmu selama jalannya masa preklinik di Fakultas Kedokteran.
19. Kepada teman-teman ERACLEA (HFD, Roviq, Anfasha, Rafi, Farid, Chris) atas canda-tawa dan pengalaman yang diberikan semoga kelak sukses dan dapat menggapai cita-cita dan harapan yang diharapkan.
20. Kepada teman-teman angkatan 2018 (F18BRINOGEN) yang telah berjuang bersama selama masa pendidikan.

Akhir kata penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna pada saat penulisan dan penyusunan skripsi ini. Untuk itu, Penulis menerima segala kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap, penelitian yang dilakukan dan penyusunan skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca. Terima kasih banyak kepada seluruh pihak yang sudah memberikan dukungan, bimbingan, saran, dan masukkannya kepada penulis semoga apa yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT.

Bandar Lampung, 13 April 2022

Penulis,

Avicenna Muhammad Archie

ABSTRACT

THE EFFECT OF ALOE VERA EXTRACT ON THE MALONDIALDEHYDE LEVELS IN MALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) *Sprague dawley* STRAIN INDUCED BY ETHANOL

By

AVICENNA MUHAMMAD ARCHIE

Background: Regular use of alcohol causes toxicity and pathological problems that can be a threat to society. High concentration of MDA indicates an oxidation process in the cell. Various studies have proven that aloe vera plant has an antioxidant effect. This study was conducted to determine the effect of aloe vera ethanol extract on malondialdehyde levels in male white rats induced by ethanol.

Methods: This study uses experimental methods with post-test only control group design, observing the comparison between before being treated and after being given treatment. Using 35 male white rats divided into 5 groups. Negative control group was given standard feed and drinking (K1), positive control group (K2) was given 40% ethanol with dose of 1.8mL/day, treatment group (P1, P2, and P3) was given 40% ethanol orally with dose of 1.8mL/day and ethanol extract 70% aloe vera was treated with doses of 400, 300, and 200 mg/KgBW/day for 14 days. Blood samples were taken and was examined using spectrophotometer with wavelength of 530nm.

Results: The results obtained $K1=0.0573$, $K2=0.0763$, $P1=0.0578$, $P2=0.0543$, $P3=0.0555$, Data were analyzed using Saphiro-Wilk test and Levene's test as a condition for One-way Anova test then continued with Bonferroni test, The results obtained significant mean differences between groups K2 and K1, P1, P2, and P3.

Conclusion : There was an effect on malondialdehyde levels and there was no significant effect between treatment groups P1, P2 and P3 in male white rats given Aloe vera extract induced by ethanol.

Keywords: *Aloe Vera, Antioxidant, Ethanol, Malondialdehyde*

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ALOE VERA TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID TIKUS PUTIH JANTAN (*RATTUS NORVEGICUS*) GALUR SPARAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI ETANOL

OLEH

AVICENNA MUHAMMAD ARCHIE

Latar Belakang : Penggunaan alkohol secara tidak terbatas menyebabkan toksisitas dan masalah patologis yang dapat menjadi ancaman di masyarakat. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam sel. Berbagai penelitian membuktikan bahwa tanaman lidah buaya memiliki efek antioksidan. Penelitian ini diadakan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol lidah buaya terhadap kadar malondialdehid tikus putih jantan yang diinduksi etanol.

Metode : Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*, yaitu mengamati perbandingan antara sebelum diberi perlakuan dan sesudah diberi perlakuan. Menggunakan 35 ekor tikus putih jantan, dibagi dalam 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberikan pakan dan minum standar (K1), kelompok kontrol positif (K2) yang diberikan etanol 40% dengan dosis 1,8mL/hari, kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) yang diberikan perlakuan etanol 40% peroral dengan dosis 1,8mL/hari dan diberikan perlakuan ekstrak etanol 70% *aloe vera* dengan dosis 400, 300, dan 200mg/KgBB/hari selama 14 hari. Sampel darah diambil diperiksa dengan alat *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 530nm.

Hasil : Hasil yang didapatkan K1=0,0573, K2=0,0763, P1=0,0578, P2=0,0543, P3=0,0555, Data dianalisis menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji *Levene* sebagai syarat dilakukannya uji *One-way Anova* dan kemudian dilanjutkan dengan uji *Bonferroni*, didapatkan hasil perbedaan rerata yang bermakna antara kelompok K2 dengan K1, P1, P2, dan P3.

Kesimpulan : Terdapat pengaruh pada kadar malondialdehid dan tidak terdapat pengaruh yang signifikan diantara kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 tikus putih jantan yang diberikan ekstrak *Aloe vera* yang diinduksi etanol.

Kata Kunci : *Aloe Vera, Antioksidan, Etanol, Malondialdehid*

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR	v
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Secara Institusi	7
1.4.2 Bagi Peneliti.....	7
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	7
BAB II.....	9
TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Lidah Buaya (<i>Aloe Vera</i>).....	9
2.2 Etanol.....	12
2.3 Tikus Putih Jantan (<i>Rattus Norwegicus</i>)	17
2.4 Radikal Bebas.....	19
2.4.1 Definisi.....	19
2.4.2 Sumber Radikal Bebas	20
2.4.3 Peroksidasi Lipid.....	22
2.4.4 Definisi Stress Oksidatif	24

2.4.5	Malondialdehid (MDA)	26
2.5	Antioksidan.....	27
2.6	Hubungan Etanol dengan Kadar MDA dalam tubuh.....	29
2.7	Kerangka Teori	36
2.8	Kerangka Konsep	42
2.9	Hipotesis.....	42
BAB III.....		43
METODE PENELITIAN.....		43
3.1	Jenis Penelitian	43
3.2	Rancangan Penelitian	43
3.3	Tempat dan Waktu Penelitian	45
3.3.1	Tempat Penelitian.....	45
3.3.2	Waktu Penelitian	45
3.4	Populasi dan Sampel.....	46
3.4.1	Populasi.....	46
3.4.2	Sampel.....	46
3.4.3	Kriteria Inklusi:	48
3.4.4	Kriteria Eksklusi:	48
3.5	Identifikasi Variabel Penelitian.....	49
3.5.1	Variabel Bebas.....	49
3.5.2	Variabel Terikat	49
3.5.3	Definisi Operasional.....	49
3.6	Alat dan Bahan	50
3.6.1	Alat.....	50
3.6.2	Bahan.....	51
3.6.3	Alat yang digunakan dalam pemeriksaan kadar Malondialdehid ...	51
3.6.4	Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan kadar Malondialdehid	52
3.7	Prosedur Penelitian.....	52
3.7.1	Adaptasi Hewan Coba.....	52

3.7.2	Teknik Pembuatan Ekstrak Lidah Buaya	53
3.7.3	Pemberian Dosis Etanol 40%.....	53
3.7.4.	Pemberian Ektstrak Lidah Buaya.....	54
3.7.5	Prosedur Pengambilan sampel darah	56
3.7.6	Pengukuran kadar MDA plasma	56
3.8	Diagram Alur Penelitian	59
3.9	Pengolahan dan Analisis Data	60
3.9.1	Pengolahan Data.....	60
3.9.2	Analisis Data	60
3.10	Ethical Clearance.....	62
BAB IV	65
HASIL DAN PEMBAHASAN	65
4.1	Hasil Penelitian.....	65
4.1.1	Analisis Univariat.....	65
4.1.2	Analisis Bivariat.....	67
4.2	Pembahasan	74
4.2.1	Alkohol Menyebabkan Peningkatan Kadar MDA	74
4.2.2	Efek Antioksidan Ekstrak Lidah Buaya pada Kadar MDA	76
4.2.3	Perbandingan Efek Dosis Antioksidan Ekstrak Lidah Buaya	79
4.3	Keterbatasan Penelitian	81
BAB V	82
SIMPULAN DAN SARAN	82
5.1	Simpulan.....	82
DAFTAR PUSTAKA	84
LAMPIRAN	89

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kadar rerata malondialdehid tikus putih	66
Table 2. Uji Saphiro-Wilk	68
Tabel 3. Uji homogenitas Levene.....	69
Tabel 4. Uji saphiro-wilk transformasi.....	70
Tabel 5. Uji homogenitas Levene transformasi.....	71
Tabel 6. Uji one-way anova	72
Tabel 7. Uji Post Hoc Bonferroni Kadar Malondialdehid.....	73
Tabel 8. Uji Fitokimia	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Chemical composition of Aloe vera	12
Gambar 2. Jalur Metabolisme Etanol	17
Gambar 3. Tikus Putih Jantan (<i>Rattus Norvegicus</i>)	18
Gambar 4. Kerangka Teori	41
Gambar 5. Kerangka Konsep	42
Gambar 6. Alur Penelitian	59
Gambar 7. Kadar rerata malondialdehid tikus putih	67

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alkoholisme memicu tingginya tingkat kematian dan meningkatkan risiko beberapa gangguan yang dapat menyebabkan gangguan yang melumpuhkan. Kerusakan tersebut dapat diklasifikasikan berdasarkan fungsi organ yang terlibat (hati, ginjal, jantung, otak, dll), jenis asupan (akut atau kronis), atau usia subjek pada saat terpapar etanol (prenatal, neonatal, atau dewasa). Etanol memiliki beberapa efek negatif pada kesehatan (Hernández, López-Sánchez, & Rendón-Ramírez, 2016). Alkohol dikonsumsi di seluruh dunia sebagai minuman oleh manusia, Penggunaan alkohol secara teratur dan tidak terbatas menyebabkan toksisitas dan masalah patologis yang dapat menjadi ancaman di masyarakat, oleh karena itu beberapa penelitian telah difokuskan pada

mekanisme sel atau kerusakan jaringan yang disebabkan oleh stress oksidatif dan metode proteksi oleh induksi alkohol (Pyun, Mandal, Hong, & Lee, 2015). Minuman beralkohol harus memiliki label dan iklan yang sesuai dengan peraturan perundang undangan, seperti menyatakan bahwa minuman tersebut memiliki kandungan alkohol, dilarang minum untuk umur di bawah 21 tahun dan/atau wanita hamil, dan harus mencantumkan persentase alkohol pada minuman tersebut. Minuman alkohol dibagi atas tiga golongan berdasarkan isi kandungannya, yaitu Golongan A: sampai dengan 5%; Golongan B: lebih dari 5-20%; dan Golongan C: lebih dari 20-55% (BPOM, 2016).

World Health Organization menyatakan bahwa prevalensi peminum berat alkohol di Indonesia pada tahun 2016 pada 30 hari terakhir dengan minimal penggunaan 60 gram atau lebih alkohol sebelum pengambilan data, untuk populasi umur lebih dari 15 tahun pada laki-laki peminum adalah 35.9% dan pada perempuan adalah 10.8%. Pada data kematian berdasarkan umur dengan penyebab sirosis hati adalah 51,1 untuk laki-laki dan 27,1 untuk perempuan, kemudian dengan penyebab kecelakaan lalu

lintas 31.8 untuk laki-laki dan 13.9 untuk perempuan, dan dengan penyebab kanker 181 untuk laki-laki dan 126,4 untuk perempuan dengan masing-masing penyebab per 100.000 populasi pada kedua jenis kelamin (WHO, 2018). Kemenkes tahun 2018 menyatakan bahwa data total konsumsi alkohol di Indonesia dari 34 provinsi adalah sekitar 3,3% dengan rata-rata peminum terbanyak berdasarkan umur adalah golongan umur 20-24 tahun yaitu 6,4% dengan kedua terbesar pada golongan umur 25-29 tahun yaitu 5,6% dan ketiga terbesar adalah golongan umur 30-34 tahun yaitu 4,3%. Perbandingan prevalensi peminum antara laki-laki dan perempuan adalah 6,1% dan 0,4% secara berurutan (Kesehatan, 2018).

Aloe Vera atau lidah buaya, adalah salah satu tanaman penyembuh yang paling banyak digunakan. Di India semua bagian lidah buaya baik daun, getah dan gel digunakan sebagai pencahar, obat sakit perut, anti mual muntah, dan anti cacing. Berbagai penelitian membuktikan bahwa tanaman lidah buaya memiliki efek antiinflamasi, antioksidan, anti luka/*wound healing*, antimikroba, *laxative*. Efek tersebut didapat dari kandungan daun lidah buaya yaitu polisakarida yang paling dikenal

sebagai *acemannan*, *mannose* berikatan dengan reseptor *mannose* di makrofag sehingga menginduksi produksi faktor pertumbuhan termasuk TGF α (*Transforming Growth factor α*) yang akan mengaktifkan MAP kinase (*Mitogen-Activated Protein kinase*) sehingga memicu ekspresi bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*) dan VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) fibroblas akan merangsang sintesa dan proliferasi fibroblas yang akan meningkatkan pembentukan kolagen (Soetjipto, Basori, & Joewarini, 2018). Tanaman Lidah buaya merupakan tanaman asli daerah Afrika, Asia dan Mediterania, lidah buaya telah lama digunakan sebagai tanaman obat untuk berbagai kondisi. Lidah buaya mengandung setidaknya 75 konstituen yang berpotensi aktif seperti vitamin, enzim, mineral, gula, steroid tanaman, hormon dan asam amino. Lidah buaya dan konstituennya memiliki beberapa aktivitas biologis, misalnya, anti-inflamasi (asam salisilat, campesterol, β -sitosterol dan *C-glucosyl chromone*), antioksidan (vitamin A, C dan E), antitumor (antrakuionon dan phorbol miristat asetat), dan efek antimikroba (aloin dan emodin) (Klaikeaw, Wongphoom, Werawatganon, Chayanupatkul, & Siriviriyakul, 2020).

Antioksidan adalah suatu molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul lain, zat ini memberikan perlindungan endogen dan tekanan oksidatif eksogen dengan berikatan dengan radikal bebas. Antioksidan terbagi menjadi dua golongan: (1) antioksidan preventif yang mengurangi laju inisiasi reaksi berantai; dan (2) antioksidan pemutus rantai yang mengganggu propagasi reaksi berantai (Rodwell, Bender, Botham, Kennelly, & Weil, 2016).

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh, melalui proses enzimatik atau nonenzimatik. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam sel. Dalam rangka perlindungan terhadap serangan *Reactive Oxygen Species* (ROS), tubuh manusia memiliki suatu sistem antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatik maupun antioksidan nonenzimatik, yang bekerja secara sinergis. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yaitu produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan, berpotensi menyebabkan kerusakan, yang

disebut dengan stress oksidatif (Ayuningati, Murtiastutik, & Hoetomo, 2018).

Penggunaan antioksidan dipercaya dapat menurunkan kadar radikal bebas di dalam tubuh dengan mengukur kadar MDA. Penelitian ini dilakukan untuk mencari tahu pengaruh pemberian ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) terhadap kadar MDA tikus yang telah diinduksi etanol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Aloe vera* terhadap kadar malondialdehid tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sparague Dawley* yang diinduksi etanol?
2. Apakah terdapat pengaruh perbedaan dosis ekstrak *Aloe vera* diantara kelompok perlakuan terhadap kadar malondialdehid tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sparague Dawley* yang diinduksi etanol?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak lidah buaya terhadap kadar Malondialdehid tikus putih yang diinduksi etanol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Secara Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai rujukan bacaan bagi mahasiswa kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Lampung mengenai apa itu Malondialdehid (MDA) dan hubungannya terhadap stress oksidatif.

1.4.2 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk memperkaya pengetahuan, dan pengalaman belajar peneliti serta membuktikan apakah ada pengaruh ekstrak *Aloe vera* terhadap kadar Malondialdehid pada tikus putih jantan yang diinduksi dengan etanol.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pentingnya antioksidan bagi tubuh dalam melindungi sel dari paparan radikal

bebas sehingga diharapkan masyarakat mengetahui lebih dalam fungsi antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lidah Buaya (*Aloe Vera*)

Genus *Aloe* terdiri dari 581 spesies yang telah diterima yang termasuk dalam famili *Xanthorrhoeaceae* yang sebelumnya dikategorikan dalam *Liliaceae*. *Aloe vera* (L.), atau dikenal dengan *Aloe barbandensis* Miller, adalah xerofit daun sukulen. Daun lidah buaya terdiri dari kutikula berlilin di luarnya dan satu lapisan sel epidermis; dibawahnya adalah lapisan chlorenchyma 8-10 sel. Ikatan pembuluh terletak di antara parenkim bagian dalam berair tebal, yang disebut Aloe Fillet, dan klorenkim tipis; Fillet Aloe yang diekstrusi disebut Aloe gel. Daun lidah buaya seluruh bagiannya terdiri dari air, dan sisa massa kering (*dry mass*) dari 2,6% mengandung sekitar 73,4% serat karbohidrat, 16,9% mineral, 6,9% protein, dan 2,9% lipid. Daun lidah buaya juga mengandung banyak metabolit

sekunder seperti polifenol kompleks (misalnya, tannin dan flavonoid), lignin, saponin, antrakuinon, glikoprotein, polisakarida, dan enzim serta metabolit yang lebih kecil, seperti sterol, asam lemak, alkohol, vitamin, asam amino, dan sakarida. Gel lidah buaya terdiri dari sekitar 99% air; sisa massa kering terdiri dari sekitar 35,5% serat kasar, 26,8% sakarida larut, 23,6% mineral, 8,9% protein, dan 5,1% lipid (López, et al., 2017).

Aloe Vera (Aloe barbandensis Mill./Aloe vera Linn.) adalah varietas lidah buaya yang paling umum. Memiliki tangkai yang pendek yang dapat tumbuh hingga ketinggian 60-100 cm. tanaman lidah buaya memiliki daun hijau atau abu-abu yang tebal dan daun hijau dan berdaging berbentuk pedang. Tepi daun lidah buaya memiliki duri segitiga di tepinya. Tunas bunga lidah buaya yang tumbuh di musim panas terbentuk dari banyak bunga merah muda dan oranye berbentuk lonceng yang terjumbai. Ketika lidah buaya berbunga, akan muncul buah yang berbentuk kantong. Daging dan pulp yang diperoleh dari daun lidah buaya berbeda dalam komposisi dan sifat. Daging lidah buaya dapat diperoleh dengan cara mengupas daunnya kemudian dicuci dan diperas dengan hati-hati. Prosedur ini

memberikan daging murni tanpa rasa pahit atau sifat pencahar yang kuat. Pulp lidah buaya mengandung epidermis. Tidak dapat dicuci maupun disaring, akibatnya memiliki sifat pencahar yang kuat karena kandungan aloin (Heś, Dziedzic, Górecka, Jędrusek-Golińska, & Gujska, 2019).

Antioksidan yang berasal dari tumbuhan lidah buaya misalnya fenolat, dikenal sebagai komponen penting karena memiliki prospektif yang bermanfaat. Lidah buaya secara efektif memiliki banyak aktivitas farmakologis termasuk anti-inflamasi, dan antitumor dengan keterlibatan mediasi tingkatan ROS. Beberapa komponen antioksidan secara alami terdapat dalam ekstrak air daun lidah buaya yang meliputi total fenol, flavonoid, asam askorbat, β -karoten, α -tokoferol (Bawankar, Babu, & Singh, 2014).

Compounds	Examples
Non essential and essential amino acids	Alanine, arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, histidine, hydroxyproline, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, threonine, tyrosine, valine
Proteins	Lectins and lectin-like substance
Antraquinone and anthrone	Aloe-emodin, aloetic acid, anthranol, aloin A and B (barbaloin), isobarbaloin, emodin, ester of cinnamic acid
Enzymes	Alkaline phosphatase, amylase, carboxypeptidase, cyclooxygenase, catalase, cyclooxygenase, lipase, oxidase, superoxide dismutase, phosphoenolpyruvate carboxylase, glutathione peroxidase
Hormons	Auxins and gibberellins
Inorganic compound	Calcium, chlorine, chromium, copper, iron, magnesium, manganese, potassium, phosphorous, sodium and zinc
Saccharides	Mannose, glucose, rhamnose
Carbohydrate	Pure mannan, acetylated mannan, acetylated glucomannan, glucogalactomannan, galactogalacturan, arabinogalactan, cellulose, pectic substance, xylan
Vitamines	B1, B2, B6, B12, C, β -carotene, folic acid, choline, α -tocopherol
Lipids	Arachidonic acid, γ -linolenic acid, sterols (campesterol, cholesterol, β -sitosterol), triglycerides, triterpenoid, gobberellins
Other compounds	Lignin, potassium sorbate, salicylic acid, uric acid

Gambar 1. Chemical composition of Aloe vera (Hęś, Dziedzic, Górecka, Jędrusek-Golińska, & Gujska, 2019)

2.2 Etanol

Etanol (C_2H_5OH) merupakan turunan dari fermentasi gula alami.

Berdasarkan nomenklatur *International Union of Pure and Applied*

Chemistry (IUPAC), untuk senyawa kimia etanol adalah komposisi

struktural yang terdiri dari sepasang atom karbon dengan gugus alkil yang

bergabung dengan gugus fungsional -OH; gugus -OH membuatnya secara

kimia menjadi Alkohol (Mathew & Goyal, 2021). Alkohol (etanol) pada

darah sebagian besar dimetabolisme di hepar melalui tiga jalur utama. Jalur

yang pertama diinisiasi oleh *Alcohol dehydrogenase*, suatu NAD^+ -*requiring enzyme* pada tingkat tinggi di hepatosit, yang mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid. Pada hati yang normal, asetaldehid memasuki mitokondria dan dengan cepat dimetabolisme menjadi asetat oleh *Aldehyde dehydrogenase*. Asetat kemudian dipecah menjadi karbondioksida dan air untuk dieliminasi. Pada pengguna alkohol kronis, jalur *Alcohol dehydrogenase / Aldehyde dehydrogenase* menjadi jenuh dan aldehid reaktif dihasilkan dari proses metabolisme seperti *malondialdehyde-acetaldehyde* (MAA), *4-hydroxy-2-nonenal* (HNE) dan *lipid hydroperoxide* yang dapat berikatan dengan protein untuk menghasilkan produk tambahan protein. Jalur yang kedua untuk metabolisme etanol adalah *Microsomal Ethanol Oxidizing System* (MEOS), yang melibatkan *NADPH-requiring enzyme*, enzim sitokrom P450 CYP2E1, yang diinduksi oleh paparan alkohol kronis. Peningkatan CYP2E1 setelah asupan alkohol adalah karena stabilitas CYP2E1 daripada *de novo synthesis*. Jalur MEOS memetabolisme etanol menjadi asetaldehid dengan mengubah NADPH^+ dan O_2 menjadi NADP dan H_2O menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*). CYP2E1 berperan dalam

peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan nitrasasi protein. Jalur ketiga untuk memetabolisme etanol melibatkan katalase, enzim peroksisom, yang membutuhkan H₂O₂, produk pemecah asam lemak. Katalase yang terletak di peroksisom hepatosit hanya memainkan peran minimal dalam metabolisme alkohol karena produksi H₂O₂ di hati yang rendah. Dalam keadaan normal, *Alcohol dehydrogenase* memetabolisme sekitar 75%-80% etanol yang masuk ke hati dan sisanya dimetabolisme pada jalur MEOS. Aktivitas *Alcohol dehydrogenase* hati dan katalase hati tidak berubah setelah konsumsi alkohol secara kronis, sedangkan MEOS di hati meningkat secara mencolok dan bertanggung jawab atas peningkatan metabolisme alkohol setelah penggunaan alkohol secara kronis (Tan, Yates, Lilly, & Dhanda, 2020).

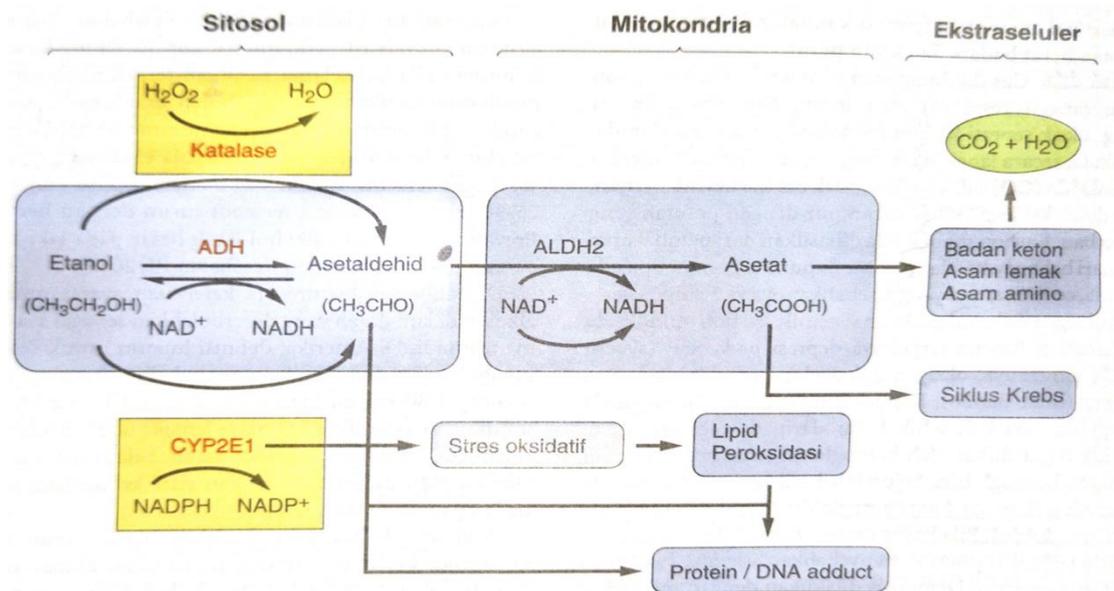
CYP450 adalah sekelompok enzim yang ditemukan dalam fraksi protein microsomal dengan aktivitas monooksigenase, terutama mitokondria. CYP450 mengerahkan aksinya melalui tiga reaksi enzimatik katalitik. Aktivitas katalitik pertama enzim CYP adalah aktivitas sebagai monooksigenase, mengaktifkan molekul oksigen dengan elektron dari

NADPH melalui NADPH-CYP450 reduktase dan memasukkan satu atom molekul oksigen ke dalam substrat, diikuti oleh aktivitas katalitik kedua, yang biasa disebut sebagai aktivitas oksidase. Hal ini melibatkan transfer electron dari CYP450 tereduksi ke oksigen molekuler dengan pembentukan *radical superoxide anion* dan hydrogen peroksida. Aktivitas katalitik ketiga dari system P450, yang dikenal sebagai aktivitas reductase, melibatkan transfer electron langsung ke substrat yang dapat direduksi seperti kuinon dan berlangsung dalam kondisi anaerob. Enzim CYP450 fase I terlibat dalam oksidasi atau penonaktifan senyawa endogen dan eksogen seperti hormon, asam lemak, obat-obatan, dan racun yang ada di lingkungan dan dalam makanan. CYP450s terutama terdapat di hati, korteks adrenal, ginjal, dan paru-paru dan dalam konsentrasi yang lebih sedikit di otak, yang mewakili 1% dari konsentrasi yang ditemukan di hati. CYP450s hadir di otak dalam banyak kompartemen membran subselular yang berbeda, termasuk membran plasma, retikulum endoplasma, aparatus Golgi, peroksisom, lisosom, dan mitokondria. Khususnya CYP1A1, CYP2B1, CYP2D6, dan CYP2E1 telah ditemukan dalam jumlah yang signifikan di kompartemen sel lain, khususnya dalam mitokondria spesies

yang berbeda termasuk manusia (García-Suástegui, et al., 2017).

CYP2E1 adalah enzim yang secara khusus berpartisipasi dalam metabolisme substrat endogen, termasuk aseton dan asam lemak (berlimpah di otak) pada senyawa eksogen seperti anestesi, etanol, nikotin, asetaminofen, aseton, aspartam, kloroform, klorzoksazon, tetraklorida, dan beberapa obat antiepilepsi seperti fenobarbital. CYP2E1 juga dapat mengaktifkan senyawa toksik dan prokarsinogen yang ditemukan dalam asap tembakau dan senyawa nitrosamine. CYP2E1 memiliki peran penting dalam *Microsomal Ethanol Oxidizing System* (MEOS). Setelah konsumsi etanol kronis, aktivitas MEOS meningkat, dengan peningkatan terkait sitokrom P450, terutama CYP2E1, dan proliferasi retikulum endoplasma halus (*smooth endoplasmic reticulum*/SER). Konsumsi alkohol yang berlebihan menginduksi respons stres retikulum endoplasma (RE), suatu kondisi di mana protein yang tidak dilipat/terlipat terakumulasi di RE,

berkontribusi pada gangguan alkohol pada organ utama seperti hati, pankreas, jantung, dan otak (García-Suástegui, et al., 2017).



Gambar 2. Jalur Metabolisme Etanol (Huether & McCance, 2019)

2.3 Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*)

Tikus Norwegia (*Rattus Norvegicus*, yang selanjutnya disebut tikus) adalah salah satu mamalia yang paling melimpah dengan distribusi hampir di seluruh dunia. Saat ini, hampir semua tikus liar hidup dalam hubungan dekat dengan manusia, yang mengarah pada berbagai bentuk interaksi yang merugikan. Misalnya, menghancurkan makanan yang disimpan dan merusak infrastruktur dengan menggerogoti kabel atau fondasi. Tikus

Norwegia memiliki dampak penting pada kehidupan kita. Mereka termasuk yang paling banyak digunakan subjek penelitian, menghasikan kemajuan yang luar biasa (Schweinfurth, 2020).



Gambar 3. Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) (Diambil secara pribadi pada tanggal 29/10/2021)

Tikus Norwegia, *Rattus norvegicus*, dikenal dengan banyak nama seperti tikus coklat, tikus biasa, tikus selokan, tikus Hanover, tikus Norwegia, tikus kota, tikus air dan tikus dermaga. Hidup berdekatan dengan manusia, tikus liar Norwegia sering dianggap sebagai hama). Mereka terkenal karena menyerang dan merusak properti, merusak persediaan makanan dan menyebarkan penyakit. Kapasitas mereka yang tampaknya tidak terbatas untuk bereproduksi, nafsu makan mereka yang ganas (yang dapat mengakibatkan kanibalisme) dan kemampuan mereka yang luar biasa

untuk bertahan hidup dalam kondisi yang merugikan dan seringkali tidak sehat. Terlepas dari reputasi buruk mereka di alam liar, tikus laboratorium menjadi organisme model pola dasar. Banyak digunakan di bidang-bidang seperti ilmu saraf, fisiologi dan toksikologi, tikus laboratorium sebagai organisme model sebagian besar karena ketersediaannya yang luas, biaya pemuliaan yang rendah, siklus reproduksi yang pendek dan kemampuan untuk berkembang di lingkungan penangkaran (Modlinska & Pisula, 2020).

2.4 Radikal Bebas

2.4.1 Definisi

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital. dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan sekitarnya. Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil electron, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan sel tersebut (Sinaga, 2016).

Aktivitas fisik baik ringan maupun berat dapat menyebabkan terjadinya peningkatan ROS yang dapat memicu terjadinya peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Selama aktivitas fisik akan terjadi peningkatan pembentukan *malondialdehid* (MDA) pada darah serta pentane pada pernafasan. Secara umum pembentukan radikal bebas dalam tubuh seseorang yang sedang beraktivitas fisik dapat berasal dari jenis aktivitas fisik fisik yang dilakukan seperti pada latihan aerobik (berlari, bersepeda, dan renang). Hasil-hasil penelitian telah banyak menunjukkan bahwa latihan fisik digunakan sebagai model untuk mempelajari mekanisme pengaturan fungsi fisiologis terhadap stress (Nurdyansyah, 2017).

2.4.2 Sumber Radikal Bebas

2.4.2.1 Berasal dari dalam tubuh (Endogen)

Sumber Radikal Bebas yang berasal dari endogen terdiri dari organ-organ seluler seperti mitokondria, peroksisom dan reticulum endoplasma yang mana konsumsi oksigen tinggi. Sebagian besar

Radikal Bebas intraseluler berasal dari mitokondria. Dalam peroksisom, jalur pernapasan melibatkan transfer elektron dari berbagai metabolit ke oksigen yang mengarah pada pembentukan H₂O₂, tetapi tidak digabungkan dengan fosforilasi oksidatif untuk menghasilkan ATP, sebaliknya energi bebas dilepaskan dalam bentuk panas. Radikal bebas lain yang diproduksi di peroksisom termasuk H₂O₂, O₂, OH dan NO. Oksidasi- β asam lemak adalah proses metabolisme utama yang menghasilkan H₂O₂ di peroksisom. Enzim retikulum endoplasma seperti enzim sitokrom p-450 dan b5 serta diamina oksidase berperan dalam pembentukan ROS (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy, 2015).

2.4.2.2 Berasal dari luar tubuh (Eksogen)

Selain dari dalam tubuh (Endogen), Radikal Bebas dapat berasal dari luar tubuh seperti polusi udara dan air, alkohol, asap rokok, transisi metal (Cd, Hg, Pb, As), Logam Berat (Fe, Cu, Co, Cr), Bahan pelarut industry, Pestisida, Temperatur tinggi, sinar ultraviolet, dll (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy, 2015).

2.4.2.3 Target Kerusakan oleh Radikal Bebas

Ketika terjadi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan pertahanan antioksidan, radikal bebas akan diproduksi dalam konsentrasi yang lebih tinggi yang menyebabkan stres oksidatif dan stres nitrosatif. Karena radikal bebas ini sangat reaktif, mereka dapat merusak ketiga kelas penting molekul biologis termasuk asam nukleat, protein, dan lipid (Phaniendra, Jestadi, & Periyasamy, 2015).

2.4.3 Peroksidasi Lipid

Peroksidasi Lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan ROS secara terus menerus dan memicu peroksidasi lebih lanjut sehingga berpotensi sangat merusak. Proses yang terjadi terdiri dari proses Inisiasi, Propagasi dan Terminasi, untuk mengendalikan dan mengurangi peroksidasi lipid, baik manusia dalam aktivitasnya maupun alam menggunakan antioksidan. Peroksidasi (auto-oksidasi) lipid yang terpajan oleh oksigen menyebabkan bukan saja pembusukan makanan, tetapi juga kerusakan jaringan *in vivo*. Peroksidasi dapat menjadi penyebab kanker. Penyakit peradangan, aterosklerosis, dan penuaan. Efek merugikan diperkirakan

disebabkan oleh radikal bebas. Molekul yang memiliki elektron valensi tak berpasangan dan membuatnya sangat reaktif. Radikal bebas yang mengandung oksigen (misalnya ROO, RO, OH) disebut spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species*, ROS). ROS dihasilkan saat pembentukan peroksidasi dari asam lemak yang mengandung ikatan rangkap yang diselingi metilen, *yi*, radikal bebas asam lemak yang terdapat pada asam lemak tidak jenuh ganda alami (Rodwell, Bender, Botham, Kennelly, & Weil, 2016). Pada fase inisiasi pada proses peroksidasi lipid, prooksidan seperti *hydroxyl radical* mengabstraksi *allylic hydrogen* membentuk *carbon-centered lipid radical* (L). Pada fase propagasi, radikal lipid secara cepat bereaksi dengan oksigen membentuk *lipid peroxy radical* (LOO) yang mengabstraksi hydrogen dari molekul lipid lain membentuk L yang baru (yang melanjutkan rangkaian reaksi) dan *lipid hydroperoxide* (LOOH). Pada fase terminasi, antioksidan seperti vitamin E mendonasi atom hydrogen pada LOO spesies dan membentuk radikal vitamin E yang sesuai yang bereaksi dengan LOO yang lain, membentuk produk nonradical. Setelah peroksidasi

lipid diinisiasi, rangkaian reaksi propagasi akan berlangsung sampai produk terminasi terbuat. Peroksidasi lipid atau reaksi dari oksigen dengan lipid tak jenuh memproduksi produk oksidasi yang bervariasi. Produk utama dari peroksidasi lipid adalah *lipid hydroperoxide* (LOOH). Aldehid yang dapat dibentuk sebagai produk sekunder saat peroksidasi lipid adalah malondialdehid (MDA), propanal, hexanal, dan *4-dehydroxynonenal* (4-HNE). MDA tampaknya menjadi produk peroksidasi lipid yang paling mutagenik, sedangkan 4-HNE adalah yang paling beracun (Ayala, Muñoz, & Argüelles, 2014).

2.4.4 Definisi Stress Oksidatif

Stress oksidatif mencerminkan ketidakseimbangan antara oksidan yang diproduksi dengan antioksidan dalam tubuh. Setiap individu memiliki mekanisme keseimbangan yang berbeda, tergantung pada banyak faktor seperti pola makan, gaya hidup (merokok, konsumsi alkohol, latihan fisik, dan lain-lain), umur, serta faktor genetik. Stress oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan jumlah oksidan (radikal bebas) dengan jumlah

antioksidan dalam tubuh sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan beruntun yang dimulai dari sel hingga tingkatan lebih tinggi. Stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel dan merupakan dasar pathogenesis bagi proses penyakit kronik seperti kardiovaskular, autoimun, pulmoner, gangguan metabolic dan *Aging* (penuaan) (Nurdyansyah, 2017). Salah satu konsekuensi dari tidak terkontrolnya stress oksidatif adalah (tidak seimbangnya tingkat prooksidan dan antioksidan) adalah cedera pada sel, jaringan dan organ yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif. Sudah lama diketahui bahwa kadar radikal bebas atau ROS yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan langsung pada lipid. Sumber utama produksi dari ROS endogen adalah mitokondria, membrane plasma, reticulum endoplasma, dan peroksisom. Melalui mekanisme variasi termasuk reaksi enzimatik dan/atau autooksidasi dari beberapa komponen, seperti katekolamin dan hidrokuinon. Stimulasi eksogen, seperti radiasi pengion, sinar ultraviolet, asap tembakau, infeksi pathogen, racun lingkungan, dan paparan herbisida/insektisida, adalah sumber produksi ROS *in vivo* (Ayala, Muñoz, & Argüelles,

2014).

2.4.5 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) adalah senyawa dialdehid yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh, melalui proses enzimatik atau nonenzimatik. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan adanya proses oksidasi dalam sel. Dalam rangka perlindungan terhadap serangan *Reactive Oxygen Species* (ROS), tubuh manusia memiliki suatu system antioksidan yang terorganisir, baik antioksidan enzimatik maupun antioksidan nonenzimatik, yang bekerja secara sinergis. Antioksidan melindungi sel tubuh terhadap kerusakan oksidatif dan dapat mencegah produksi dari produk-produk oksidatif. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yaitu produksi ROS melebihi kapasitas antioksidan, berpotensi menyebabkan kerusakan, yang disebut dengan stress oksidatif (Ayuningati, Murtiastutik, & Hoetomo, 2018).

Secara kimia MDA adalah molekul organik yang kecil dan reaktif yang terdapat pada eukariota, terbentuk oleh tiga molekul karbon

dengan dua grup aldehid pada posisi karbon 1 dan karbon 3. MDA muncul pada berbagai bentuk di dalam larutan air karena sifat kimia tautomerik yang bergantung pada pH. Pada pH yang lebih tinggi dari pK_a 4,46, bentuk yang mendominasi adalah anion enolik, yang menunjukkan reaksi kimia yang rendah. Tetapi pada pH rendah (pada kondisi stress oksidatif), MDA muncul dalam keseimbangan diantara enol terprotonasi (α - β -karbonil tak jenuh) aldehid dan bentuk dialdehid. Tautomer yang diproduksi di pH asam secara kimiawi reaktif, dan MDA dan molekul lain dengan grup α - β -karbonil tak jenuh sudah diketahui, termasuk spesies elektrofil reaktif dan spesies karbonil reaktif (Morales & Munné-Bosch, 2019).

2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang menghambat oksidasi. Oksidasi adalah reaksi kimia yang memproduksi radikal bebas, sehingga menyebabkan reaksi berantai yang dapat merusak sel-sel organisme. Antioksidan seperti tiol atau asam askorbat (vitamin C) mengakhiri reaksi berantai ini. Untuk menyeimbangkan keadaan oksidatif, tumbuhan dan hewan mempertahankan

system kompleks antioksidan yang tumpang tindih, seperti: *glutathione* dan enzim (misalnya, katalase dan superoksida dismutase), diproduksi secara internal, atau antioksidan diet vitamin C dan E. Induksi pertahanan antioksidan atau pengurangan kadar ROS/RNS endogen adalah indikator stress oksidatif yang cepat dan jelas. System antioksidan enzimatik dan non-enzimatik dalam tubuh termasuk superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPX), vitamin E yang larut dalam lemak, karoten, dan vitamin C yang larut dalam air, mengatur keseimbangan antara ROS dan antioksidan. Diet antioksidan, Sebagian besar diperoleh dari konsumsi buah dan sayuran, juga telah dikaitkan dengan keseimbangan yang baik antara radikal bebas dan status antioksidan, yang membantu meminimalkan stress oksidatif dan mengurangi resiko kanker, penyakit kardiovaskular dan penuaan. Antioksidan didefinisikan sebagai zat apapun yang mampu menghilangkan ROS dan turunannya (*reactive nitrogen species* atau RNS, *reactive sulfur species* atau RSS), secara langsung maupun tidak langsung, bertindak sebagai regulator pertahanan antioksidan atau inhibitor produksi spesies reaktif. ROS adalah kelompok molekul yang dihasilkan melalui metabolisme seluler, karena aksi oksidase mitokondria atau

kompartment seluler lainnya, karena produksi ini meningkat dengan kerusakan mitokondria. Bentuk antioksidan yang paling populer termasuk vitamin, seperti vitamin A (retinol, asam retinoat), vitamin C (asam L-askorbat, asam askorbat, askorbat), vitamin E (α -tokoferol), β -carotene, mineral, seperti Se dan polifenol yang terjadi secara alami, masing-masing memiliki efek yang berbeda pada sel-sel tubuh. Vitamin dan β -karoten memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan kelompok fungsional utama yang bertanggung jawab atas peran dan kualitas antioksidannya sebagai pigmen dalam beberapa makanan seperti buah-buahan dan sayuran (Salehi, et al., 2018).

2.6 Hubungan Etanol dengan Kadar MDA dalam tubuh

Konsumsi alkohol kronik atau berlebihan dapat membahayakan Kesehatan fisik dan mental, merusak berbagai organ seperti otak, hati, jantung, paru-paru- dan tulang. Sekitar 2-10% alkohol yang diserap dieliminasi melalui paru-paru dan ginjal, sisanya dimetabolisme terutama oleh jalur oksidatif di hati dan jalur nonoksidatif di jaringan ekstrahepatik. Metabolisme oksidatif di hati adalah hasil dari perpindahan luas substrat metabolisme normal hati,

produksi asetaldehid dan *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan peningkatan rasio NADH/NAD⁺ (Galicia-Moreno, et al., 2016).

Metabolisme etanol melalui CYP2E1 tidak hanya menghasilkan asetaldehida tetapi juga menghasilkan ROS termasuk H₂O₂, hidroksil (OH⁻) dan OH⁻ yang berpusat pada karbon. ROS ini dapat dinetralkan oleh system pertahanan antioksidan yang kuat. Namun, konsumsi alkohol kronis dapat mengganggu system ini; penipisan *mitochondrial glutathione* (GSH) diamati pada pasien dengan ketergantungan alkohol, yang merusak toleransi hepatosit terhadap tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) yang mengakibatkan peningkatan kemungkinan kematian sel. ROS meningkatkan dan mengaktifkan *c-Jun N-terminal kinase* (JNK) yang mengekspresikan secara berturut-turut dari faktor transkripsi *activator protein 1* (AP-1) yang mengarah pada hiperregenerasi seluler, dan peroksidasi lipid. Produk peroksidasi lipid adalah malondialdehid dan HNE (Tan, Yates, Lilly, & Dhanda, 2020). JNK adalah keluarga dari protein kinase yang memerankan peran utama pada jalur sinyal stres terlibat dalam ekspresi gen, *neuronal plasticity*, regenerasi, kematian sel, dan regulasi penuaan seluler. Telah

ditunjukkan bahwa ada jalur aktivasi JNK setelah paparan faktor stres yang berbeda, termasuk sitokin, faktor pertumbuhan, stress oksidatif, *unfolded protein response signals* atau A β peptides. Secara keseluruhan, JNK telah menjadi fokus strategi skrining mencari pendekatan terapeutik baru untuk diabetes, kanker atau penyakit hari. Selain itu, aktivasi JNK telah diidentifikasi sebagai kunci elemen yang bertanggung jawab untuk regulasi dan apoptosis sinyal (Yarza, Vela, Solas, & Ramirez, 2016).

Lidah buaya mengandung sejumlah besar senyawa bioaktif, seperti *flavonoids*, *terpenoids*, *lectins*, *fatty acids*, antrakuinon, mono- dan polisakarida (pektin, hemiselulosa, glukoman), tannin, sterol (campesterol, - β -sitosterol), enzim, asam salisilat, mineral (kalsium, kromium, tembaga, besi, magnesium, mangan, kalium, fosfor, natrium dan seng) dan vitamin (A, C, E, *β -caroten*, B1, B2, B3, B6, kolin, B12, asam folat). Komposisi kimia yang kaya dari tanaman tergantung pada sejumlah besar faktor: jenis dan kondisi budidaya, waktu panen, iklim, posisi daun pada batang, spesies gaharu dan metode yang digunakan untuk memanen daun. Waktu yang optimal untuk memanen daun lidah buaya adalah setelah tiga tahun

pertumbuhan tanaman, karena memiliki kandungan polisakarida tertinggi (6,55 g/kg) dan flavonoid (4,70 g/kg). Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Heś *et al* menunjukkan beragam mekanisme aksi antioksidan dalam ekstrak lidah buaya. Hasil penelitian menunjukkan potensi antioksidan yang tinggi larutan lidah buaya dalam system emulsi (Heś, Dziedzic, Górecka, Jędrusek-Golińska, & Gujska, 2019).

Lidah buaya efektif dalam menghambat reaksi inflamasi dengan menghambat IL-6 dan IL-8, reduksi adhesi leukosit, peningkatan IL-10, pengurangan TNF- α . Sifat regenerasi lidah buaya adalah karena adanya *glucomannan*, yang kaya akan polisakarida seperti *mannose*. *Glucomannan* mempengaruhi reseptor faktor pertumbuhan fibroblast dan menstimulasi aktivitas dan proliferasi, yang menyebabkan kenaikan produksi kolagen (Hekmatpou, Mehrabi, Rahzani, & Aminiyan, 2019). Gel dari lidah buaya mengandung berbagai macam polisakarida, termasuk *acylated glucomannan* juga dikenal sebagai asemannan, yang mana adalah polisakarida paling melimpah. *Mannose* menjadi tulang punggung polisakarida yang dicegat oleh unit glukosa. *Mannose* dan glukosa digabungkan oleh ikatan β -(1 \rightarrow 4)

glycosidic (Quezada, Salinas, Gotteland, & Cardemil, 2017).

Polisakarida adalah karbohidrat dengan berat molekul yang tinggi, yang menunjukkan kelas utama molekul bioaktif yang berasal dari mikroorganisme, hewan, atau tumbuhan. Polisakarida banyak digunakan pada berbagai produk kesehatan dan obat karena memiliki kandungan bioaktif yang sudah banyak dikenal dan sangat bagus, seperti antimikroba, antitumor, antiviral, dan antioksidan. Sebagai tambahan polisakarida sebagai biopolimer alami di bumi digunakan sebagai biomaterial untuk penyembuhan luka, pengantar obat, rekayasa jaringan organ. Lidah buaya adalah satu dari beberapa tanaman alami dengan kandungan polisakarida yang berlimpah. Asemannan dianggap sebagai salah satu dari polisakarida bioaktif utama pada lidah buaya, mengandung imunoregulasi, antikanker, antioksidan, penyembuhan luka, dukungan proliferasi tulang, neuroproteksi, dukungan aktivitas kesehatan usus. Asemannan adalah suatu β -(1→4)-*acetylated* larut *polymannose*, adalah bioaktif polisakarida utama dari lidah buaya, baik dari ekstrak gel dan kulit. Dalam beberapa dekade terakhir, asemannan telah dilaporkan memiliki banyak kegunaan dalam farmakologi dan biologi dalam

bidang kedokteran dan industri, seperti penyakit oral, penyakit metabolik, penyakit kardiovaskular, penyakit tumor (Liu, et al., 2019).

Flavonoid adalah produk alami yang penting; khususnya flavonoid ini termasuk dalam kelas metabolit sekunder tanaman yang memiliki struktur polifenol, banyak ditemukan dalam buah-buahan, sayuran dan minuman tertentu. Mereka memiliki berbagai efek biokimia dan antioksidan. Flavonoid berhubungan dengan efek promosi kesehatan dan komponen yang sangat diperlukan dalam berbagai *nutraceutical*, farmasi, obat dan penggunaan kosmetik. Hal ini dikarenakan efek dari antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik dan antikanker dari flavonoid digabungkan dengan kapasitas mereka untuk memodulasi fungsi kunci selular enzim. Flavonoid juga dikenal sebagai inhibitor atau penghambat ampuh beberapa enzim, seperti *xanthine oxidase* (XO), *cyclo-oxygenase* (COX), *lypogynase*, dan *phosphoinositide 3-kinase*. Secara alami komponen flavonoid adalah produk ekstraksi dari tanaman dan mereka dapat ditemukan dalam beberapa bagian pada tanaman (Panche, Diwan, & Chandra, 2016).

Kadar malondialdehid (MDA) dan nitrit oksida (NO) dapat digunakan untuk mengukur kerusakan peroksida yang diakibatkan ROS dan RNS yang mampu mengubah struktur dan fungsi membran. Pengobatan dengan ekstrak *aloe vera* secara signifikan meningkatkan sistem antioksidan dengan menurunkan kadar MDA dan NO (Akinloye, Ugbaja,, & Dosumu, 2019).

Kadar plasma malondialdehid meningkat secara signifikan sehubungan dengan peningkatan waktu setelah konsumsi etanol, menunjukkan penambahan lipid peroksidasi yang bergantung waktu. Data menunjukkan konsumsi etanol mengganggu sistem plasma antioksidan dengan cara yang bergantung pada dosis dan waktu (Schlorff, Husain, & Somani, 1999). Anjing *beagle* yang diberikan *radialabelled acemannan* melalui oral dengan dosis 20 mg/kgBB perhari selama tiga bulan menunjukkan tingkat peningkatan konsentrasi darah pada 4-6 jam dan waktu paruh >48 jam. Tikus jantan yang diberikan *Fluorescein isothiocyanate (FITC)-labelled acemannan* (berat molekul aloemannan 500 kDa) dengan dosis 120 mg/kgBB di monitor ekskresi urin dan fesesnya selama 48 jam. Pada dosis yang teradministrasi, 95% di ekskresi melalui feses, dengan >90% terjadi dalam 24 jam. Material

yang ditemukan pada urin hanya sekitar 0,3%. Pada urin dan feses, FITC-*labelled acemannan* dikonversi menjadi zat dengan berat molekul rendah (<9 kDa) (Humans, 2016).

2.7 Kerangka Teori

Asupan alkohol yang berlebih berpengaruh pada status gizi. Gangguan hepar dan nutrisi merupakan akibat yang paling sering terjadi akibat penyalahgunaan alkohol. Sebagian besar alkohol dalam darah akan dimetabolisme menjadi asetaldehid di hepar oleh enzim alkohol dehidrogenase, MEOS (CYP2E1), dan katalase alkohol di hepar. Aktivitas MEOS tergantung pada enzim oksidasi seluler yaitu sitokrom P-450 (CYP2E1). Aktivasi CYP2E1 memerlukan alkohol kadar tinggi sehingga meningkatkan metabolisme alkohol (toleransi) terutama dengan pasien dengan pemakaian alkohol kronis. Sesudah masuk ke sistem pencernaan, alkohol akan diabsorpsi dan tidak mengalami perubahan apapun dalam lambung dan usus halus sehingga mengganggu penyerapan lemak dan susu. Alkohol kemudian didistribusikan ke semua jaringan dan cairan tubuh dalam jumlah yang tetap saat diabsorpsi oleh usus. Pasien dengan alkoholisme

kronis mengakibatkan toleransi karena produksi enzim P-450 yang meningkatkan kecepatan metabolisme (Huether & McCance, 2019).

Etanol dimetabolisme menjadi asetaldehida menggunakan enzim alkohol dehidrogenase, sitokrom P-450 2E1 (CYP2E1) suatu enzim mikrosomal, dan enzim katalase pada peroksisom. Enzim alkohol dehidrogenase merupakan jalur metabolisme utama etanol yang melibatkan pembawa elektron NAD⁺ (*nicotinamide adenine dinucleotide*) yang akan direduksi menjadi NADH.

Asetaldehid dimetabolisme oleh ALDH2 (*aldehyde dehidrogenase 2*) di mitokondria menjadi asetat dan NADH sebelum masuk ke sistem sirkulasi (Huether & McCance, 2019). Metabolisme alkohol di tubuh membutuhkan waktu yang bervariasi pada setiap individu dengan rata-rata kapasitas metabolik untuk mengeluarkan alkohol sekitar 170 sampai 240 gram per hari pada manusia dengan berat badan 70kg. Kapasitas ini setara dengan rata-rata tingkat metabolisme yaitu sekitar 7 g/jam, yang berarti sekitar 1 kali minum per jam. Karena pecandu alkohol dapat mengonsumsi 200-300 g etanol perhari, setara dengan 1400-2100 kkal, konsumsi nutrisi normal biasanya secara signifikan berkurang (biasanya, 2000-3000 kkal konsumsi per hari

tanpa alkohol). Hewan dengan ukuran tubuh yang lebih kecil memetabolisme alkohol lebih cepat dibandingkan hewan yang lebih besar (sebagai contoh, tingkatan metabolisme pada hewan 5 kali lebih cepat dibandingkan tingkatannya metabolisme pada manusia) (Cederbaum, 2012).

Lidah buaya memiliki beberapa aktivitas seperti anti kanker, antioksidan, antimikroba, antialergi, antiinflamasi, immunomodulator, hepatoprotektif, antiulserasi dan antidiabetik. Beberapa aktivitas ini dikarenakan adanya keberadaan polisakarida (asemannan; glukomannan) (Sanchez-Machado, Lopez-Cervantes, Sendon, & Sanches-Silva, 2017). Lidah buaya mengandung substansi antioksidan seperti α -tokoferol (vitamin E), karetenoid, asam askorbat (vitamin C), flavonoid, dan tannin. Efek antioksidan pada pemberian ekstrak etanol lidah buaya dapat menurunkan kadar gula darah tikus yang terkena diabetes, yang dapat menghambat pembentukan berlebih radikal bebas melalui berbagai jalur biokimia dan juga mengurangi potensi glikasi oleh enzim (Radha & Laxmipriya, 2015).

Zat antioksidan di dalam sel ada dalam konsentrasi yang sedikit dan secara

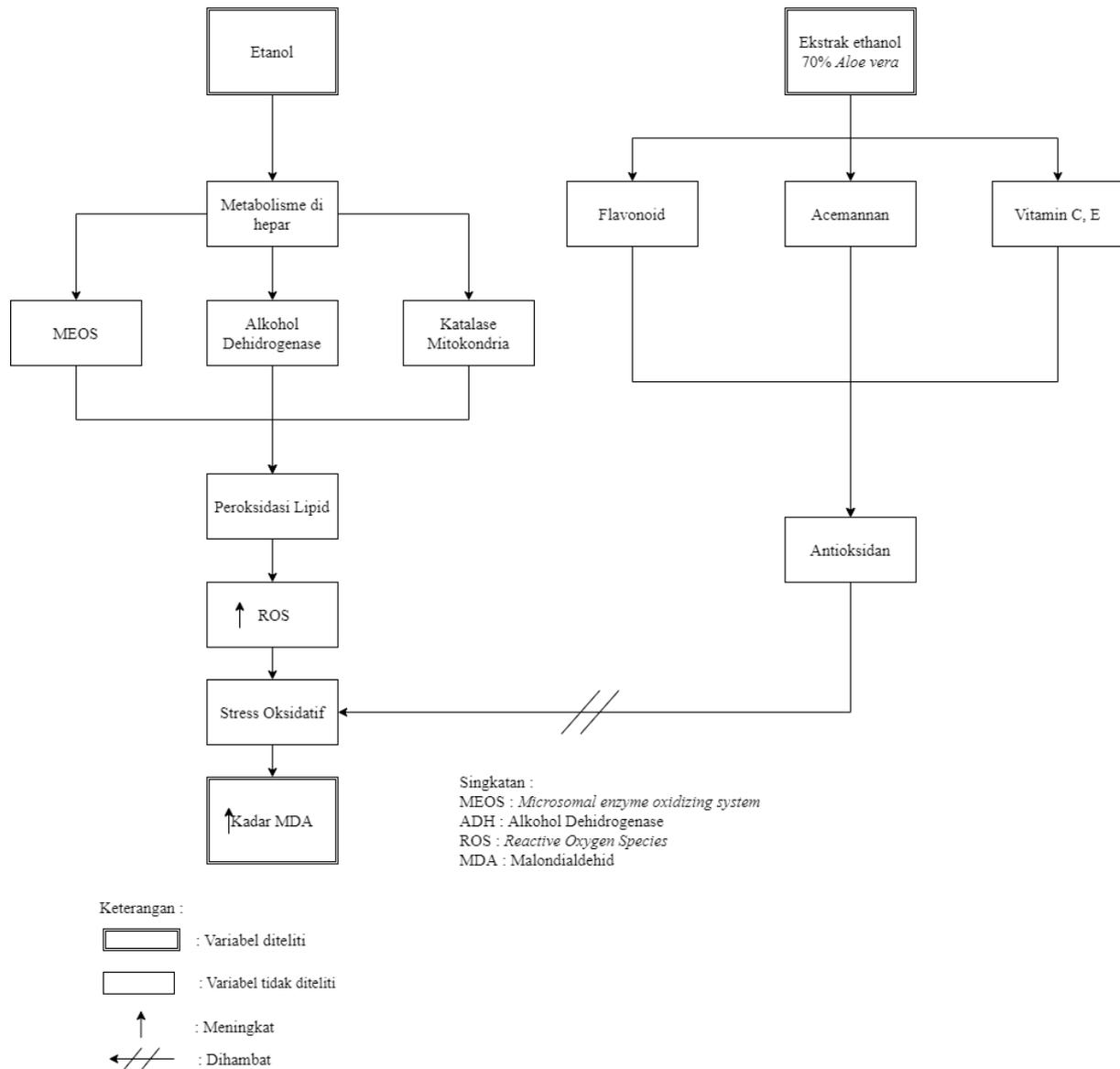
signifikan mengurangi atau menghambat oksidasi dari substrat yang bisa dioksidasi. Manusia telah mengembangkan sistem antioksidan yang sangat kompleks (enzimatik dan non enzimatik), yang bekerja secara sinergis, dan bersama dengan satu sama lain untuk melindungi sel dan sistem organ tubuh dari radikal bebas. Antioksidan bisa didapatkan secara endogenous dan bisa juga didapatkan secara eksogenous sebagai bagian dari diet atau sebagai suplemen diet. Beberapa kandungan diet yang tidak menetralkan radikal bebas tetapi meningkatkan aktivitas endogenous juga dapat diklasifikasikan sebagai antioksidan. Antioksidan yang ideal harus dapat diserap langsung dan mengeliminasi radikal bebas (Kurutas, 2016).

Pembentukan MDA dapat diinduksi secara non enzimatik oleh ROS dan secara enzimatik oleh lipoksigenase. Dalam kedua kasus, kuantifikasi produk hidropeksida lipid primer sulit karena ketidakstabilan dan reaktivitasnya. Oleh karena itu kuantifikasi peroksidasi lipid biasanya diperkirakan dengan mengukur konsentrasi produk oksidasi sekunder yang berasal dari hidroperoksidasi awal, yang sebagian besar merupakan aldehid seperti MDA. Sifat elektrofilik MDA mudah terikat pada pH rendah dan suhu

tinggi pada bagian nukleofilik dari *thiobarbituric acid* (TBA). TBARS masih merupakan metode yang umum digunakan pada sampel hewan maupun tumbuhan untuk memeriksa kadar MDA dengan memanfaatkan sifat elektrofiliknya (Morales & Munné-Bosch, 2019).

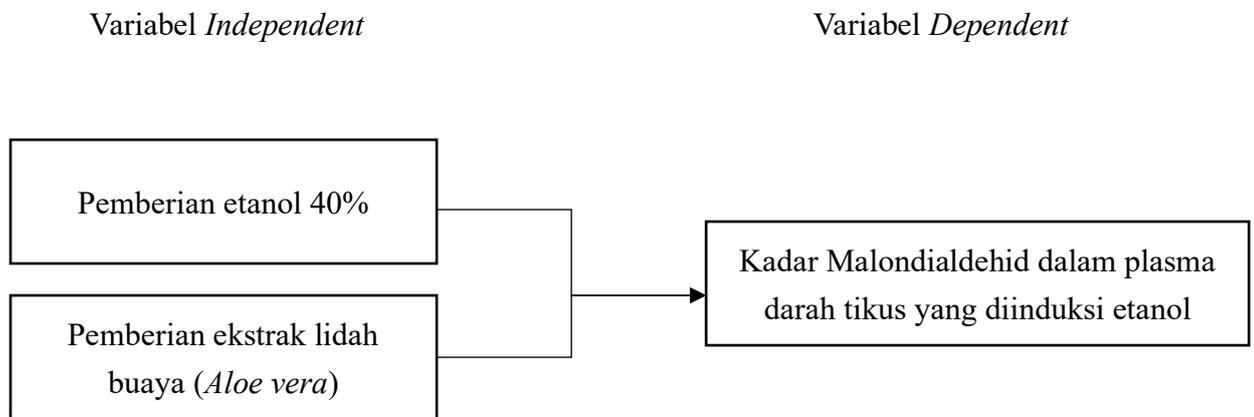
Alkohol (etanol) merupakan radikal bebas. Senyawa tersebut dapat menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS). Radikal bebas dapat menyebabkan ketidakseimbangan antioksidan dan oksidan sehingga tubuh memerlukan antioksidan eksogen agar dapat menghambat terjadinya proses oksidasi. Perlakuan terhadap tikus dengan pemberian ekstrak Lidah Buaya dengan beberapa dosis yang sudah ditentukan untuk melihat efeknya terhadap kadar MDA.

Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori (Bawankar, Babu, & Singh, 2014) (Huether & McCance, 2019)

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

1. H1

Terdapat pengaruh kadar MDA setelah pemberian ekstrak lidah buaya terhadap tikus yang diinduksi etanol.

2. H0

Tidak terdapat pengaruh kadar MDA setelah pemberian ekstrak lidah buaya terhadap tikus yang diinduksi etanol.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

3.2 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*, yaitu mengamati perbandingan antara sebelum diberi perlakuan dan sesudah diberi perlakuan. Menggunakan 35 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvergicus*) jantan *Sparague dawley* berumur 10-12 minggu yang kemudian dipilih secara acak yang dibagi dalam 5 kelompok penelitian. Adapun lima kelompok perlakuan yaitu :

- a. Kelompok 1 (K1): Kelompok tikus putih tanpa diberikan induksi etanol (kontrol negatif).
- b. Kelompok 2 (K2): Kelompok tikus putih diberikan induksi etanol 40% sebanyak 1,8 ml tanpa diberi terapi (kontrol positif).
- c. Kelompok 3 (P1): Kelompok tikus putih diberikan induksi etanol 40% sebanyak 1,8 ml dan terapi *aloe vera* 400 mg/kgBB.
- d. Kelompok 4 (P2): Kelompok tikus putih diberikan induksi etanol 40% sebanyak 1,8 ml dan terapi *aloe vera* 300 mg/kgBB.
- e. Kelompok 5 (P3): Kelompok tikus putih diberikan induksi etanol 40% sebanyak 1,8 ml dan terapi *aloe vera* 200 mg/kgBB.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemberian intervensi dilakukan di *Animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pengambilan sampel darah dan preparasi reagen dilakukan di Laboratorium biomolekuler, biokimia, dan fisiologi Fakultas Kedokteran dan pengamatan dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA. Ekstraksi Lidah Buaya dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai November 2021.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih dewasa galur *Sprague dawley* berusia 10-12 minggu dengan berat badan 200-250gram yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor (IPB).

3.4.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini akan dibagi menjadi 5 kelompok.

Dihitung dengan menggunakan rumus Frederer

Rumus Frederer :

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

Huruf t pada rumus merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah sampel tiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok sehingga perhitungan sampel menjadi :

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

Jadi sampel yang digunakan pada tiap kelompok adalah 5 ekor tikus ($n \geq 5$). Sehingga pada penelitian ini digunakan 25 ekor tikus dan dibagi menjadi lima kelompok secara acak. Untuk menghindari *drop out*, maka dapat dilakukan perhitungan pada penelitian eksperimental ini dengan menggunakan rumus:

$$N : \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan :

N : merupakan jumlah sampel yang sudah dikoreksi

n : merupakan jumlah sampel awal

f : merupakan prediksi *drop out* (30%)

Sehingga didapatkan hasil :

$$N : \frac{5}{1 - f}$$

$$N : \frac{5}{1 - 30\%}$$

$$N : \frac{5}{0,7}$$

N : 7,14

N : 7

Jadi, 1 ekor tikus putih jantan akan ditambahkan ditiap masing masing kelompok perlakuan, sehingga menjadi 7 ekor per kelompok untuk mengurangi peluang *drop out*. Jadi total dari keseluruhan sampel yang dibutuhkan adalah 35 ekor tikus putih jantan.

3.4.3 Kriteria Inklusi:

- a. Tikus jantan (*Rattus novergicus*) yang memiliki berat badan normal (200-250 gram);
- b. Berusia 8-12 minggu sebelum dilakukan adaptasi;
- c. Tampak sehat serta bergerak aktif, secara pengamatan visual tidak tampak kelainan anatomis.

3.4.4 Kriteria Eksklusi:

- a. Memiliki kelainan pada kulit;
- b. Terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi;
- c. Mati selama masa perlakuan.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas atau yang disebut dengan variabel independen pada penelitian ini adalah ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*), dan pemberian etanol 40%.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau yang disebut dengan variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar Malondialdehid pada tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley*.

3.5.3 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Pemberian ekstrak lidah buaya (<i>Aloe vera</i>) dan etanol 40%	Pemberian etanol 40% 1,8 ml pada kelompok K2 (Murti, Amarwati, & Wijayahadi, 2016).	Sput 10 cc dan sonde serta gelas ukur, Timbangan	Larutan ekstrak lidah buaya P1: 400 mg/kgBB P2: 300 mg/kgBB P3: 200 mg/kgBB	Ordinal
		Pemberian etanol 40% 1,8ml dan ekstrak etanol 70% lidah buaya pada kelompok P1, P2, dan P3			

		(Murti, Amarwati, & Wijayahadi, 2016) (Soetjipto, Basori, & Joewarini, 2018).		
2	Kadar Malondialde hid (MDA)	Untuk melihat kadar Malondialdehid tikus putih diamati dengan mengambil sampel darah tikus putih yang kemudian diperiksa menggunakan <i>Spectrophotome ter</i> dengan panjang gelombang 530 nm	<i>Spectrophoto meter</i> Kadar Malondialdehid dengan satuan nmol/mL	Numerik

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Botol minum tikus
- b. Tempat makan tikus

- c. Kandang tikus uji coba yang terbuat dari plastik dan ukuran 40x20x20 cm³ dengan tutup kawat
- d. Spuit 3 cc
- e. Tabung mikrosentrifugasi berisi EDTA
- f. Rak tabung reaksi
- g. Minor set
- h. Sarung tangan steril sekali pakai
- i. Sonde atau skalpel dengan diameter 2 mm
- j. Kapas alkohol

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- a. Tikus putih jantan galur *Sprague dawley*
- b. Pakan tikus berupa pelet dan minum tikus
- c. Ekstrak lidah buaya

3.6.3 Alat yang digunakan dalam pemeriksaan kadar Malondialdehid

- a. Spectrophotometer
- b. *Waterbath*/Penangas air
- c. Sentrifugasi

- d. Micropipet
- e. Vortex
- f. Whitetips, bluetips, yellowtips
- g. Kuvets
- h. Microtube 1,5mL dan 2mL
- i. Boks Pendingin

3.6.4 Bahan yang digunakan dalam pemeriksaan kadar Malondialdehid

- a. TBA 0,67%
- b. Akuades
- c. TEP (Tetra Etoksi Propan)/Standar
- d. Plasma darah tikus
- e. Homogenat
- f. TCA 20%

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Adaptasi Hewan Coba

Sebelum dilakukan percobaan pada tikus putih di laboratorium, terlebih dahulu 35 ekor tikus putih yang sudah dikelompokkan

menjadi 5 kelompok diberikan adaptasi di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama tujuh hari. Selama masa adaptasi diberikan makan dan minuman secukupnya dan dilakukan pembersihan kandang tiga hari sekali.

3.7.2 Teknik Pembuatan Ekstrak Lidah Buaya

1. Daun lidah buaya dihilangkan bagian durinya, pangkal, serta ujung daun tanpa menghilangkan getahnya, kemudian dilakukan perajangan.
2. Blender lidah buaya segar yang sudah dipotong-potong sebelumnya.
3. Masukkan lidah buaya yang sudah diblender ke dalam tabung, kemudian tambahkan etanol 70%.
4. Diamkan pada suhu ruangan selama 3x24 jam
5. Kemudian saring filtratnya
6. Filtrat yang akan didapatkan kemudian disuling di dalam vakum evaporator berputar pada suhu 40°C

3.7.3 Pemberian Dosis Etanol 40%

Minuman anggur yang banyak beredar di masyarakat merupakan

minuman keras golongan C dengan kadar etanol sebesar 40%.

Dosis etanol 40% sebanyak 1,8 ml akan diberikan pada kelompok uji K2, P1, P2, dan P3.

3.7.4. Pemberian Ektstrak Lidah Buaya

Untuk pemberian intervensi ekstrak teh hijau, hewan coba akan dilakukan pengelompokkan berdasarkan perlakuan. Adapun kelima kelompok perlakuan tersebut, yaitu :

1. Kelompok (K1) yang merupakan kelompok kontrol negatif.

Pada kelompok ini tikus putih akan diberikan perlakuan pemberian pakan dan minum selama 14 hari berturut turut.

2. Kelompok (K2) yang merupakan kelompok kontrol positif.

Pada kelompok ini tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu pemberian etanol 40% dengan dosis 1,8 mL/hari menggunakan sonde secara per-oral selama 14 hari berturut turut, dan sebelum pemberian etanol tikus akan diberikan pakan terlebih dahulu.

3. Kelompok (P1) yang merupakan kelompok perlakuan 1. Pada

kelompok ini tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu

pemberian etanol 40% dengan dosis 1,8 ml/hari. Lalu dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya setelah pemberian etanol 40% dengan dosis sebanyak 400 mg/kgBB.

4. Kelompok (P2) yang merupakan kelompok perlakuan 2. Pada kelompok ini tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu pemberian etanol 40% dengan dosis 1,8 ml/hari. Lalu dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya setelah pemberian etanol 40% dengan dosis sebanyak 300 mg/kgBB
5. Kelompok (P3) yang merupakan kelompok perlakuan 3. Pada kelompok ini tikus putih akan diberikan perlakuan yaitu pemberian etanol 40% dengan dosis 1,8 ml/hari. Lalu dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol lidah buaya setelah pemberian etanol 40% dengan dosis sebanyak 200 mg/kgBB.

3.7.5 Prosedur Pengambilan sampel darah

1. Tikus dipingsan kan terlebih dahulu dengan menggunakan anastesi kemudian ambil sampel darah 3cc dengan menggunakan spuit 3cc
2. Masukkan sampel darah kedalam tabung mikrosentrifugasi berisi EDTA sebagai antikoagulan, siapkan tabung mikrosentrifugasi kosong
3. Tabung kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 5 menit.
4. Pindahkan cairan plasma darah yang terpisah dari bagian padat darah pada tabung mikrosentrifugasi kosong
5. Simpan plasma darah pada box pendingin dengan suhu 2-4 derajat celcius.

3.7.6 Pengukuran kadar MDA plasma

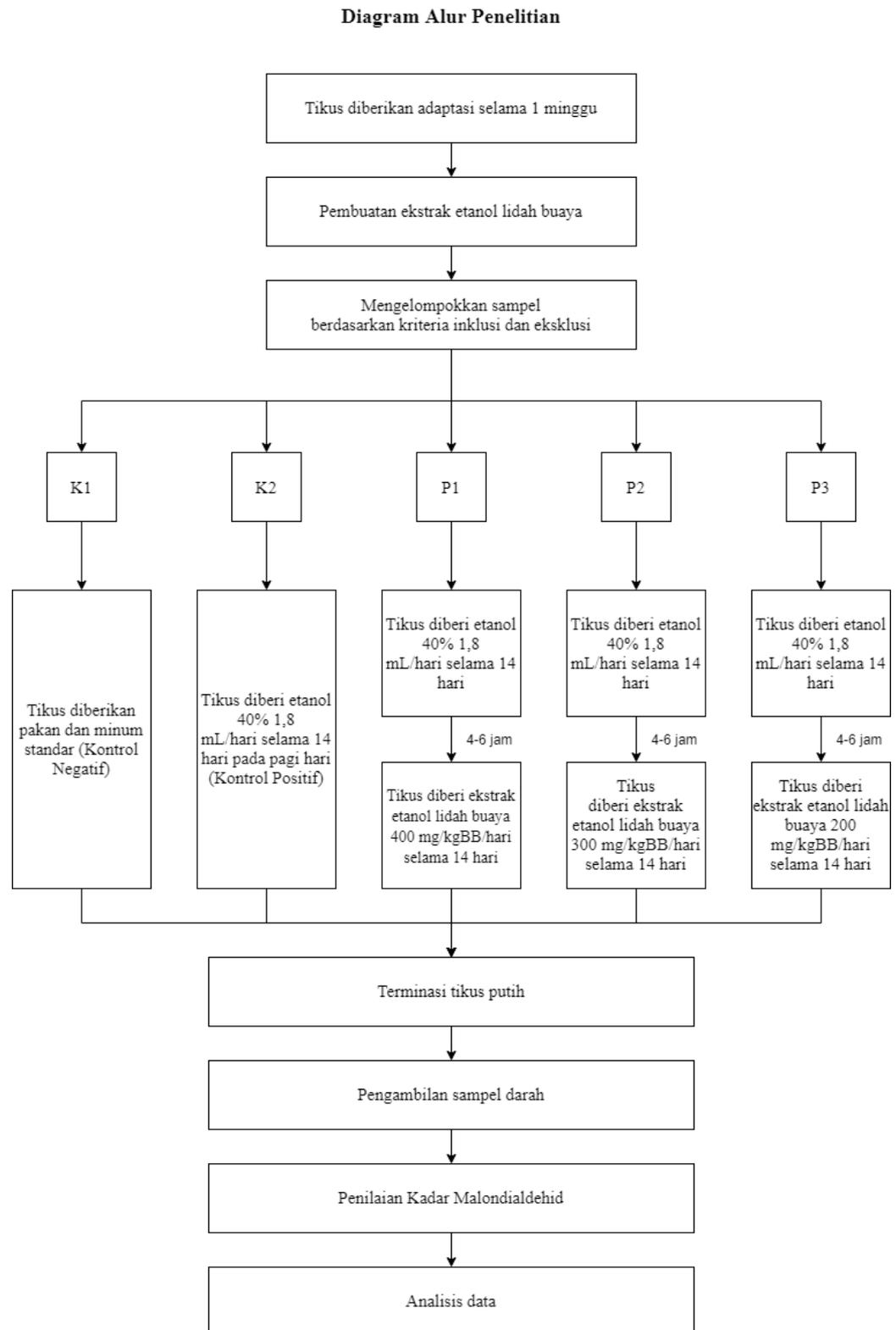
1. Persiapan reagensia, dimulai dengan membuat reagensia TBA dengan mengencerkan masing-masing TEP 1:80.000 sebanyak 400uL ditambahkan 200uL dan dilanjutkan dengan vortex sampai campuran terlihat keruh

2. Campuran disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit
3. Supernatan/hasil sentrifugasi dipisahkan untuk pemeriksaan selanjutnya dan buang ampasnya
4. Tambahkan sebanyak 400uL TBA 0,67% pada supeprnatan dan panaskan dengan *Waterbath* 96°C selama 10 menit
5. Campuran disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit dan dibaca absorbansinya dengan menggunakan spektrophotometer pada panjang gelombang 530nm
6. 0,4 mL sampel plasma darah tikus putih dipipet ke dalam ependorf/microtube 1,5mL sebanyak 50uL dan diencerkan dengan air sebanyak 350uL
7. Tambahkan 200uL TCA 20% pada sampel tadi kemudian divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit
8. Tambahkan 400uL TBA 0,67% pada supernatan, dan lanjutkan dengan pemanasan dengan *Waterbath* 96°C selama

10 menit

9. Larutan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit dan dibaca serapannya dengan menggunakan spektrophotometer pada panjang gelombang 530nm.

3.8 Diagram Alur Penelitian



3.9 Pengolahan dan Analisis Data

3.9.1 Pengolahan Data

Data yang sudah diperoleh dari penelitian kemudian akan diolah dengan menggunakan *software* pengolah data statistik yang terdiri dari beberapa langkah, yaitu :

- a. Editing: memeriksa ulang data yang diperoleh dari penelitian
- b. Koding: mengubah data yang sudah dikumpulkan selama penelitian ke dalam bentuk simbol/karakter tertentu
- c. Data entry: memasukan data ke dalam aplikasi pengolah data
- d. Verifikasi: memeriksa kembali data yang sudah dimasukkan ke dalam aplikasi
- e. Output: hasil dari analisis data

3.9.2 Analisis Data

Setelah data diperoleh dari hasil penilaian kadar MDA dengan menggunakan *spectrophotometer* dengan panjang gelombang 530 nm maka selanjutnya data tersebut di uji dan di analisis dengan menggunakan program computer untuk menganalisis data. Selanjutnya hasil penelitian di analisis dengan uji parametrik *One-*

Way Anova, karena data yang diperoleh dalam bentuk ordinal-numerik. Untuk menganalisis terdistribusi normal atau tidak secara statistik dilakukan uji normalitas. Untuk mengukur normalitas, uji yang dilakukan yaitu uji *Saphiro-Wilk*, karena pada penelitian ini jumlah sampel ≤ 50 . Kemudian digunakan uji homogenitas yaitu uji Levene sebagai syarat uji parametrik *One-Way Anova*. Apabila uji normalitas data dan/atau uji homogenitas data tidak memenuhi syarat uji parametrik *One-Way Anova*, maka dapat dilakukan uji non parametrik yaitu uji *Mann Whitney* atau bisa dilakukan transformasi data menggunakan log.

Jika menggunakan uji *One-Way Anova* didapatkan nilai $p \leq 0,05$, maka hipotesisnya dapat diterima dan selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Bonferroni* yang digunakan untuk menganalisa sampel yang sama maupun berbeda (*equal dan unequal*) pada setiap perlakuan. Uji *Post Hoc Bonferroni* memungkinkan membuat perbandingan antar perlakuan, antara perlakuan dengan kelompok perlakuan, atau antar kelompok perlakuan dengan jumlah masing-

masing kelompok sama.

3.10 Ethical Clearance

Penelitian ini akan dianjurkan ke Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk mendapatkan persetujuan etik, Terdapat tiga prinsip dasar etika Penelitian menggunakan hewan coba, diantaranya :

- i. Tiga pilar prinsip etik penelitian :
 1. *Respect for Animals*, Peneliti memperlakukan hewan coba dengan baik selayaknya makhluk hidup
 2. *Beneficence*, Penelitian ini menggunakan hewan coba dengan bertujuan untuk meneliti manfaat efek ekstrak etanol lidah buaya terhadap makhluk hidup
 3. *Justice*, Penelitian ini dilakukan secara adil dalam pemanfaatan hewan coba disetiap kelompok perlakuan.
- ii. Prinsip hewan coba 3R :
 1. *Reduction*, Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini berjumlah 35 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok dengan

masing-masing kelompok berjumlah 7 ekor yang sudah dihitung dengan menggunakan rumus hitung jumlah sampel minimal

2. *Replacement*, Penelitian ini menggunakan tingkatan atau orde terendah dari tingkatan percobaan, yakni dalam penelitian ini menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sparague dawley*
 3. *Refinement*, Selama penelitian tikus diberikan pangan dan minum sesuai standar. Terminasi hewan coba menggunakan anastesi Ketamine dan Selazine dengan tujuan mengurangi *distress* pada hewan coba, setelah diterminasi hewan coba kemudian dikubur.
- iii. Prinsip pemeliharaan/perlakuan hewan coba 5F
1. *Freedom from hunger and thirst*, Hewan coba diberikan pangan dan minum setiap hari
 2. *Freedom from pain, injury, disease*, Hewan coba dirawat sebaik mungkin selama waktu penelitian
 3. *Freedom from discomfort*, Hewan coba diperlakukan sebaik mungkin selama waktu penelitian
 4. *Freedom from fear and distress*, hewan coba dijaga sebaik

mungkin selama waktu penelitian

5. *Freedom to express natural behavior*, Hewan coba selama waktu penelitian dibiarkan hidup seperti pada habitatnya

Pengelolaan hewan coba mulai dari perlakuan sampai pengorbanan pada penelitian ini mengikuti kaidah *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals* (2012) dari *Council for International Organization of Medical Science*. Terminasi atau pengorbanan hewan coba dilakukan dengan menerapkan prinsip hewan coba yang kemudian akan dilakukan penguburan terhadap bangkai tikus.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah didapatkan pada bab sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa.

1. Terdapat pengaruh, berupa peningkatan kadar malondialdehid pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sparague dawley* yang diinduksi etanol tanpa pemberian ekstrak dan terjadi penurunan kadar malondialdehid pada tikus putih jantan yang diinduksi etanol dengan pemberian ekstrak.
2. Tidak terdapat pengaruh yang signifikan diantara kelompok perlakuan P1, P2 dan P3 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sparague dawley* yang diberikan ekstrak *Aloe vera*

berdasarkan dengan dosis masing-masing kelompok.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan kepada pembaca adalah sebagai berikut.

1. Bagi peneliti lain disarankan untuk melakukan uji fitokimia secara kuantitatif terhadap ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*).
2. Bagi peneliti lain disarankan untuk menambahkan lama waktu pemberian etanol dan ekstrak untuk melihat efek ekstrak lidah buaya terhadap kadar malondialdehid dengan induksi perlakuan etanol yang lebih kronis.
3. Bagi peneliti lain disarankan untuk meneliti penyebab mengapa kadar malondialdehid pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak kadar ekstrak lidah buaya yang lebih tinggi menghasilkan kadar malondialdehid yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diberikan kadar ekstrak lidah buaya yang lebih rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Akinloye, D. I., U. R., & Dosumu, O. A. (2019). Appraisal of the antioxidative potential of Aloe Barbadensis M. on alcohol-induced oxidative stress. *Folia Veterinaria*, 63(3):34-46.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. (2014). Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014:1-31.
- Ayuningati, L. K., Murtiastutik, D., & Hoetomo, M. (2018). Difference Level of Malondialdehyde [MDA] in Atopic Dermatitis and Non atopic Dermatitis Patien. *Periodical of Dermatology and Venereology*, 30(1):58-65.
- Bawankar, R., Babu, S., & Singh, P. (2014). Bioactive compounds and medicinal properties of Aloe vera L.: An update. *Journal of Plant Sciences*, 2(3):102-7.
- BPOM. (2016). *PKBPOM RI Nomor 14 Tahun 2016 Tentang Standar Keamanan Dan Mutu Minuman Alkohol*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Cederbaum, A. I. (2012). Alcohol Metabolism. *Clinics in Liver Disease*, 16(4):667-85.
- Galicía-Moreno, M., Rosique-Oramas, D., Medina-Avila, Z., Álvarez-Torres, T., Falcón, D., tijera, F. H.-d, *et al.* (2016). Behavior of Oxidative Stress Markers in Alcoholic Liver Cirrhosis Patients. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016:1-10.

- García-Suástegui, W. A., Ramos-Chávez, L. A., Rubio-Osornio, M., Calvillo-Velasco, M., Atzin-Méndez, J. A., Guevara, J., & Silva-Adaya, D. (2017). The Role of CYP2E1 in the Drug Metabolism or Bioactivation in the Brain. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017:1-14.
- Hekmatpou, D., Mehrabi, F., Rahzani, K., & Aminiyan, A. (2019). The Effect of Aloe Vera Clinical Trials on Prevention and Healing of Skin Wound: A Systematic Review. *Iran Journal Medical Science*, 44(1):1-9.
- Hernández, J. A., López-Sánchez, R. C., & Rendón-Ramírez, A. (2016). Lipids and Oxidative Stress Associated with Ethanol-Induced. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016:1-15.
- Heś, M., Dziedzic, K., Górecka, D., Jędrusek-Golińska, A., & Gujska, E. (2019). Aloe vera (L.) Webb.: Natural Sources of Antioxidants – A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(3):255-65.
- Huether, S. E., & McCance, K. L. (2019). *Buku Ajar Patofisiologi Edisi Keenam* (Vol. 1). Singapore: Elsevier.
- Humans, I. M. (2016). *Some Drugs and Herbal Products*. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer.
- Kesehatan, B. P. (2018). *Laporan Nasional Riskesdas 2018*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Klaikeaw, N., Wongphoom, J., Werawatganon, D., Chayanupatkul, M., & Siriviriyakul, P. (2020). Anti-inflammatory and anti-oxidant effects of aloe vera in rats with non-alcoholic steatohepatitis. *World Journal of Hepatology*, 12(7):363-77.
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal*, 15(71):1-22.
- Liu, C., Cui, Y., Pi, F., Cheng, Y., Guo, Y., & Qian, H. (2019). Extraction, Purification, Structural Characteristics, Biological Activities and Pharmacological Applications of Acemannan, a Polysaccharide from Aloe

vera: A Review. *Molecules*, 24(8):1-22.

López, Z., Núñez-Jínez, G., Avalos-Navarro, G., Rivera, G., Salazar-Flores, J., Ramírez, J. A., *et al.* (2017). Antioxidant and Cytotoxicological Effects of Aloe vera Food Supplements. *Journal of Food Quality*, 2017:1-10.

Mathew, F., & Goyal, A. (2021). *Ethanol*. Retrieved October 2021, from Statpearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556147/>

Modlinska, K., & Pisula, W. (2020). *The Natural History of Model Organisms: The Norway rat, from an obnoxious pest to a laboratory pet*. Retrieved June 2021, from eLife: <https://elifesciences.org/articles/50651>

Morales, M., & Munné-Bosch, S. (2019). Malondialdehyde: Facts and Artifacts. *Plant Physiology*. *Plant Physiology*, 180(3):1246-50.

Murti, F. K., Amarwati, S., & Wijayahadi, N. (2016). Pengaruh ekstrak daun kersen (Muntingia calabura) terhadap gambaran mikroskopis hepar tikus wistar jantan yang diinduksi etanol dan soft drink. *Jurnal Kedokteran Dipenogoro*, 5(4):871-83.

Nurdyansyah, F. (2017). Stres Oksidatif dan Status Antioksidan. *Jendela Olahraga*, 2(1):105-9.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional science*, 5(47):1-15.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry : IJCB*, 30(1):11-26.

Pyun, C.-W., Mandal, P. K., Hong, G.-E., & Lee, C.-H. (2015). Effect of Chronic Alcohol Consumption on Phosphatidylcholine Hydroperoxide Content of Rat Liver and Brain. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(7):1225-30.

Quezada, M. P., Salinas, C., Gotteland, M., & Cardemil, L. (2017). Acemannan and

- Fructans from Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) Plants as Novel Prebiotics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46):10029–39.
- Radha, M. H., & Laxmipriya, N. P. (2015). Evaluation of biological properties and clinical effectiveness of Aloe vera: A systematic review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(1):21-26.
- Rahman, Z., Dwivedi, D., & Jena, G. (2019). Ethanol-induced gastric ulcer in rats and intervention of tert-butylhydroquinone: Involvement of Nrf2/HO-1 signalling pathway. *Human and Experimental Toxicology*, 20(10):1-16.
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2016). *Biokimia Harper Edisi 30*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Salehi, B., Martorell, M., Arbiser, J. L., Sureda, A., Martins, N., Maurya, P. K., *et al.* (2018). Antioxidants: Positive or Negative Actors? *Biomolecules*, 8(214):1-11.
- Sanchez-Machado, D. I., Lopez-Cervantes, J., Sendon, R., & Sanches-Silva, A. (2017). Aloe vera: Ancient knowledge with new frontiers. *Trends in Food Science & Technology*, 61:94-102.
- Schlörff, E., Husain, K., & Somani, S. (1999). Dose- and Time-Dependent Effects of Ethanol on Plasma Antioxidant System in Rat. *Alcohol*, 17(2):97-105.
- Schweinfurth, M. K. (2020). *The social life of Norway rats (Rattus norvegicus)*. doi:<https://doi.org/10.7554/eLife.54020>
- Sinaga, F. A. (2016). Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus*, 9(2):176-89.
- Soetjipto, L., Basori, A., & Joewarini, E. (2018). Pengaruh Ekstrak Aloe Vera Terhadap Kesembuhan Mukosa Lambung Tikus Wistar yang Diinduksi Aspirin. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 20(1):42-46.
- Tan, H. K., Yates, E., Lilly, K., & Dhanda, A. D. (2020). Oxidative stress in alcohol-related liver disease. *World Journal of Hepatology*, 12(7):332-49.

WHO. (2018). *Global Status Report on Alcohol and Health*. Geneva: World Health Organization.

Yarza, R., Vela, S., Solas, M., & Ramirez, M. J. (2016). c-Jun N-terminal Kinase (JNK) Signaling as a Therapeutic Target for Alzheimer's Disease. *Frontiers in Psychology*, 6(321):1-12.