

**EFEK EKSTRAK KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) TERHADAP JUMLAH SEL
ENDOTEL DAN KETEBALAN AORTA *Rattus novergicus* BERDASARKAN LAMA PAPARAN ASAP MESIN
BERBAHAN BAKAR BENSIN**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Oleh:

DIANA BONTON WARDANITA
NIM: 0910710055

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) TERHADAP JUMLAH SEL

ENDOTEL DAN KETEBALAN AORTA *Rattus novergicus* BERDASARKAN LAMA PAPARAN ASAP MESIN

BERBAHAN BAKAR BENSIN

Oleh :

Diana Bonton Wardanita

NIM. 0910710055

Telah diuji pada:

Hari : Senin

Tanggal : 25 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Safrina Dewi Rahayu, S.Si, M.Si.Med

NIP. 19740318 200501 2 001

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Dr. dr.Setyawati Soeharto, MS

NIP. 19521027 198103 2 001

dr. Rachmad Sarwo Bakti, MEd

NIP. 19810619 200812 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kedokteran

Prof.Dr.dr.Teguh W. Sardjono DTM& H, MSc, SpPark

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Bapa, Putra, dan Roh Kudus atas segala berkat dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) Terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Aorta *Rattus norvegicus* Berdasarkan Lama Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin”.

Penulis tertarik dengan topik ini karena masih tingginya tingkat pencemaran udara akibat kendaraan bermotor dan banyaknya kejadian penyakit kardiovaskuler akibat pencemaran udara di Indonesia.

Dengan selesainya tugas akhir ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, SpPA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Universitas Brawijaya.
2. Dr. dr. Setyawati Soeharto, MS sebagai pembimbing 1 dan dr. Rachmad Sarwo Bakti, M.Ed sebagai pembimbing 2 yang telah membimbing dan memotivasi agar dapat menulis dengan baik.
3. Bu Safrina Dewi Rahayu, S.Si, M.Si.Med sebagai penguji yang telah menguji dan membantu memperbaiki tugas akhir ini.
4. Prof. dr. M. Aris Widodo, SpFK, PhD yang telah menawarkan kerjasama penelitian kepada penulis.

5. Mas Memed, Bu Ferida, dan semua staf Laboratorium Farmakologi FKUB yang telah membantu menyelesaikan penelitian.
6. Mas Mizan dan semua staf Laboratorium Patologi Anatomi FKUB yang telah membantu menyelesaikan penelitian.
7. Keluarga besar yang telah mendukung dan memotivasi sehingga tugas akhir ini dapat selesai dengan baik.
8. Sakinah, Arum Gladys Kusumaningrum, Obi Chandra Kapisa, Mesha Syafitra, Vidi Prasetyo Utomo, Dhany Indirwan, Mourend, Irsyad, dan Rengge sebagai teman seperjuangan dalam menyelesaikan penelitian kacang tunggak ini.
9. Teman-teman Pendidikan Dokter 2009 FKUB yang telah mendukung dan memotivasi sehingga tugas akhir ini dapat selesai dengan baik.
10. Teman-teman dari berbagai komunitas di Tumblr atas motivasi dan saran-saran yang berguna sejak awal hingga akhir penulisan tugas akhir.
11. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna, karena itu penulis menerima kritik dan saran yang membangun. Semoga tugas akhir ini dapat berguna bagi kemajuan dunia kedokteran Indonesia.

Malang, Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Wardanita, Diana Bonton. 2013. **Efek Ekstrak Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Aorta *Rattus norvegicus* Berdasarkan Lama Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin.** Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, MS, (2) dr. Rachmad Sarwo Bakti, M.Ed.

Asap kendaraan bermotor telah diketahui menyebabkan inflamasi kronis sistem kardiovaskuler, yang akan mengarah pada aterosklerosis. Isoflavon dari tanaman kacang-kacangan memiliki efek seperti estrogen, yang dapat mengurangi risiko inflamasi sistem kardiovaskuler. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak kacang tunggak mempengaruhi jumlah sel endotel dan ketebalan aorta *Rattus norvegicus* (tikus) yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post-test only control group design*. Tikus dibagi menjadi 9 kelompok yang masing-masing terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok pertama tidak diberi perlakuan, kelompok kedua dipapar oksigen selama 4 menit, kelompok ketiga diberi ekstrak kacang tunggak lewat sonde. Tiga kelompok dipapar asap kendaraan bermotor masing-masing selama 2, 3, dan 4 menit tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak 30 menit sebelum pengasapan. Tiga kelompok lain dipapar asap kendaraan bermotor masing-masing selama 2, 3, dan 4 dengan pemberian ekstrak kacang tunggak 30 menit sebelum pemaparan. Setelah pemaparan selama 30 hari, tikus dibedah dan diambil aortanya, kemudian dibuat preparat dengan larutan hematoxylin-eosin, lalu diamati dengan *software* OlyVIA pada perbesaran 400 kali. Setelah diteliti, ditemukan bahwa aorta tikus yang diberi ekstrak kacang tunggak memiliki lebih banyak sel endotel dan lebih tipis daripada aorta tikus yang tidak diberi kacang tunggak. Hal ini terjadi karena genistein, quercetin, and daidzein, isoflavon yang terkandung dalam ekstrak kacang tunggak bertindak sebagai antioksidan dan antiinflamasi sehingga mencegah apoptosis sel endotel. Isoflavon-isoflavon juga mencegah penebalan dinding aorta. Zat ini dapat digunakan untuk mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler.

Kata kunci: polusi, mesin, inflamasi, kacang tunggak, sel endotel, aorta

ABSTRACT

Wardanita, Diana Bonton. 2013. **The Effect of Cowpea (*Vigna unguiculata*) Extract to the Number of Endothelial Cells and the Thickness of Aortic Wall of *Rattus norvegicus* Based on the Duration of Exposure to Gasoline-Fueled Machine Smoke**. Final Assignment, Medical School of Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Setyawati Soeharto, MS, (2) dr. Rachmad Sarwo Bekti, M.Ed

The smoke from vehicles has been known to cause chronic inflammation of cardiovascular system, which leads to atherosclerosis. Isoflavones from legumes have great effect as an estrogen-like substance, which greatly decreases the risk of cardiovascular system inflammation. This research was conducted to determine whether cowpea extract affects the number of endothelial cells and the thickness of aortic wall of *Rattus norvegicus* (rats) exposed to the smoke of a gasoline-fueled machine. This was an experimental study with post-test only control group design. Rats were divided into 9 groups consisting of 4 rats each. One group was given no treatment, one group was exposed to oxygen for four minutes, and one group was given cowpea extract orally. Three groups were exposed to vehicle smoke for 2, 3, and 4 minutes respectively without being given 2 mL of cowpea extract 30 minutes before exposure. Three groups were exposed to vehicle smoke for 2, 3, and 4 minutes respectively after being given 2 mL of cowpea extract 30 minutes before exposure. After 30 days of exposure, the rats were put to sleep and their aortas were sliced and colored with hematoxylin-eosin, and the number of endothelial cells and the thickness of aorta walls were observed using the software OlyVIA at magnification of 400 times. It was shown that the aortas of rats given cowpea extract had more endothelial cells and less thickness than those not given. This phenomenon occurred due to genistein, quercetin, and daidzein, isoflavones contained by cowpea extract, which have antioxidant and anti-inflammatory properties to prevent endothelial cells from undergoing apoptosis. They also prevent the thickening of aortic wall. This compound might be useful against cardiovascular diseases.

Keywords: pollution, machine, inflammation, cowpea, endothelial cells, aorta

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5

2.1	Kendaraan Bermotor.....	5
2.1.1	Tingkat Penggunaan Kendaraan Bermotor di Indonesia.....	5
2.1.2	Polusi Udara Akibat Kendaraan Bermotor.....	5
2.1.3	Dampak Polusi Udara Akibat Kendaraan Bermotor.....	7
2.2	Radikal Bebas.....	9
2.2.1	Stres Oksidatif dan Radikal Bebas.....	9
2.2.2	Radikal Bebas dalam Gas Buang Kendaraan Bermotor.....	10
2.3	Aterosklerosis.....	12
2.3.1	Epidemiologi Aterosklerosis.....	12
2.3.2	Patofisiologi Aterosklerosis dan Pembentukan Sel Inflamasi...	13
2.3.3	Manajemen Aterosklerosis.....	15
2.4	Aorta.....	16
2.4.1	Sifat-Sifat Aorta.....	16
2.4.2	Gangguan Aorta Akibat Aterosklerosis.....	18
2.5	Kacang Tunggak.....	19
2.5.1	Taksonomi Kacang Tunggak.....	19
2.5.2	Spesifikasi Kacang Tunggak.....	19
2.5.3	Manfaat Kacang Tunggak.....	22
2.5.4	Manfaat Antioksidan dan Antiinflamasi.....	23
BAB 3	KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	25

3.1	Kerangka Konsep.....	25
3.2	Hipotesis Penelitian.....	26
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	27
4.1	Rancangan Penelitian.....	27
4.2	Populasi dan Sampel.....	27
4.2.1	Populasi Penelitian.....	27
4.2.2	Pemilihan Sampel.....	27
4.2.2.1	Kriteria Inklusi.....	27
4.2.2.2	Kriteria Eksklusi.....	27
4.2.3	Jumlah Sampel.....	29
4.3	Variabel Penelitian.....	29
4.3.1	Variabel Bebas.....	30
4.3.2	Variabel Terikat.....	30
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	30
4.5	Bahan dan Alat Penelitian.....	30
4.5.1	Bahan Penelitian.....	30
4.5.2	Alat Penelitian.....	31
4.6	Definisi Operasional.....	33
4.7	Prosedur Penelitian.....	34
4.7.1	Ekstraksi Kacang Tunggak.....	34
4.7.2	Perlakuan pada Hewan Coba.....	35

4.7.3	Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak Tikus.....	36
4.7.4	Pemaparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin.....	37
4.7.5	Pengambilan dan Pembuatan Sampel.....	38
4.7.5.1	Pengambilan Aorta Tikus.....	38
4.7.5.2	Pembuatan Sediaan Histopatologi Aorta Tikus.....	39
4.7.6	Penghitungan Jumlah Sel Endotel.....	41
4.7.7	Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta.....	41
4.8	Pengolahan dan Analisis Data.....	42
4.9	Alur Penelitian.....	43
BAB 5	HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	44
5.1	Hasil Penelitian.....	44
5.2	Analisis Data.....	52
5.2.1	Jumlah Sel Endotel.....	53
5.2.2	Ketebalan Dinding Aorta.....	56
5.3	Uji Korelasi Spearman.....	59
BAB 6	PEMBAHASAN.....	61
6.1	Pengaruh Paparan Asap Kendaraan Bermotor terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta <i>Rattus norvegicus</i>	61
6.2	Pengaruh Lama Paparan Asap Kendaraan Bermotor terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta <i>Rattus norvegicus</i>	64

6.3	Pengaruh Pemaparan Oksigen dan Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta <i>Rattus norvegicus</i> yang Tidak Dipapar Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin.....	66
6.4	Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta <i>Rattus norvegicus</i> yang Dipapar Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin.....	67
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	70
7.1	Kesimpulan.....	70
7.2	Saran.....	70
	DAFTAR PUSTAKA.....	72
	PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	81
	LAMPIRAN.....	82

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Skema Patofisiologi Aterosklerosis.....	15
Gambar 2.2	Tanaman Kacang Tunggak.....	20
Gambar 2.3	Biji Kacang Tunggak.....	21
Gambar 3.1	Kerangka Konsep.....	25
Gambar 4.1	Mesin untuk Pemberian Asap Kendaraan Bermotor.....	32
Gambar 4.2	Skema Alur Penelitian.....	43
Gambar 5.1	Aorta Tikus Normal.....	45
Gambar 5.2	Aorta Tikus Normal yang Diberi Oksigen 4 Menit.....	45
Gambar 5.3	Aorta Tikus Normal yang Diberi Ekstrak Kacang Tunggak.....	45
Gambar 5.4	Aorta Tikus yang Dipapar Asap 2 Menit dan Oksigen 4 Menit...	46
Gambar 5.5	Aorta Tikus yang Dipapar Asap 2 Menit, Oksigen 4 Menit, dan Diberi Ekstrak Kacang Tunggak.....	46
Gambar 5.6	Aorta Tikus yang Dipapar Asap 3 Menit dan Oksigen 4 Menit....	46
Gambar 5.7	Aorta Tikus yang Dipapar Asap 3 Menit, Oksigen, 4 Menit, dan Diberi Ekstrak Kacang Tunggak.....	47
Gambar 5.8	Aorta Tikus yang Dipapar Asap 4 Menit dan Oksigen 4 Menit.....	47
Gambar 5.9	Aorta Tikus yang Dipapar Asap 4 Menit, Oksigen 4 Menit, dan Diberi Ekstrak Kacang Tunggak.....	47

Gambar 5.10 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Tanpa Paparan Asap..... 48

Gambar 5.11 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap..... 49

Gambar 5.12 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan Ekstrak Kacang Tunggak..... 49

Gambar 5.13 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kelompok Paparan Asap tanpa dan dengan Ekstrak Kacang Tunggak..... 50

Gambar 5.14 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Tanpa Paparan Asap..... 51

Gambar 5.15 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap..... 51

Gambar 5.16 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan Ekstrak Kacang Tunggak..... 52

Gambar 5.17 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kelompok Paparan Asap tanpa dan dengan Ekstrak Kacang Tunggak..... 52

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Standar Baku Mutu Udara Ambient.....	6
Tabel 4.1	Kandungan PAR-S.....	30
Tabel 5.1	Rerata Jumlah Sel Endotel Aorta <i>Rattus norvegicus</i>	48
Tabel 5.2	Rerata Ketebalan Dinding Aorta <i>Rattus norvegicus</i>	50
Tabel 5.3	Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel Aorta.....	54
Tabel 5.4	Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Aorta.....	57
Tabel 5.5	Hasil Uji Korelasi Spearman.....	59



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Dokumentasi Penelitian.....	80
Lampiran 2	Data Berat Badan Tikus.....	83
Lampiran 3	Perhitungan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak.....	84
Lampiran 4	Hasil Perhitungan Jumlah Sel Endotel.....	86
Lampiran 5	Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta.....	87
Lampiran 6	Analisis Data Jumlah Sel Endotel.....	88
Lampiran 7	Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel.....	110
Lampiran 8	Analisis Data Ketebalan Dinding Aorta.....	111
Lampiran 9	Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Aorta.....	135



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Polusi udara adalah salah satu masalah yang dihadapi berbagai kota besar di dunia. Sebagian besar polusi udara disebabkan oleh transportasi dan industri, dan hanya sebagian kecil diakibatkan oleh bencana alam, seperti gunung meletus atau kebakaran hutan. Tingkat pencemaran kota-kota besar di Indonesia semakin meningkat, bahkan hingga melebihi ambang batas (Satriyo, 2008; Gusnita, 2010).

Sejak tahun 1990-an telah terjadi peningkatan polusi udara secara besar-besaran yang meningkatkan morbiditas dan mortalitas karena penyakit kardiovaskuler (Glantz, 1993; Poloniecki *et al.*, 1997; Dockery *et al.*, 1993; Pope *et al.*, 1995; Samed *et al.*, 2000 dalam Glantz, 2002). Penyakit kardiovaskuler yang disebabkan polusi udara antara lain adalah *ischemic heart disease*, stroke, penyakit jantung koroner, aterosklerosis, dan infark miokard akut (Le Tertre *et al.*, 2002; Miller *et al.*, 2007). Nanopartikel yang terbentuk dari sisa pembakaran bahan bakar dapat masuk ke jantung lewat saluran pernapasan, menyebabkan toksisitas yang memicu proses inflamasi (Mills *et al.*, 2009).

Mediator-mediator yang dilepaskan saat proses inflamasi akan menempel pada endotel, sehingga menyebabkan perubahan ekspresi gen

pada endotel, yang berakibat pada apoptosis sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding pembuluh darah (Cook-Mills dan Deem, 2005; Künzli *et al.*, 2005). Apoptosis sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding pembuluh darah akan menyebabkan disfungsi endotel, yang pada akhirnya dapat memicu aterosklerosis (Brook *et al.*, 2010).

Aterosklerosis menyebabkan penumpukan plak di dinding pembuluh darah, yang memicu 75% penyakit kardiovaskular penyebab kematian dan dapat ditemukan pada 80—90% masyarakat Amerika Serikat di atas usia tiga puluh tahun. Penyakit kardiovaskular akibat aterosklerosis merupakan penyebab tersering kematian masyarakat di atas usia empat puluh tahun (Ehrlich, 2010).

Aterosklerosis pada aorta adalah penyebab tersering stenosis aorta di Amerika Serikat. Stenosis dan kalsifikasi aorta akan berdampak terhadap terhambatnya aliran darah dari jantung ke organ-organ tubuh yang lain, dan biasanya disertai sklerosis katup aorta dan mitral. Penyakit ini sering tidak terdeteksi karena tidak menimbulkan gejala dan ditemukan secara tidak sengaja saat foto toraks atau autopsi (Kumar *et al.*, 2004).

Aterosklerosis adalah penyakit yang tidak bisa disembuhkan, sehingga terapinya hanya mengurangi gejala dan mencegah keparahan penyakit. Terapi medikasi pada aterosklerosis adalah kombinasi statin, niacin, dan suplemen penghambat penyerapan kolesterol (Niessen *et al.*, 2006). Selain itu, terdapat pula obat antikoagulan yang berfungsi menurunkan viskositas darah, seperti warfarin dan salisilat. Namun, meskipun pada awalnya antikoagulan

menurunkan viskositas darah, antikoagulan memiliki efek memperparah kalsifikasi pembuluh darah, yang merupakan tahap lanjut dari aterosklerosis, karena adanya sinergi antara antikoagulan dan vitamin D (Price *et al.*, 2000; Geleijnse *et al.*, 2004).

Dengan efek samping pengobatan aterosklerosis jangka panjang dan harga obat yang relatif tidak murah, kini masyarakat dianjurkan untuk memanfaatkan isoflavon alami yang banyak terdapat di alam dengan harga terjangkau. Isoflavon telah terbukti memiliki efek protektif terhadap pembuluh darah dengan mengurangi kadar lemak serum dan mengurangi plak aterosklerosis pada pembuluh darah (Yousef *et al.*, 2004; Amran *et al.*, 2010).

Salah satu sumber isoflavon yang banyak terdapat di alam adalah kacang tunggak. Kacang tunggak dapat tumbuh di tanah yang tandus dan kurang subur, sehingga mudah dibudidayakan di negara-negara berkembang dengan sistem pengairan buruk (Olowe, 2009; Makoi, 2009). Kacang tunggak telah dibudidayakan sejak zaman sebelum Masehi dan menjadi sumber makanan penting bagi masyarakat Afrika dan ternak mereka (Kwaye, 1998; Fatokun, 2002 dalam Makoi, 2009). Kacang tunggak juga telah terbukti sebagai sumber pangan yang kaya protein, karbohidrat, dan serat (Kay, 1979 dalam Addo-Quaye *et al.*, 2011; Onwuliri dan Obu, 2002 dalam Makoi, 2009). Efek spesifik kacang tunggak terhadap aterosklerosis yang disebabkan oleh polusi udara perlu diketahui. Pada penelitian ini akan dilakukan percobaan untuk membuktikan efek tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dapat mempengaruhi jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin dengan lama paparan yang bervariasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Membuktikan efek pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin dengan lama paparan yang bervariasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1.4.1.1 Memberikan informasi tambahan tentang efek ekstrak kacang tunggak terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan aorta.

1.4.1.2 Menjadi dasar dari penelitian selanjutnya tentang efek ekstrak kacang tunggak terhadap penyakit kardiovaskuler pada umumnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

1.4.2.1 Menjadi alternatif prevensi aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler lainnya.

1.4.2.2 Meningkatkan nilai guna kacang tunggak.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kendaraan Bermotor

2.1.1 Tingkat Penggunaan Kendaraan Bermotor di Indonesia

Perkembangan volume lalu lintas di kota-kota di Indonesia telah mencapai angka 15% per tahun. Sektor transportasi diperkirakan tumbuh 6-8% per tahun, namun pada tahun 1999 pertumbuhan jumlah kendaraan di kota-kota besar meleset dari perkiraan, yaitu mencapai 15% per tahun (Kusminingrum dan Gunawan, 2008).

Dengan menggunakan proyeksi 6-8%, pada tahun 1998 diperkirakan bahwa konsumsi bahan bakar di Indonesia akan mencapai 2 kali konsumsi tahun 1990, sebesar 4,6 kali pada tahun 2008, dan 9,0 kali tahun 2018 (World Bank, 1993 dalam KLH, 1997 dalam Kusminingrum dan Gunawan, 2008). Diperkirakan pada tahun 2020 setengah populasi penduduk Indonesia akan mengalami pencemaran udara perkotaan, yang sebagian besar berasal dari emisi kendaraan bermotor (Kusminingrum dan Gunawan, 2008).

2.1.2 Polusi Udara Akibat Kendaraan Bermotor

Polusi udara adalah masuknya zat kimia, partikel, atau material biologis ke dalam atmosfer, yang menyebabkan bahaya atau ketidaknyamanan pada manusia atau organisme lain, atau menyebabkan kerusakan lingkungan alami maupun buatan (Rani *et al.*, 2011).

Terdapat enam zat yang menjadi polutan utama di udara, yaitu ozon di antroposfer, karbon monoksida, nitrogen dioksida, partikulat, sulfur

dioksida, dan timbal. Dari keenam zat ini, hanya sulfur dioksida yang tidak dihasilkan oleh pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor (*United States Environmental Protection Agency* (US EPA) dalam *Environmental Fact Sheet*, 2008).

Negara-negara berkembang di Asia mengalami permasalahan terkait polusi udara yang besar akibat pertumbuhan ekonomi yang cepat, yang mengarah pada urbanisasi dan tingginya tingkat penggunaan kendaraan bermotor pribadi (Hirota, 2010; Devia *et al.*, 2011). Kendaraan bermotor di kota-kota besar di negara-negara berkembang menyumbang 70% dari total polusi udara (Devia *et al.*, 2011).

Standar kualitas udara di Indonesia sendiri mengacu pada Peraturan Pemerintah No. 41 Tahun 1999 yang dikeluarkan oleh Presiden Bacharudin Jusuf Habibie dengan rincian sebagai berikut:

Tabel 2.1 Standar Baku Mutu Udara Ambient

Parameter	Baku Mutu yang Diperkenankan
NO _x	0,05 ppm/24 jam
CO	20 ppm/8 jam
SO _x	0,10 ppm/24 jam
O ₃	0,10 ppm/24 jam
SPM ₁₀	100 ppm/24 jam
HC	0,24 ppm/3 jam

Indonesia adalah negara dengan tingkat polusi udara tertinggi ketiga di dunia. Diperkirakan sekitar 70% polusi udara tersebut berasal dari gas buang kendaraan bermotor (Halim dan Ghozali, 2011).

Transportasi darat menyumbang setengah total emisi SPM_{10} , dan sebagian besar kandungan timbal, CO, hidrokarbon, dan NO_x di udara perkotaan, di mana konsentrasi polutan-polutan tersebut paling banyak terdapat di daerah yang lalu lintasnya padat (Soedomo *et al.*, 1990 dalam Kusminingrum dan Gunawan, 2008). Sedangkan hasil studi Bank Dunia tahun 1994 menunjukkan bahwa kendaraan bermotor di Jakarta (kemungkinan hasil serupa di kota-kota besar lain di Indonesia) memberikan kontribusi timbal 100%, SPM_{10} 42%, hidrokarbon 89%, NO_x 64%, dan hampir seluruh CO (*Indonesia Environment and Development* dalam Kusminingrum dan Gunawan, 2008).

Polusi udara di Indonesia diperburuk oleh masih banyaknya kendaraan yang tidak memenuhi baku mutu yang diperkenankan sesuai Peraturan Pemerintah No. 41 Tahun 1999. Tercatat pada tahun 2001, diadakan uji emisi gas buang 1468 kendaraan bermotor di kota Bandung, dan tercatat 56% kendaraan berbahan bakar bensin melampaui baku mutu yang diperkenankan, sedangkan 90% kendaraan berbahan bakar solar tidak memenuhi baku mutu yang ditetapkan (Kusminingrum dan Gunawan, 2008).

2.1.3 Dampak Polusi Udara Akibat Kendaraan Bermotor

Polusi udara berdampak langsung terhadap lingkungan, khususnya kualitas udara (Sham, 1994 dalam Omran, 2010). Kini terhadap banyak kekhawatiran terhadap efek buruk polusi udara terhadap kesehatan

manusia. Studi epidemiologi telah menunjukkan hubungan yang jelas antara polusi udara dan penyakit kardiovaskuler, penurunan fungsi paru, dan tingginya angka masuk rumah sakit (Kelly, 2003; Nascimento, 2011).

Tingginya partikulat yang terhirup berkaitan langsung dengan tingginya angka masuk rumah sakit akibat iskemia jantung dan infark miokard akut beberapa hari setelah paparan (Nascimento, 2011). Selain itu, paparan karbon monoksida (CO) berisiko meningkatkan serangan angina pektoris dan infark miokard akut (Lin *et al.*, 2003 dalam Nascimento, 2011).

Tingginya jumlah partikulat halus (diameter $<10 \mu\text{m}$) di udara berhubungan langsung dengan tingginya angka masuk rumah sakit (Poloniecki *et al.*, 1997 dalam Glantz, 2002). Partikulat halus ini juga menyebabkan tingginya angka kematian akibat penyakit kardiovaskuler (Dockery *et al.*, 2003; Pope *et al.*, 1995; Samet *et al.*, 2000 dalam Glantz, 2002). Pada individu dengan aterosklerosis, paparan partikulat menginduksi reaksi inflamasi pembuluh darah, sehingga menimbulkan ruptur plak, yang meningkatkan keparahan penyakit (Suwa *et al.*, 2002).

Anak-anak juga dapat terpengaruh oleh polusi udara karena mereka lebih banyak menghabiskan waktu di luar ruangan daripada orang dewasa. Efek polusi udara pada sistem kardiovaskuler anak banyak diamati, namun mekanisme yang pasti masih memerlukan penelitian lebih lanjut (Irena *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2004 dalam Poursafa *et al.*, 2011).

Endotel pembuluh darah sangat sensitif terhadap polutan (Andersson *et al.*, 2009 dalam Poursafa *et al.*, 2011). Aterosklerosis diawali oleh proses

aterogenesis, yaitu pembentukan ateroma (lapisan lemak pada pembuluh darah), yang telah terjadi sejak dalam kandungan akibat reaksi inflamasi dan reaksi imun akibat polusi udara (Kelishadi dan Poursafa, 2009 dalam Poursafa *et al.*, 2011). Chuang *et al.* (2007), Kelishadi *et al.* (2009), dan Iannuzzi *et al.* (2010) menyatakan bahwa efek polusi udara terhadap inflamasi, stres oksidatif, dan risiko penyakit kardiovaskuler telah nampak sejak usia kanak-kanak dan remaja.

Hasil kajian Pustlitbang Jalan dan Jembatan menunjukkan bahwa rata-rata penduduk Bandung dan Surabaya mengeluarkan biaya kesehatan sebesar Rp30.000,00/orang/tahun akibat pencemaran udara (Gunawan *et al.*, 1997 dalam Kusminingrum dan Gunawan, 2008).

2.2 Radikal Bebas

2.2.1 Stres Oksidatif dan Radikal Bebas

Istilah stres oksidatif pertama kali digunakan oleh Sies tahun 1991 (Kelly, 2003). Stres oksidatif didefinisikan sebagai keadaan di mana radikal bebas (oksidan) lebih banyak daripada antioksidan, sehingga mengarah kepada kerusakan jaringan tubuh (Sies, 1985, 1986, 1991 dalam Sies, 1996).

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang reaktif secara kimiawi karena mengandung elektron valensi yang tidak berpasangan (Kelly, 2003). Radikal bebas terbentuk sebagai hasil normal suatu metabolisme aerob, namun pada kondisi patofisiologis jumlahnya dapat meningkat drastis. Apabila jumlah antioksidan tidak dapat mengimbangi

jumlah radikal bebas, maka radikal bebas akan menyerang tubuh dan mengoksidasi komponen-komponen sel seperti lemak (terutama lemak *polyunsaturated*), protein, dan asam nukleat. Proses ini mengarah pada jejas jaringan dan, pada beberapa kasus, *influx* sel-sel radang pada lokasi jejas (Sies, 1996; Kelly, 2003).

Berbagai polutan di udara adalah campuran dari radikal bebas (contoh: nitrogen dioksida) dan zat-zat yang mampu memicu efek oksidatif (contoh: ozon, partikulat), dan zat-zat ini banyak dihasilkan dari pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor. Apabila sering terpapar udara yang tercemar polutan, maka akibat langsung yang terjadi adalah stres oksidatif dan *influx* sel-sel radang di paru. Sel-sel radang yang teraktivasi dapat pula menghasilkan radikal bebas, yang memicu gelombang kedua stres oksidatif. Oksidan gelombang kedua ini kemudian akan menyerang komponen jaringan dan menyebabkan jejas sel (Kelly, 2003).

Suatu zat radikal bebas menjadi penyebab suatu penyakit apabila memenuhi syarat-syarat sebagai berikut (Halliwell *et al.*, 1992 dalam Mimić-Oka *et al.*, 1999):

1. produksi radikal bebas tersebut dapat diamati dalam proses patogenesis penyakit
2. adanya dokumentasi tentang efek protektif dari jejas oleh antioksidan yang menghilangkan efek radikal bebas
3. proses patogenesis dapat direproduksi dengan aplikasi radikal bebas pada organ yang diinginkan (contoh: endotel arteri)

Pada patogenesis penyakit kardiovaskuler, paparan radikal bebas yang singkat namun berulang-ulang pada jaringan myokardium dapat menyebabkan iskemia yang diikuti dengan reperfusi jaringan (Mimić-Oka *et al.*, 1999). Terdapat pendapat bahwa sebenarnya proses reperfusi dari jaringan myocardium yang iskemik bermanfaat untuk mensuplai jaringan iskemik dengan oksigen dan substrat, namun proses ini menyebabkan kerusakan jaringan lebih lanjut, yang disebut jejas reperfusi. Proses ini juga tergantung pada durasi iskemia jaringan (Bolli, 1992; Ferrari *et al.*, 1993; Bolli, 1991 dalam Mimić-Oka *et al.*, 1999).

2.2.2 Radikal Bebas dalam Gas Buang Kendaraan Bermotor

Udara yang kita hirup mengandung berbagai macam polutan dengan jumlah dan ukuran partikel yang bervariasi dalam kadar polutan yang bervariasi pula pada lingkungan yang berbeda (Kelly, 2003).

Secara umum polusi udara dapat dikaitkan dengan disfungsi endotel, vasokonstriksi, peningkatan tekanan darah, perubahan protrombin dan koagulan, inflamasi sistemik, respons stress oksidatif, imbalance otonom, aritmia, dan progresi aterosklerosis (Brook *et al.*, 2010).

Pada tahun 2004, American Heart Association (AHA) menyatakan bahwa paparan terhadap partikulat meningkatkan morbiditas dan mortalitas akibat penyakit kardiovaskuler. Sedangkan tahun 2010 AHA menyatakan bahwa paparan terhadap PM_{2.5} (partikulat dengan diameter <2,5 µm) selama beberapa jam hingga beberapa minggu dapat menyebabkan mortalitas akibat penyakit kardiovaskuler. Sedangkan paparan dalam jangka waktu lama (beberapa tahun) dapat menyebabkan pengurangan usia harapan hidup (Brook *et al.*, 2010).

PM_{2.5} memang banyak dibicarakan sebagai radikal bebas yang berpengaruh terhadap penyakit kardiovaskuler, namun sebenarnya 98% polutan yang terdapat di udara yang kita hirup sehari-hari adalah campuran dari gas-gas seperti CO, NO₂, NO, O₃, dan SO₂. Pengaruh zat-zat tersebut terhadap aktivitas PM_{2.5} belum jelas, namun beberapa zat tersebut diduga memiliki efek antagonis maupun agonis (Brook *et al.*, 2010).

Paparan CO dalam waktu lama akan memperparah jejas reperfusi iskemik, sehingga menyebabkan keparahan aritmia ventrikel, gagalnya pemulihan fungsi kardiovaskuler, dan meningkatkan ukuran infark. Hal ini disebabkan karena CO akan menurunkan status antioksidan enzim jantung sehingga menyebabkan kegagalan transport Ca²⁺ intraseluler (Meyer *et al.*, 2010).

2.3 Aterosklerosis

2.3.1 Epidemiologi Aterosklerosis

Pada mulanya, aterosklerosis lebih banyak ditemukan di negara maju dan amat jarang terjadi di Amerika Tengah dan Selatan, Afrika, dan Asia. Namun, orang-orang Asia yang bermigrasi ke Amerika Serikat mengadopsi gaya hidup warga setempat dan juga mendapat predisposisi penyakit jantung akibat aterosklerosis yang khas untuk populasi Amerika Serikat (Schoen dan Cotran, 2003).

Aterosklerosis menjadi penyebab 75% kematian akibat gangguan kardiovaskuler dan ditemukan pada 80—90% penduduk Amerika Serikat

berusia di atas tiga puluh tahun. Aterosklerosis adalah penyebab utama penyakit kardiovaskuler, yang merupakan penyebab tersering kematian pada usia di atas 45 (Ehrlich, 2010).

2.3.2 Patofisiologi Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah suatu penyakit kronis progresif di mana arteri tersumbat dan pada akhirnya mengeras akibat akumulasi material lemak, contohnya kolesterol (Ehrlich, 2010). Ini adalah suatu sindrom yang mempengaruhi arteri dan reaksi inflamasi kronis di dinding arteri, yang disebabkan oleh akumulasi makrofag. Reaksi ini dikatalis oleh *low-density lipoprotein* (LDL) (protein plasma yang mengangkut kolesterol dan trigliserida) tanpa eliminasi lemak dan kolesterol yang adekuat dari makrofag oleh *high-density lipoprotein* (HDL). Proses ini disebabkan oleh terbentuknya plak yang berganda di arteri (Maton *et al.*, 1993).

Aterosklerosis memiliki dampak klinis yang amat luas, karena itu banyak dilakukan upaya untuk mengungkap penyebabnya. Terdapat dua hipotesis dominan tentang terjadinya aterosklerosis: proliferasi sel di intima dan pertumbuhan trombus yang berulang. Terdapat pula hipotesis kontemporer, yaitu aterosklerosis sebagai respons peradangan kronis dinding arteri akibat jejas endotel (Schoen dan Cotran, 2003).

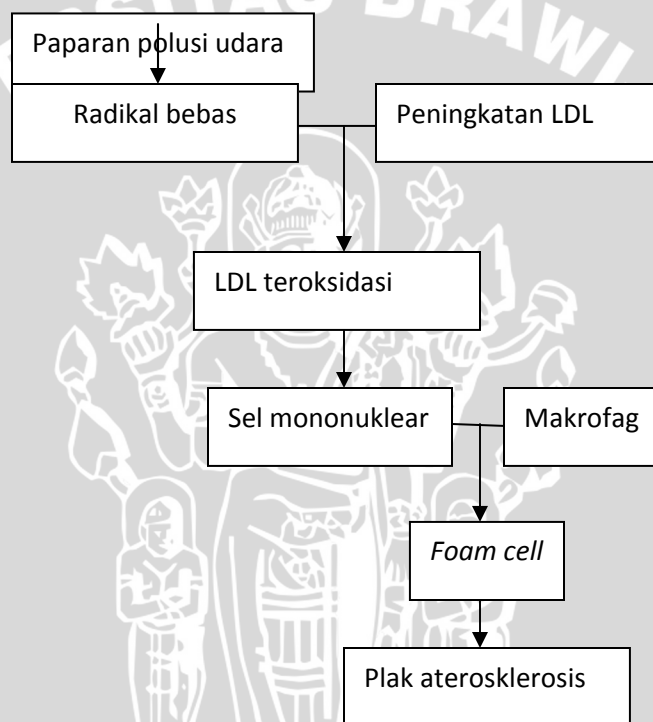
Proses aterosklerosis diawali oleh kelainan lipoprotein yang umumnya ditemukan pada penderita serangan jantung, yaitu peningkatan kadar LDL, penurunan kadar HDL, dan peningkatan kadar Lp(a) abnormal. Kelainan lipoprotein ini mengarah pada keadaan hiperlipidemia, yaitu tingginya kadar

lipid dalam darah. Hiperlipidemia kronis, terutama hiperkolesterolemia, secara langsung mengganggu fungsi endotel sel dengan membentuk radikal bebas oksigen yang mendeaktivasi nitrat oksida, zat utama pelepas endotel. Radikal bebas ini mengubah sifat kimiawi LDL pada endotel sehingga membentuk LDL teroksidasi. LDL teroksidasi ini bersifat toksik bagi pembuluh darah, dan pada proses kronis akan menyebabkan disfungsi endotel. Proses ini memicu infiltrasi sel mononuklear, yang mencakup makrofag, limfosit, dan sel plasma, ke dalam tunika media. Makrofag akan menelan LDL teroksidasi, namun tidak bisa memprosesnya, sehingga berubah menjadi *foam cell*. *Foam cell* ini meningkatkan akumulasi monosit pada lesi dan merangsang pengeluaran faktor pertumbuhan dan sitokin. Proses berulang ini akan menyebabkan pembentukan plak disertai proliferasi otot polos dan pembentukan inti lemak (Schoen dan Cotran, 2003).

Jejas endotel kronis yang menyebabkan disfungsi endotel juga dipicu oleh pengelupasan secara mekanis dan gaya hemodinamik akibat tekanan darah tinggi, pengendapan kompleks imun, iradiasi, zat kimia, dan pembentukan ateroma tipikal. Lesi dini dimulai di tempat yang endotelnya secara morfologis masih utuh. Penyebab spesifik jejas endotel pada awal aterosklerosis belum diketahui, namun terdapat teori bahwa penyebabnya adalah kandungan asap dalam darah, homosistein, kekurangan vitamin C, atau virus dan infeksi lainnya (Schoen dan Cotran, 2003). Disfungsi endotel akibat jejas kronis disebabkan oleh berubahnya ekspresi gen pada

pembuluh darah akibat proses inflamasi kronis, yang memicu apoptosis sel endotel dan penebalan dinding pembuluh darah (Rosas Pérez et al., 2007; Bayram et al., 2006; Dagher et al., 2006; Soberanes et al., 2006 dalam Ebele, 2012; Künzli et al., 2005).

Skema patofisiologi aterosklerosis dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2.1 Skema Patofisiologi Aterosklerosis

Dampak dari aterosklerosis tergantung dari letak pembuluh darah yang terkena. Apabila yang terkena aterosklerosis adalah pembuluh darah di jantung, dapat terjadi penyakit jantung, gagal jantung, dan ritme jantung abnormal. Di pembuluh darah perifer, seperti di tungkai atau usus halus, aterosklerosis dapat menyebabkan *peripheral arterial disease* (PAD). Di otak, aterosklerosis menyebabkan stroke. Pada ginjal, aterosklerosis

menyebabkan gagal ginjal (Ehrlich, 2010). Pada aorta, aterosklerosis dapat menyebabkan stenosis dan kalsifikasi aorta yang menghambat aliran darah dari jantung ke organ-organ tubuh yang lain, dan biasanya disertai sklerosis katup aorta dan mitral (Schoen dan Cotran, 2004).

2.3.3 Manajemen Aterosklerosis

Aterosklerosis adalah penyakit yang tidak bisa disembuhkan, sehingga terapinya hanya mengurangi gejala dan mencegah keparahan penyakit. Terapi obat pada aterosklerosis adalah kombinasi statin, niacin, dan suplemen penghambat penyerapan kolesterol (Niessen *et al.*, 2006). Selain itu, terdapat pula antikoagulan yang berfungsi menurunkan viskositas darah, seperti warfarin dan salisilat. Meskipun pada awalnya antikoagulan menurunkan viskositas darah, antikoagulan memiliki efek samping meningkatkan kalsifikasi pembuluh darah, yang merupakan tahap lanjut dari aterosklerosis, karena adanya sinergi antara antikoagulan dan vitamin D (Price *et al.*, 2000; Geleijnse *et al.*, 2004).

2.4 Aorta

2.4.1 Sifat-Sifat Aorta

Aorta adalah arteri yang terbesar dalam tubuh, berawal dari ventrikel kiri jantung dan memanjang ke bawah ke arah abdomen, di mana kemudian aorta bercabang menjadi dua (a. iliaca communis) (Stedman's Medical Dictionary, 2005). Aorta bertugas mendistribusikan darah yang telah teroksigenasi ke seluruh organ melalui sirkulasi sistemik (Maton *et al.*,

1995). *Mean arterial pressure* (MAP) memiliki nilai tertinggi pada aorta, yang menyebabkan darah dapat mengalir dari aorta ke cabang-cabangnya (Nichols dan O'Rourke, 1998).

Pada pengamatan histologi, aorta dicirikan oleh banyaknya elastin di bagian tunika media. Lamina elastika interna ada namun tidak nampak jelas karena tampak mirip dengan lamina-lamina elastis di tunika media. Tunika media terdiri dari serat elastin dan lamina elastis yang berlubang-lubang dan tersusun melingkar. Lamina elastis membantu agar influks darah lebih merata, karena dapat meregang saat ventrikel berkontraksi. Lamina elastis juga mempertahankan tekanan arteriol dengan tekanan elastisnya, sehingga kecepatan aliran darah tidak meningkat saat ventrikel relaksasi. Di antara lamina-lamina elastis terdapat sel-sel otot polos, serat retikulin, proteoglikan, dan glikoprotein. Tunika adventisia kurang berkembang (Junqueira dan Carneiro, 2003).

Aorta berjalan naik ke atas jantung, kemudian melengkung ke bawah pada arcus aorta, dan menurun di bagian anterior columna spinalis. Kemudian aorta bercabang menjadi a. iliaca communis dextra dan sinistra, yang memvaskularisasi ekstremitas bawah dan pelvis. Arteri-arteri besar yang memvaskularisasi daerah kepala, lengan, dan jantung berasal dari arcus aorta. Sedangkan arteri-arteri utama yang memvaskularisasi organ-organ visceral berasal dari percabangan aorta descendens. Jadi, semua organ besar dalam tubuh divaskularisasi oleh arteri-arteri yang muncul dari aorta (Aaronson dan Ward, 2007).

Aorta dan cabang-cabang utamanya (a. brachiocephalica, a. carotis communis, a. subclavia, dan a. iliaca communis) disebut arteri besar/arteri elastis. Arteri-arteri ini melebar selama fase sistolik jantung dan kembali ke ukuran semula saat fase diastolik untuk menekan gelombang nadi dan menyesuaikan aliran darah yang terputus-putus akibat kerja pompa jantung yang intermiten. Mekanisme ini disebut efek Windkessel (Aaronson dan Ward, 2007).

Sifat pulsatil dari aliran darah menciptakan gelombang pulsa yang tersebar menuruni pohon arterial, dan pada bifurcation aorta gelombang-gelombang pantulan tersebut memantul kembali ke dalam katup semilunaris dan origo aorta. Gelombang kembali ini menciptakan takik dikrotik pada kurva tekanan darah arteri selama siklus jantung, karena gelombang-gelombang pantulan yang mendesak katup semilunaris aorta. Seiring peningkatan usia, aorta mengalami kekakuan, sehingga gelombang pulsa tersebar lebih cepat dan gelombang pantulan kembali ke jantung lebih cepat daripada penutupan katup semilunaris, sehingga menyebabkan peningkatan tekanan darah (Aaronson dan Ward, 2007).

2.4.2 Gangguan Aorta Akibat Aterosklerosis

Pada pemeriksaan histologi aorta dan arteri koroner dengan menggunakan MRI dan hematoxylin-eosin, ditemukan bahwa pada aorta 67% tikus yang terkena aterosklerosis terdapat trombus intraluminal disertai penebalan dinding aorta. Ukuran plak aterosklerosis juga mempengaruhi tebal dinding dan luas lumen aorta. Makin besar plak, maka

makin tebal dinding dan makin sempit luas lumen aorta (Sharma dan Singh, 2004).

Aterosklerosis pada aorta dapat menyebabkan stenosis dan kalsifikasi aorta yang menghambat aliran darah dari jantung ke organ-organ tubuh yang lain, biasanya disertai sklerosis katup aorta dan mitral. Aterosklerosis disertai kalsifikasi pada aorta merupakan penyebab tersering stenosis aorta di Amerika Serikat (Schoen dan Cotran, 2003).

Stenosis aorta dapat berprogresi menjadi angina pektoris, sinkop, dan gagal jantung kongestif. Stenosis aorta sering tidak terdeteksi karena tidak menimbulkan gejala dan ditemukan secara tidak sengaja saat foto toraks atau autopsi. Stenosis aorta yang tidak diterapi secara adekuat dapat menyebabkan kematian dalam tiga atau empat tahun setelah onset, baik karena gagal jantung maupun aritmia letal (Schoen dan Cotran, 2003).

2.5 Kacang Tunggak

2.5.1 Taksonomi Kacang Tunggak

Taksonomi kacang tunggak dengan sistem Linnaeus adalah sebagai berikut (Verdcourt, 1970; Marechal *et al.*, 1978 dalam Magloire, 2005):

Kingdom	: Plantae
Filum	: Spermatophyta
Kelas	: Fabales
Ordo	: Fabacea
Famili	: Phaseoleae

Genus : *Vigna*

Species : *Vigna unguiculata*

2.5.2 Spesifikasi Kacang Tunggak

Kacang tunggak adalah tanaman herbal kacang-kacangan yang tumbuh tiap tahun saat cuaca hangat atau panas, sekitar bulan Mei hingga Oktober (Okpara *et al.*, 2001 dalam Okwu *et al.*, 2007). Banyak studi menyatakan bahwa kacang tunggak berasal dari Afrika, meskipun tempat di mana kacang tunggak pertama kali ditanam belum jelas (Kitch *et al.*, 1998 dalam Lodama, 2010). Kacang tunggak sudah dibudidayakan di Afrika sejak zaman Neolithikum (Ehlers dan Hall, 1997 dalam Lodama, 2010). Kacang tunggak mulai dibudidayakan di luar Afrika, yaitu di India sekitar 3500 tahun yang lalu, dan kini juga dibudidayakan di Amerika Selatan, Amerika Utara, dan Asia. Nigeria adalah penghasil kacang tunggak terbesar di dunia, diikuti oleh Niger, Brazil, dan India (Lodama, 2010).



Gambar 2.2 Tanaman Kacang Tunggak

Sumber: <http://guankou.net/>

Gambar 2.3 Biji Kacang Tunggak

Tinggi kacang tunggak tiap varietas bervariasi, dari sangat rendah hingga setinggi semak belukar. Tingginya bervariasi dari 15-80 cm (Steele, 1972 dalam Kwaye, 1998). Perkecambahannya secara epigeal dan biasanya tumbuh banyak saat medium pertumbuhannya baik (Purseglow, 1968 dalam Kwaye, 1998). Bentuk daunnya bervariasi namun cenderung oval (Faris, 1965 dalam Kwaye, 1998). Biji kacang tunggak memiliki kekhasan dengan adanya pigmen yang terkumpul dalam 'mata' yang terdapat pada hilum pada bijinya yang berwarna lebih pucat. Kacang tunggak cenderung membutuhkan sedikit nutrisi untuk pertumbuhannya, sehingga perkecambahan dan pertunasannya akan terganggu di tanah yang terlalu basah (Kwaye, 1998).

Nutrisi yang terkandung dalam kacang tunggak adalah sebagai berikut (Bressani, 1985):

Protein	24.8%
Lemak	1.9%
Serat	6.3%

Karbohidrat	63.6%
Tiamin	0.00074%
Riboflavin	0.00042%
Niacin	0.00281%

Protein pada biji kacang tunggak kaya dengan asam amino, lysin, dan triptofan, dibandingkan dengan biji sereal. Namun kacang tunggak kekurangan metionine dan sistein dibandingkan dengan protein hewani. Jadi, kacang tunggak dianggap sebagai suplemen nutrisi untuk biji sereal dan perpanjangan protein hewani (Bressani, 1985).

Terdapat tiga flavonoid pada daun kacang tunggak, yaitu quercetin, kaempferol, dan isorhamnetin. Selain itu, juga ditemukan adanya sepuluh macam glikosida yang berbeda (Lattanzio *et al.*, 1997 dalam Kritzinger, 2005). Dalam kacang tunggak juga didapatkan berbagai macam fenolik aglikon, antara lain asam vanillat, asam p-coumarat, asam caffeat, dan apigenin (Lattanzio *et al.*, 1997; Cai *et al.*, 2003 dalam Kritzinger, 2005). Sedangkan akar kacang tunggak mengandung flavonoid jenis coumestral, daidzein, dan genistein (Isobe *et al.*, 2001 dalam Kritzinger, 2005). Sedangkan Noorwala *et al.* (1995) dalam Kritzinger (2005) berhasil mengisolasi cycloartenol dan stigmasterol. Isoflavonoid ini memiliki efek toksik terhadap parasit kacang tunggak yang berupa fungi dan bakteri (Kritzinger, 2005).

2.5.3 Manfaat Kacang Tunggak

Kacang tunggak adalah sumber protein dan nutrisi dengan harga terjangkau, sehingga dapat menggantikan kebutuhan daging pada

masyarakat ekonomi bawah di Afrika (Egounlety *et al.*, 2003 dalam Atti *et al.*, 2011; Atachi *et al.*, 1984 dalam Lodama, 2010). Di beberapa daerah di Afrika, daun kacang tunggak digunakan untuk pakan ternak dan unggas (Allen, 1983 dalam Lodama, 2010; Atti *et al.*, 2011).

Banyak kudapan dan makanan khas Afrika terbuat dari kacang tunggak, sementara di Asia biji kacang tunggak digunakan sebagai bahan makanan (Singh *et al.*, 1997 dalam Lodama, 2010). Kacang tunggak dapat dikonsumsi sebagai sayur saat biji masih segar, hijau, dan lembut, sedangkan kacang tunggak yang kering biasanya disajikan sebagai makanan utama (Okwu *et al.*, 2007). Kacang tunggak juga dapat dikombinasikan dengan kedelai dan kacang-kacangan lain untuk diolah menjadi susu kedelai atau sereal sarapan (Enwere, 1998 dalam Okwu *et al.*, 2007). Di daerah-daerah terpencil di Afrika, kacang tunggak bernilai tinggi dalam sistem barter karena kegunaannya yang beragam, sehingga memberikan manfaat secara ekonomi pada petani kacang tunggak, terutama wanita (Mahamane, 2008).

2.5.4 Efek Antioksidan dan Antiinflamasi

Kacang tunggak mengandung berbagai isoflavon untuk mempertahankan diri terhadap jamur (Ng *et al.*, 2002 dalam Kritzinger, 2005). Bila dikonsumsi manusia, isoflavon ini berguna untuk menghambat pertumbuhan plak penyumbat arteri dan mengurangi risiko kanker yang terkait dengan ketidakseimbangan hormone (Davis *et al.*, 1999; Dixon dan Ferreira, 2002 dalam Kaur dan Murphy, 2010). Struktur kimia isoflavon

dianggap sesuai untuk menangkap radikal bebas di jaringan tubuh, dan bekerja lebih efektif daripada vitamin C dan E (Evans *et al.*, 1997 dalam Kaur dan Murphy, 2010). Isoflavon yang terkandung dalam kacang tunggak antara lain adalah genistein, quercetin, dan daidzein (Lattanzio *et al.*, 1997; Isobe *et al.*, 2001 dalam Kritzinger, 2005).

Genistein berfungsi merelaksasikan endotel aorta dan antimutagen (Matsumoto *et al.*, 2005; Beg *et al.*, 2007). Genistein juga dapat menurunkan tekanan darah dan respons kontraktile aorta karena memiliki efek vasodilator dan mencegah influks Ca^{2+} (Li *et al.*, 2004). Genistein juga memiliki efek kardioprotektif yang mirip dengan estrogen (Barnes, 1998 dalam Li *et al.*, 2004).

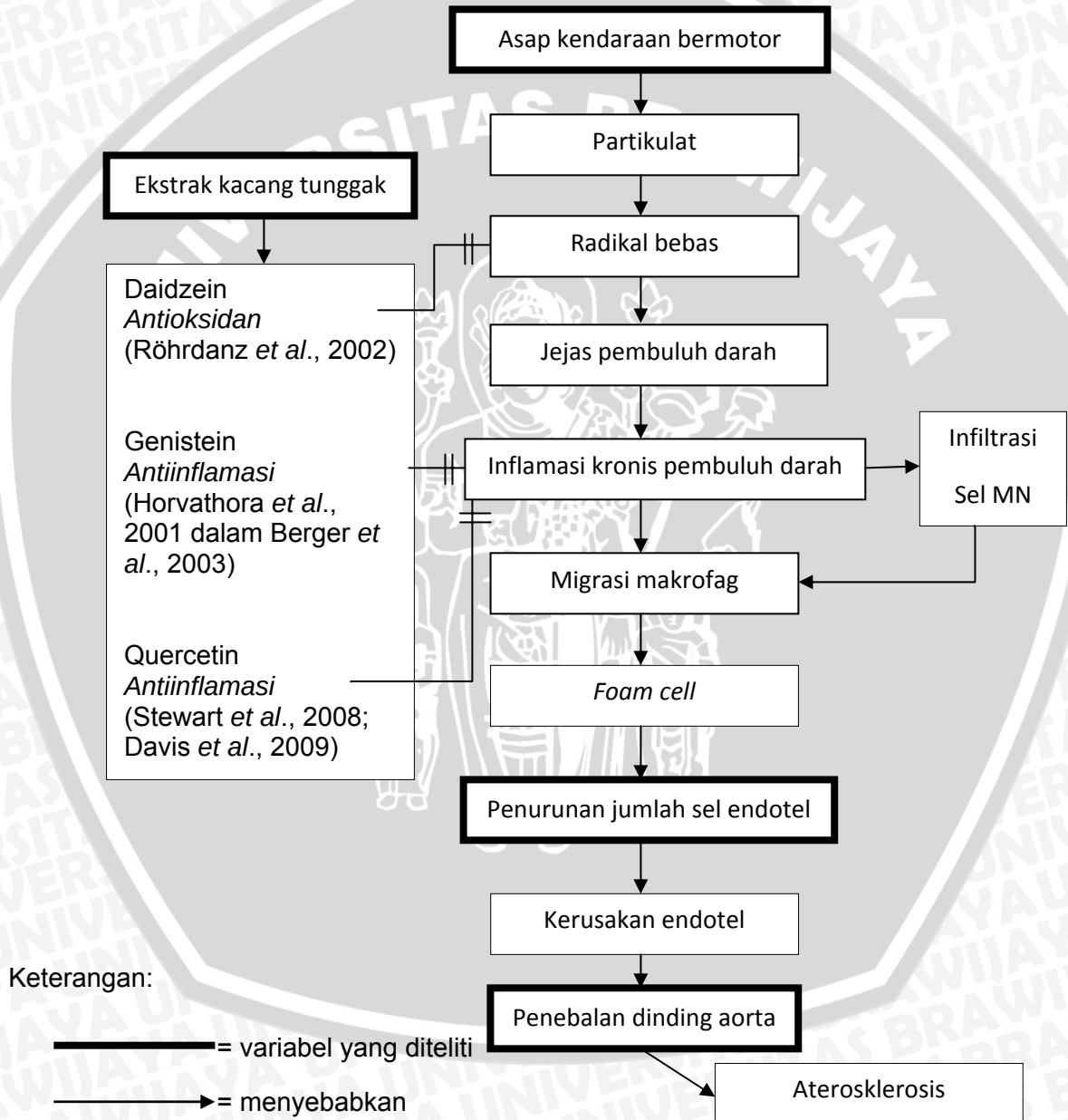
Quercetin berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antitrombotik, dan vasodilator (Erdman *et al.*, 2005 dalam Egert *et al.*, 2008). Quercetin mampu menangkap radikal bebas dan mengikat ion logam transisi sehingga menghambat proses peroksidasi lemak (Hollman *et al.*, 1997; Sakanashi *et al.*, 2008 dalam Baghel *et al.*, 2012). Namun, penelitian-penelitian untuk membuktikan efek quercetin pada manusia masih menunjukkan hasil yang bertolak belakang (Erdman *et al.*,

Daidzein telah terbukti memiliki sifat antioksidan melalui penelitian laboratorium, namun saat diamati pada biakan sel, daidzein menunjukkan sifat-sifat prooksidan (Rörhdanz *et al.*, 2002).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Asap kendaraan bermotor mengandung partikulat yang merupakan radikal bebas yang berbahaya untuk sistem kardiovaskuler, karena menyebabkan peradangan kronis pembuluh darah dan menginduksi pembentukan lesi aterosklerosis (Suwa *et al.*, 2002; Kelishadi dan Poursafa, 2009 dalam Poursafa *et al.*, 2011). Obat-obat yang tersedia di pasaran saat ini hanya bersifat mengurangi gejala dan mencegah keparahan (Niessen *et al.*, 2006).

Kacang tunggak mengandung antioksidan dan antiinflamasi alami yang dapat mencegah pembentukan jejas endotel. Antioksidan dan antiinflamasi ini dapat didapatkan dari ekstraksi kacang tunggak. Dengan sifat ini diharapkan ekstrak kacang tunggak dapat mencegah disfungsi sel endotel dan penebalan dinding aorta.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mencegah terjadinya inflamasi pada pembuluh darah, sehingga mencegah penurunan jumlah sel endotel dan mencegah penebalan dinding aorta.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* pada hewan coba *Rattus norvegicus* galur Wistar dengan *control group design*, yaitu membandingkan hasil yang didapat setelah perlakuan dengan menggunakan kontrol positif dan negatif. Desain penelitian ini termasuk dalam jenis *post-test control group design* karena pengujian dilakukan setelah intervensi.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* putih jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2.2 Pemilihan Sampel

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan
2. Berat badan tikus ± 200 gram
3. Usia antara 8-12 minggu
4. Kondisi sehat (aktif, tidak cacat)

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram

2. Tikus mati dalam masa penelitian

Sampel yang digunakan adalah tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar. Jenis kelamin tikus yang digunakan adalah tikus jantan, sebab tikus betina memiliki hormon estrogen yang mempengaruhi metabolisme lemak dan kolesterol (Galipeau *et al.*, 2004).

Tikus dipilih sebagai sampel karena tergolong jinak dan perawatannya relatif mudah.

Alasan penggunaan tikus sebagai hewan coba adalah sebagai berikut (Paget dan Barnes, 1964):

- a. Ukuran kecil
- b. Sensitivitas yang besar terhadap obat
- c. Lebih terstandarisasi dibanding dengan binatang percobaan lain
- d. Dapat dibiakkan untuk menjamin keaslian dan keseragaman galur
- e. Tidak dapat muntah karena tidak mempunyai pusat muntah

Tikus juga dianggap sebagai prototipe ideal untuk penelitian histopatologi maupun biokimia oleh karena proses metabolisme dan anatominya tidak jauh berbeda dengan manusia.

Penelitian ini membagi sampel dalam sembilan kelompok perlakuan, yaitu:

1. Kelompok normal
2. Kelompok normal + oksigen 4 menit
3. Kelompok normal + ekstrak kacang tunggak 2 mL
4. Kelompok asap kendaraan 2 menit + oksigen 4 menit
5. Kelompok asap kendaraan 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak 2 mL
6. Kelompok asap kendaraan 3 menit + oksigen 4 menit
7. Kelompok asap kendaraan 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak 2 mL

8. Kelompok asap kendaraan 4 menit + oksigen 4 menit
9. Kelompok asap kendaraan 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak 2 mL

4.2.3 Jumlah Sampel

Jumlah replikasi yang digunakan untuk setiap perlakuan memakai rumus : $(t-1)(r-1) \geq 15$ (Hanafiah, 2005) dengan keterangan sebagai berikut:

t = jumlah perlakuan

r = jumlah replikasi

15 = konstanta

Pada penelitian ini, jumlah perlakuan adalah 9 ($t = 9$) sehingga jumlah replikasi adalah:

$$(9-1)(r-1) \geq 15$$

$$8r \geq 23 \quad r \geq 23 : 8 \quad r \geq 2,875$$

Jadi pengulangan untuk setiap perlakuan yang dibutuhkan untuk setiap perlakuan minimal 3 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama paparan asap mesin berbahan bakar bensin yang diberikan dalam berbagai jangka waktu dan ada tidaknya pemberian ekstrak kacang tunggak pada kelompok perlakuan.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang terpapar asap kendaraan bermotor.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba. Sedangkan pengamatan terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah:

1. Bahan untuk makanan tikus *Rattus norvegicus* PARS 110gr, terigu 55gr dan air. Bahan tambahan (untuk penambah nafsu makan tikus) <10gr. Berat pakan per tikus 40 gr normal (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Kandungan PAR-S

Kandungan	Jumlah
Air	Maksimal 12 %
Protein kasar	Minimal 12 %
Lemak kasar	Minimal 4 %
Serat kasar	Maksimal 7 %
Kalsium	0,9-1,1 %
Fosfor	0,6 - 0,8 %

PT. Wonokojoyo Jaya Corporindo Surabaya

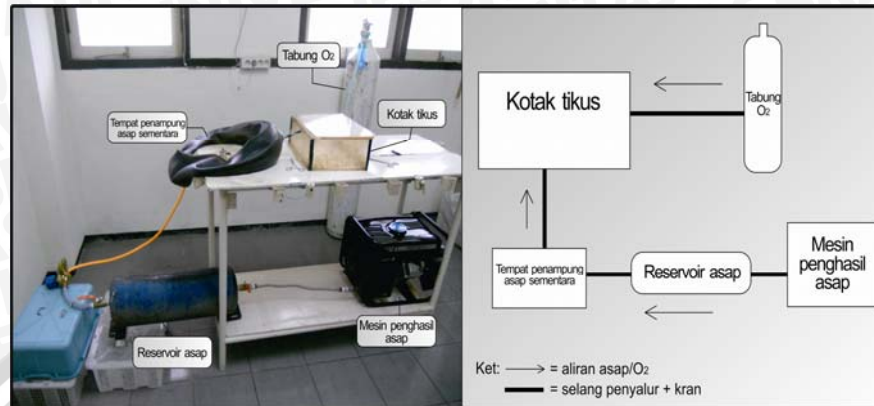
2. Asap kendaraan bermotor yang dipaparkan berasal dari mesin modifikasi dengan bahan bakar bensin.

3. Kacang tunggak yang telah diekstraksi. Bahan-bahan untuk ekstraksi adalah:
 - a. Kacang tunggak
 - b. Etanol 96% (pelarut) pelarut etanol dapat diganti dengan pelarut lain, misalnya methanol atau n-heksa.
4. Bahan pengambilan organ : eter, formalin 10%
5. Bahan pembuatan sediaan histopatologi aorta :
 - a. Aorta *Rattus norvegicus*
 - b. Pewarna hematoksilin eosin
 - c. Alkohol absolut dan alkohol berbagai konsentrasi
 - d. Xilol
 - e. Parafin lunak
 - f. Parafin keras
 - g. Alkohol asam
 - h. Air
 - i. Entelan
6. Air untuk mencuci *box smoking pump* dan minum tikus.

4.5.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Mesin untuk pemberian asap kendaraan bermotor berupa "Pump" buatan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Alat ini terdiri atas beberapa kotak, mesin dengan bahan bakar bensin, alat pengatur jumlah asap, dan tabung oksigen (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Mesin untuk Pemberian Asap Kendaraan Bermotor

2. Alat pembuatan pakan hewan coba: timbangan, neraca analitik, baskom, pengaduk, gelas ukur, penggiling pakan, dan nampan.

3. Alat untuk membuat ekstrak kacang tunggak:

- a. Oven
- b. Blender
- c. Timbangan (1)
- d. Gelas Erlenmeyer (2)
- e. Corong gelas (1)
- f. Kertas saring (1)
- g. Labu evaporator (1)
- h. Labu penampung etanol (1)
- i. Evaporator (1)
- j. Pendingin spiral / rotary evaporator (1)
- k. Selang water pump
- l. Water pump
- m. Water bath
- n. Vacuum pump (1)
- o. Botol hasil ekstrak

4. Alat untuk pengambilan organ :

- a. Kotak tertutup
- b. Kapas yang dibasahi eter
- c. *Scalpel*
- d. Gunting
- e. Pinset
- f. Tabung plastik untuk tempat menyimpan organ sementara sebelum dibuat preparat histopatologi.

5. Alat pembuatan dan pemeriksaan sediaan histopatologi aorta.

- a. Mikrotom rotate
- b. *Object glass* dan *cover glass*
- c. *Automatic tissue processor*
- d. Pencetak parafin

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Paparan asap: pemaparan dengan menggunakan mesin yang dapat menyalurkan asap hasil pembakaran bahan bakar bensin ke dalam kotak yang diisi tikus-tikus kelompok perlakuan (Gambar 4.1). Lama waktu pengasapan dalam penelitian ini adalah 2 menit, 3 menit, dan 4 menit per hari selama 30 hari.
- b. Ekstrak kacang tunggak : kacang tunggak kering diperoleh jenis KT-6 di Balitkabi Malang. Diekstraksi menggunakan metode maserasi. Pemberian ekstrak secara per oral dengan menggunakan sonde. Dosis pemberian 0.5 mg/kgBB/hari untuk setiap ekor tikus. Ekstrak diberikan 30 menit sebelum tikus dipapar asap.
- c. Sel endotel : sel yang membentuk lapisan epitel, yang melapisi rongga jantung dan pembuluh limfatik dan rongga serosa tubuh, yang berasal dari mesoderm (*Dorland's Illustrated Medical Dictionary*). Sel endotel merupakan sel epitel pipih dan hanya terdiri dari satu lapis sel (Junqueira dan Carneiro, 2003).

- d. Tebal dinding aorta yang diukur adalah tebal dinding aorta yang diukur dari tunika intima sampai dengan tunika media.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstraksi Kacang Tunggak

Untuk mendapatkan ekstrak kacang tunggak, diperlukan suatu proses ekstraksi. Ekstraksi ini dilakukan dengan metode maserasi. Cara pembuatannya adalah:

1. Proses pengeringan
 - a. Sampel basah (biji kacang tunggak) dicuci bersih.
 - b. Biji kacang tunggak yang sudah dicuci bersih dengan suhu 40-60°C atau dengan panas matahari hingga kering (bebas kandungan air)
2. Proses ekstraksi
 - a. Biji kacang tunggak digiling sampai halus.
 - b. Bubuk kacang tunggak ditimbang sebanyak 100 gram
 - c. Bubuk kacang tunggak dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran ± 1 L
 - d. Bubuk kacang tunggak direndam dengan etanol sebanyak 900 mL
 - e. Bubuk kacang tunggak dikocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit)
 - f. Hasil kocokan didiamkan selama 1 malam hingga mengendap.
 - g. Lapisan atas (campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur) diambil (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring).
 - h. Proses perendaman ini dilakukan 3 kali.
3. Proses evaporasi
 - a. Hasil rendaman dimasukkan dalam labu evaporasi 1 L.
 - b. Labu evaporasi dipasang pada evaporator.

- c. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
- d. Semua rangkaian alat dipasang termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sampai 90°C atau sesuai dengan titik didih pelarut), kemudian disambungkan dengan aliran listrik
- e. Larutan etanol dibiarkan menguap pada labu evaporasi
- f. Aliran etanol ditunggu hingga berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu) ± 900 mL
- g. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam botol plastik/kaca
- h. Hasil kemudian disimpan di dalam *freezer*

4.7.2 Perlakuan pada Hewan Coba

1. Semua tikus dilihat umur dan ditimbang berat badannya. Dilakukan randomisasi dengan metode RAL agar setiap tikus mempunyai peluang sama untuk mendapatkan perlakuan.
2. Tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dibagi menjadi 9 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Pembagian kelompok dilakukan secara acak (*simple random sampling*). Pembagian kelompok adalah sebagai berikut :
 - a. Kelompok normal
 - b. Kelompok normal + oksigen 4 menit
 - c. Kelompok normal + ekstrak kacang tunggak 2 mL
 - d. Kelompok asap kendaraan 2 menit + oksigen 4 menit
 - e. Kelompok asap kendaraan 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak 2 mL
 - f. Kelompok asap kendaraan 3 menit + oksigen 4 menit
 - g. Kelompok asap kendaraan 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak 2 mL
 - h. Kelompok asap kendaraan 4 menit + oksigen 4 menit

- i. Kelompok asap kendaraan 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak 2 mL

3. Persiapan hewan uji

- a. Tikus ditempatkan dalam kandang terpisah.
- b. Sebelum perlakuan, semua kelompok tikus percobaan diadaptasikan pada kondisi laboratorium tempat percobaan, kandang, waktu makan dan eksplorasi terhadap pakan tikus selama 7 hari. Tiap tikus diberikan pakan standar yang terdiri dari 66% PARS dan 33% terigu secara ad libitum.

4.7.3 Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak Tikus

Bahan:

- Ekstrak kacang tunggak

Alat:

- Sonde

Cara kerja:

Pemberian ekstrak kacang tunggak pada kelompok tikus yang akan dilakukan 30 menit sebelum perlakuan melalui alat sonde sesuai dengan dosis yang sudah ditentukan. Sonde dipasang pada ujung spuit kemudian dimasukkan ke dalam mulut tikus Wistar sehingga mencapai ujung esophagus.

4.7.4 Pemaparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Cara pemaparan:

- a. Tikus ditimbang berat badannya dengan neraca Ohaus sebelum pemaparan.
- b. Tempat pemaparan dibersihkan dari kotoran dan asap.

- c. Peralatan yang akan digunakan untuk pemaparan diperiksa terlebih dahulu dan dipastikan dapat berfungsi dengan baik.
- d. Untuk kelompok perlakuan e, g, i, sebelum dilakukan pemaparan, tikus diberikan ekstrak kacang tunggak 30 menit sebelumnya.
- e. Selanjutnya empat ekor tikus (satu kelompok perlakuan) dimasukkan ke dalam kotak dan segera ditutup. Dalam penelitian ini, satu kelompok perlakuan dibagi menjadi 2 tahap pemaparan, masing-masing 4 ekor tikus.
- f. Pemaparan asap kendaraan dilakukan dengan cara menyalakan mesin dan kran penyalur asap dan O₂ sesuai dengan waktu yang telah ditentukan untuk masing-masing kelompok perlakuan (hingga maksimal 8 menit).
- g. Setelah itu mesin dan kran penyalur dimatikan, lalu tutup kotak dibuka dan tikus dipindahkan ke kandang semula.
- h. Setiap pemaparan asap kendaraan berikutnya, kotak selalu dibersihkan lebih dahulu dari sisa asap kendaraan sebelumnya.

4.7.5 Pengambilan dan Pembuatan Sampel

4.7.5.1 Pengambilan Aorta Tikus

Bahan:

1. Eter
2. Kapas
3. Formalin 10%

Alat:

1. Alat bedah minor
2. Tabung sebagai tempat sementara pengawetan organ
3. Kotak tertutup

Cara Kerja:

1. Hewan coba tikus dianestesi dengan cara dimasukkan ke dalam kotak yang berisi kapas yang telah dituangi eter.
2. Tikus dimatikan dengan prosedur anestesi umum menggunakan eter.
3. Tikus dibedah dan diambil jaringan aortanya.
4. Aorta yang telah diambil kemudian diletakkan dalam kotak sementara dan difiksasi dengan formalin 10%.
5. Aorta selanjutnya siap untuk dibuat preparat histologi.

4.7.5.2 Pembuatan Sediaan Histopatologi Aorta Tikus

Bahan:

1. Formalin 10%
2. Cat Hematoksilin-Eosin (HE)
3. Xylol
4. *Counter staining*
5. *Canadian Balsem* atau Entellan
6. Sediaan aorta tikus
7. Parafin lunak
8. Parafin keras
9. Alkohol asam
10. Ammonium
11. Aquades
12. Alkohol dengan berbagai konsentrasi yang diperlukan

Alat:

1. Mikrotom
2. *Object glass*
3. *Cover glass*

Cara kerja:

A. Proses persiapan

1. Tikus dimatikan dengan prosedur anaestesi umum menggunakan eter.
2. Setelah mati, aorta dikeluarkan dari tubuh tikus .
3. Potongan aorta dimasukkan ke dalam tabung organ yang berisi larutan formalin 10% dan direndam.
4. Masing-masing tabung diberi identitas sesuai dengan kelompok perlakuan.

B. Proses pembuatan sediaan

1. Setelah direndam, jaringan aorta didehidrasi dengan merendamnya pada alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu konsentrasi 30%, 50%, 70%, 95%, dan dua kali alkohol absolut. Semua perendaman pada fase dehidrasi ini dilakukan masing-masing selama 30 menit.
2. Setelah semua proses perendaman selesai, dilanjutkan dengan proses *clearing*, yaitu dengan merendam sediaan pada xylol sebanyak 2 kali masing-masing selama 1 jam.
3. Lalu dilakukan proses infiltrasi dengan parafin lunak pada suhu 42-46°C selama dua kali satu jam.
4. Dilakukan *blocking* dengan parafin keras pada suhu 46-52°C selama satu jam.
5. Kemudian bagian arcus aorta disliding pada mikrotom *rotary* dengan ukuran 4-6 mm.
6. Dipanaskan dengan suhu 60°C.
7. Dilakukan deparafinasi dengan perendaman jaringan pada cairan xylol selama dua kali lima menit.

8. Selanjutnya dilakukan perendaman dalam alkohol bertingkat dengan ukuran konsentrasi terbalik mulai dari alkohol 95%, 85%, 75%, 50%, 30%, dan terakhir dengan aquades selama 3 menit.
9. Terakhir dilakukan pewarnaan dengan HE sebagai berikut:
 - a. Pemberian HE 15 menit
 - b. Direndam pada alkohol asam selama 3-10 detik
 - c. Diberi cairan ammonium selama 3-10 detik
 - d. Pemberian *counter staining* selama 15-20 detik
 - e. Didehidrasi pada alkohol bertingkat (50%, 70%, 85%, 90%, dua kali alkohol bebas)
 - f. Pemberian xylol selama 5 menit
 - g. Dilakukan *mounting* menggunakan entellan
10. Sediaan siap diamati dengan mikroskop dan dibuat dokumentasi dengan kamera.

4.7.6 Penghitungan Jumlah Sel Endotel

Data jumlah sel inflamasi aorta tikus didapatkan melalui pengamatan pada sediaan *scan dot* aorta tikus yang dihasilkan dengan program OlyVIA (*Olympus Viewer for Imaging Applications*) yang tersedia di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada 10 lapangan pandang dengan perbesaran 400 kali. Penghitungan sel endotel dilakukan dengan menghitung jumlah semua sel endotel yang terdapat pada tunika intima aorta, kemudian dihitung rata-ratanya.

4.7.7 Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta

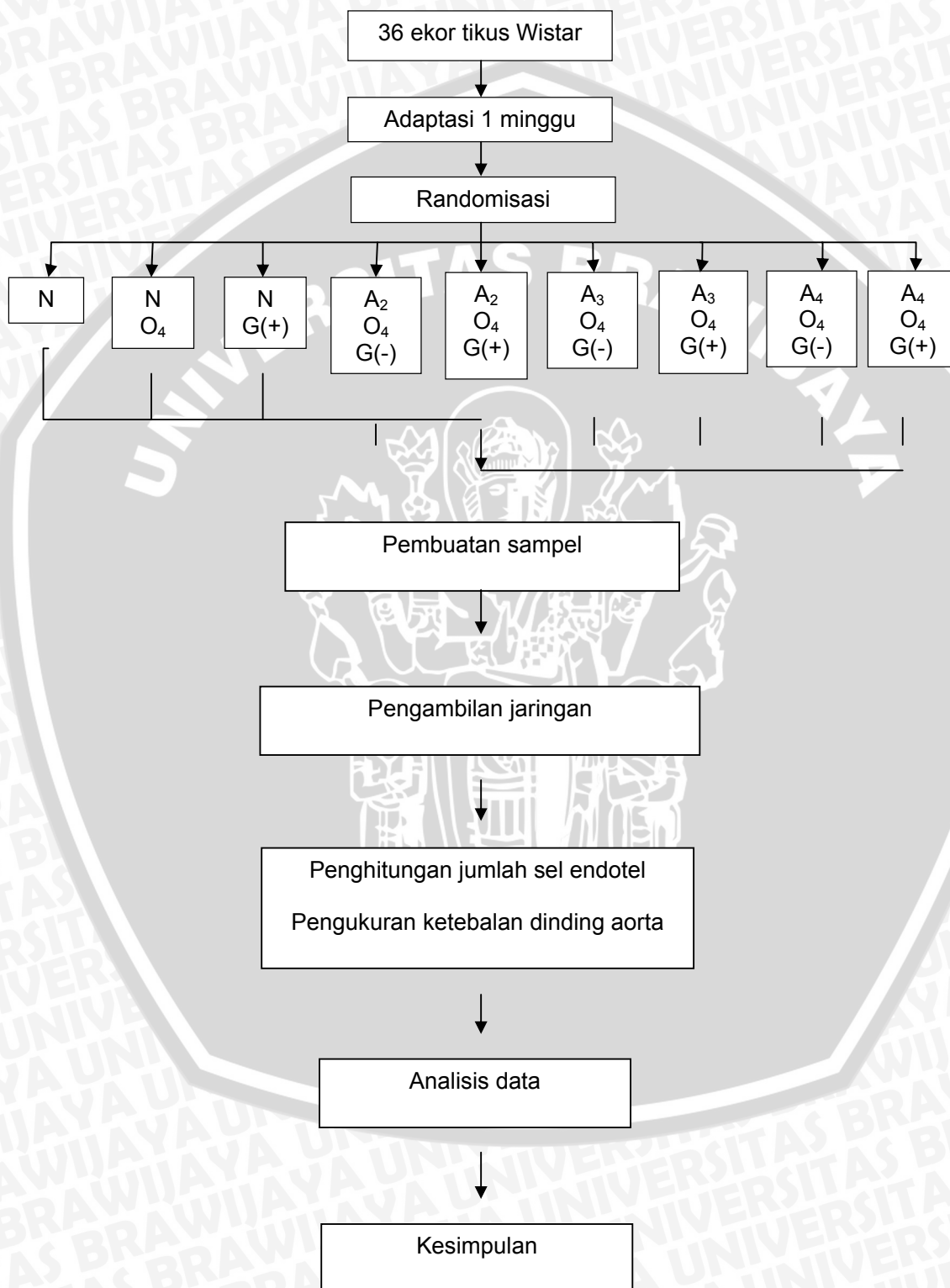
Ketebalan dinding aorta diukur dengan menggunakan *software* OlyVIA yang tersedia di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya. Ketebalan dinding aorta diukur dari tunika intima hingga tunika media.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil yang diperoleh akan dikelompokkan dan dimasukkan dalam tabel dan diuji kemaknaannya dengan menggunakan *one-way Anova* apabila data homogen, untuk membandingkan rata-rata jumlah sel endotel aorta dan ketebalan dinding aorta pada tiap kelompok perlakuan, dan apabila data tidak homogen, digunakan uji Kruskal-Wallis. Apabila dari uji tersebut terdapat perbedaan, maka dapat dilanjutkan dengan uji *post-hoc* untuk mengetahui letak perbedaan dari 9 perlakuan yang telah diberikan. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan $\alpha = 0,05$. Jadi, hasil uji statistik dinyatakan bermakna bila $p < 0,05$. Kemudian kekuatan asosiasi antara variabel bebas dan terikat ditentukan menggunakan analisis korelasi linear untuk menentukan koefisien korelasi. Perangkat analisis statistik menggunakan fasilitas SPSS 17.0 dari Windows.

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

Keterangan:

A₂ : asap mesin berbahan bakar bensin selama 2 menit

A₃ : asap mesin berbahan bakar bensin selama 3 menit

A₄ : asap mesin berbahan bakar bensin selama 4 menit

O₄ : oksigen selama 4 menit



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

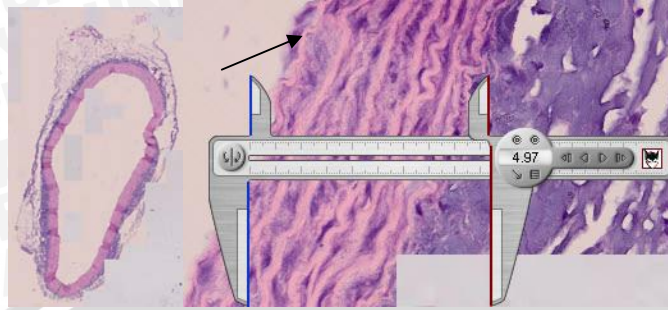
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan *post-test only control group design* dengan 9 kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal (kontrol negatif), kelompok yang diberi oksigen 4 menit, kelompok yang diberi ekstrak kacang tunggak, kelompok yang diberi perlakuan asap 2, 3 dan 4 menit, masing-masing diberikan oksigen 4 menit dengan dan tanpa ekstrak kacang tunggak. Dosis ekstrak kacang yang digunakan pada tikus didasarkan pada berat rata-rata tikus (Lampiran), yaitu 2 ml ekstrak kacang tunggak yang telah diencerkan. Pemberian ekstrak kacang tunggak dilakukan 30 menit sebelum dilakukan pengasapan setiap harinya secara bersama-sama. Seluruh kelompok diberi perlakuan selama 30 hari.

Setelah 30 hari dilakukan pembedahan dan pengambilan organ aorta pada seluruh sampel.

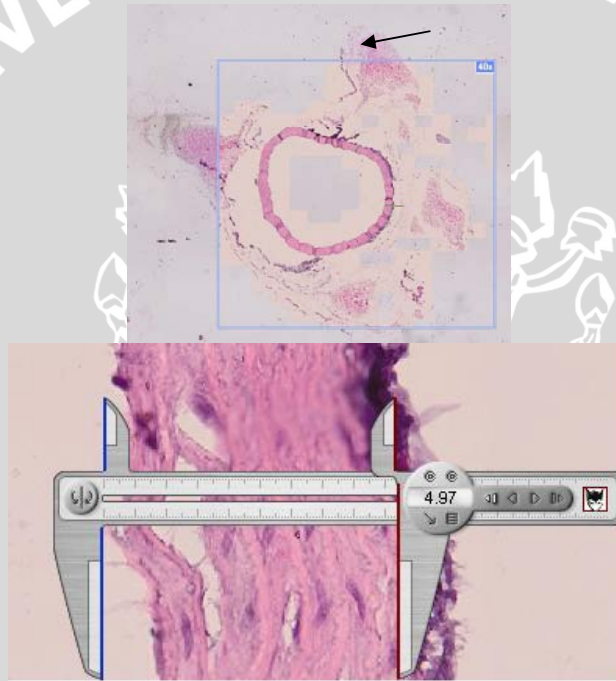
Penghitungan jumlah sel endotel dan pengukuran

ketebalan dinding aorta bagian tunika intima-media dilakukan dengan menggunakan mikroskop digital dot slide, kemudian selanjutnya hasil pemotretan preparat dibaca dengan software OlyVIA dengan pembesaran **400x**. Hasil pengamatan diperoleh data kuantitatif, data ini dianalisis dengan program SPSS 17.0 for Windows melalui uji Kruskal-Wallis dan uji *post-hoc*. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Gambar 5.1 hingga 5.9

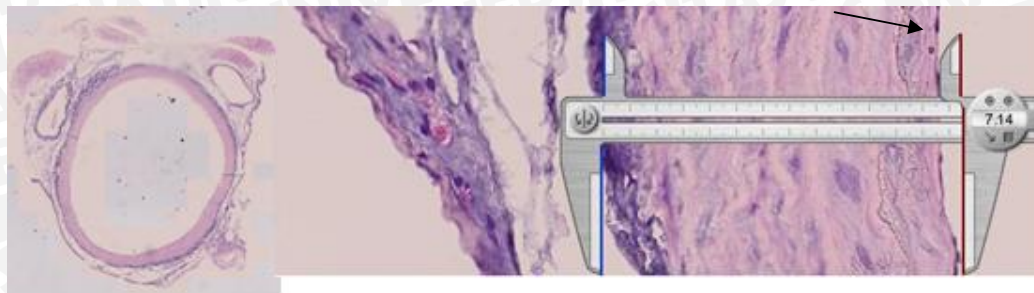




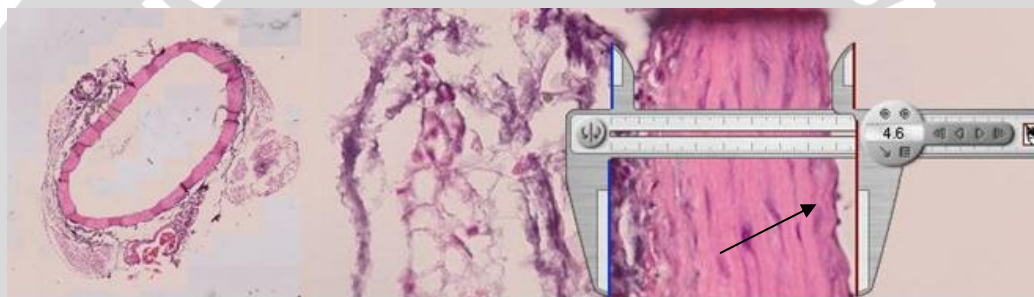
Gambar 5.1 Aorta tikus normal. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 9,15. Rata - rata ketebalan dinding arteri 82,61 μm



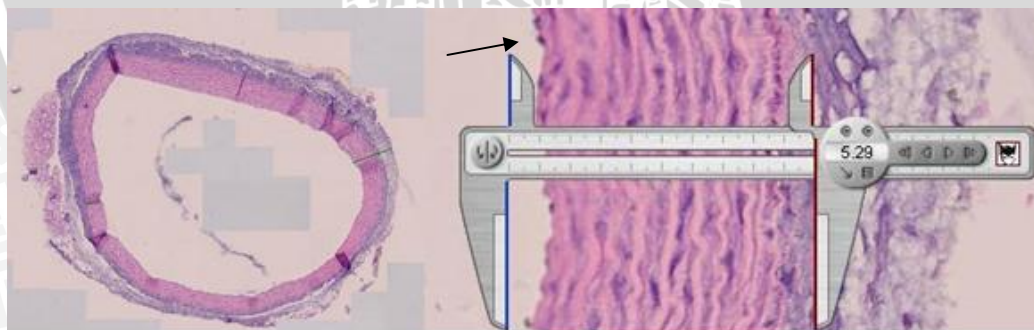
Gambar 5.2 Aorta tikus normal yang diberi oksigen 4 menit. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 8,48. Rata-rata ketebalan dinding arteri 83,91 μm



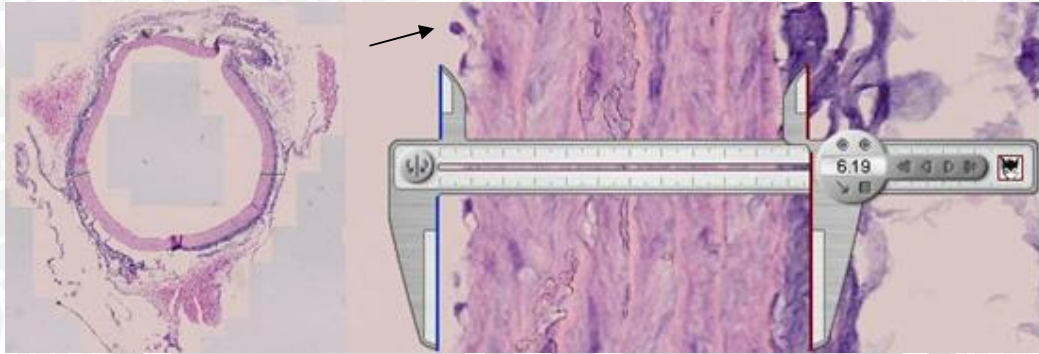
Gambar 5.3 Aorta tikus normal yang diberi ekstrak kacang tunggak. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 10,28. Rata-rata ketebalan dinding arteri 80,86 μm



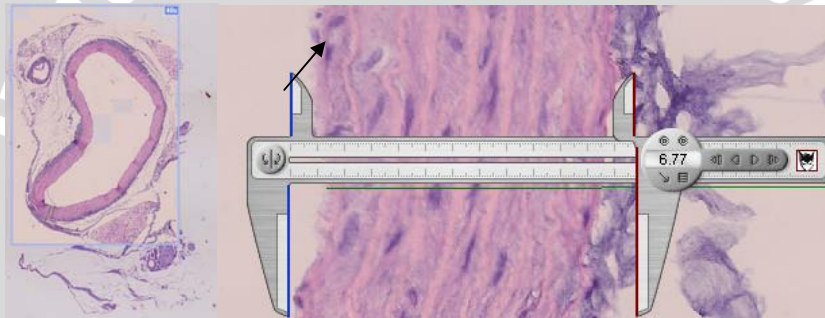
Gambar 5.4 Aorta tikus yang dipapar asap 2 menit dan oksigen 4 menit. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 9,1. Rata-rata ketebalan dinding arteri 110,97 μm



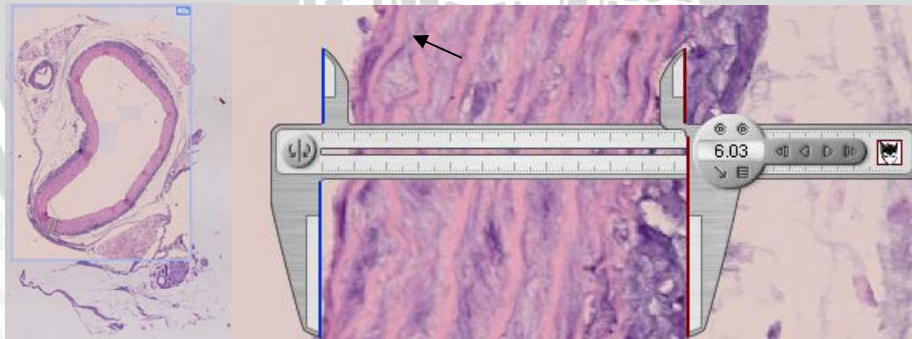
Gambar 5.5 Aorta tikus yang dipapar asap 2 menit, oksigen 4 menit dan diberi ekstrak kacang tunggak. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 12,48. Rata-rata ketebalan dinding arteri 86,22 μm



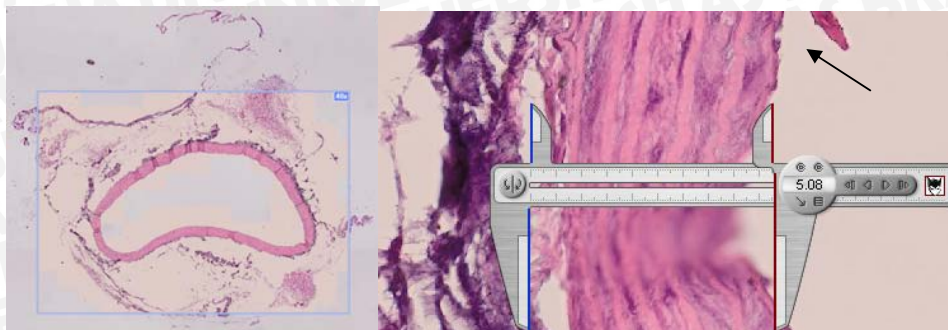
Gambar 5.6 Aorta tikus yang dipapar asap 3 menit dan oksigen 4 menit. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 6,23. Rata-rata ketebalan dinding arteri 118,56 μm



Gambar 5.7 Aorta tikus yang dipapar asap 3 menit, oksigen 4 menit dan diberi ekstrak kacang tunggak. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 9,9. Rata-rata ketebalan dinding arteri 90,62 μm



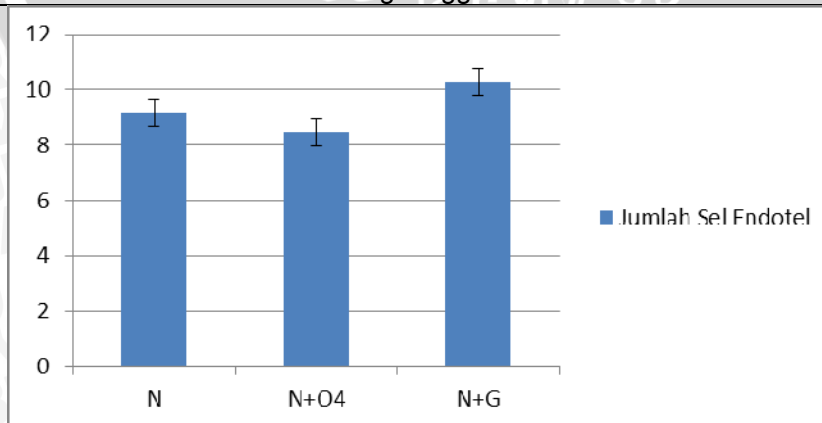
Gambar 5.8 Aorta tikus yang dipapar asap 4 menit dan oksigen 4 menit. Pewarnaan *HE*. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 12,75. Rata-rata ketebalan dinding arteri 72,04 μm



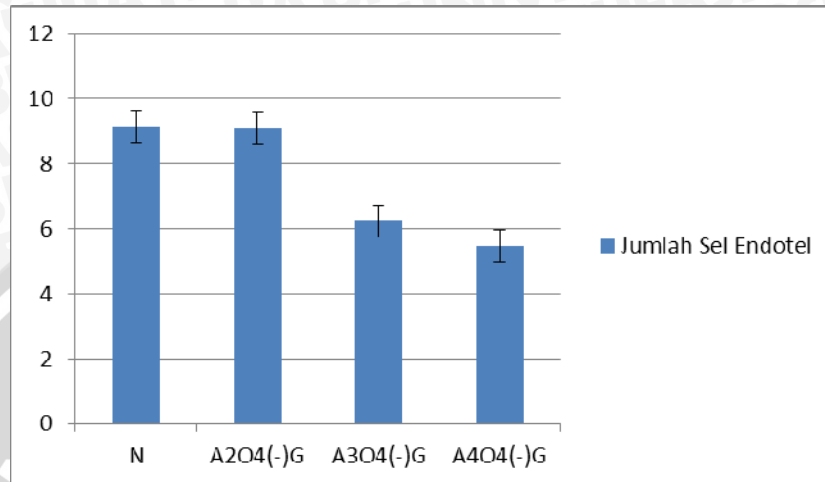
Gambar 5.9 Arteri koroner tikus yang dipapar asap 4 menit, oksigen 4 menit dan diberi ekstrak kacang tunggak. Pewarnaan HE. Perbesaran 400x. Rata-rata jumlah sel endotel 29.55. Rata-rata ketebalan dinding arteri 45.26 μ m

Tabel 5.1 Rerata Jumlah Sel Endotel Aorta *Rattus norvegicus*

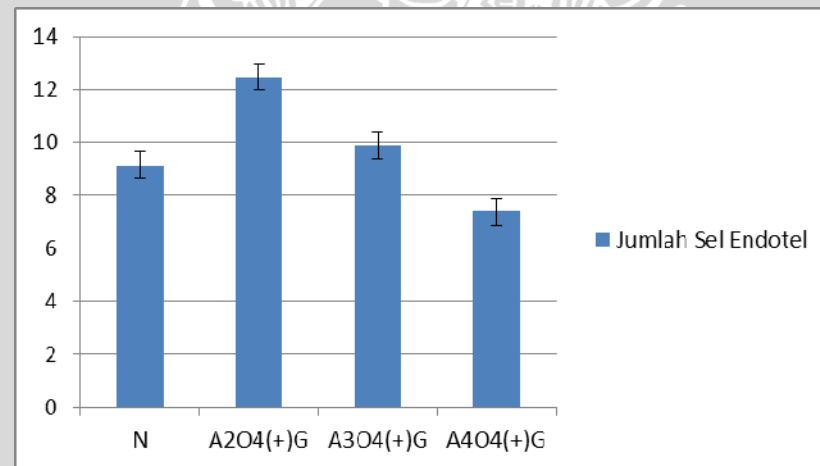
Kelompok Perlakuan	Keterangan	Rerata $\pm$ SD
N	Kontrol negatif (normal)	9,15 $\pm$ 0.479583
NO ₄	Oksigen 4 menit	8,48 $\pm$ 0.35
NG	Ekstrak kacang tunggak	10,28 $\pm$ 0.221736
A ₂ O ₄ (-)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit	9,1 $\pm$ 0.752773
A ₂ O ₄ (+)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	12,48 $\pm$ 1.352467
A ₃ O ₄ (-)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit	6,23 $\pm$ 0.287228
A ₃ O ₄ (+)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	9,9 $\pm$ 1.148913
A ₄ O ₄ (-)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit	5,48 $\pm$ 0.655108
A ₄ O ₄ (+)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	7,4 $\pm$ 0.408248



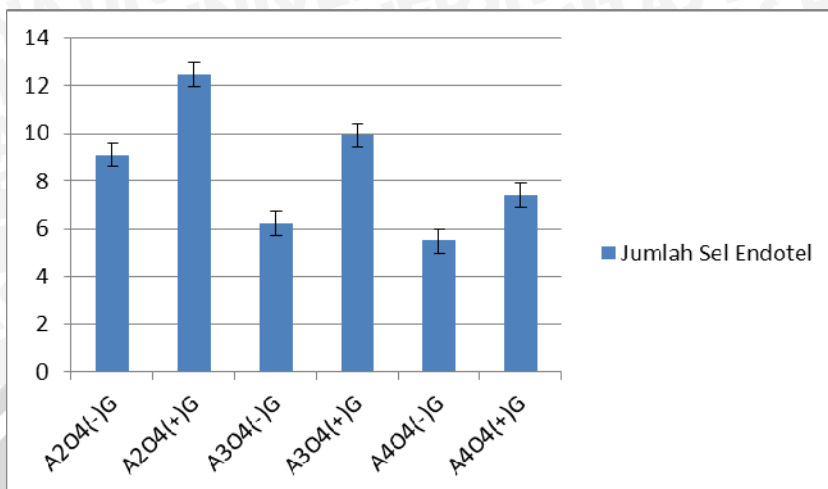
Gambar 5.10 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta
Rattus norvegicus Kelompok Tanpa Paparan Asap



Gambar 5.11 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta
Rattus norvegicus Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap



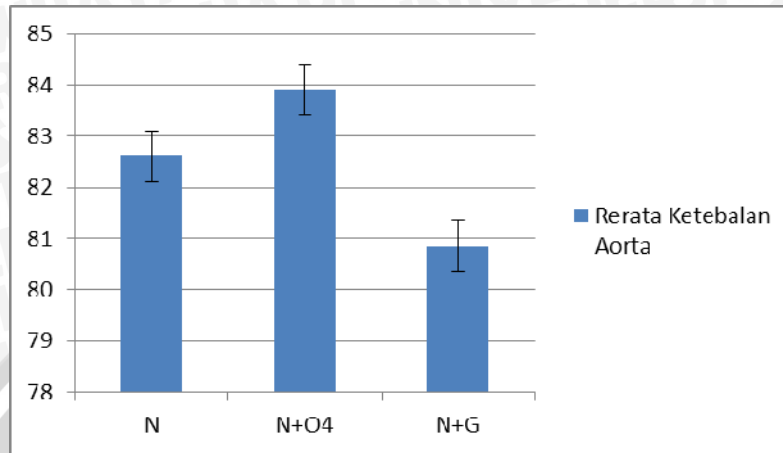
Gambar 5.12 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta
Rattus norvegicus Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap
dengan Ekstrak Kacang Tunggak



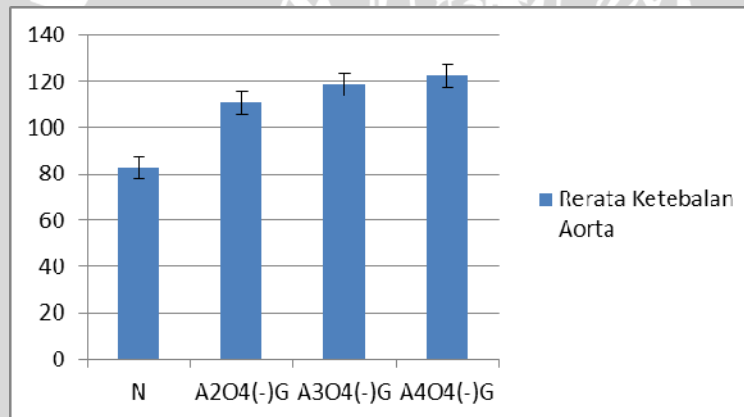
Gambar 5.13 Diagram Rerata Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Paparan Asap tanpa dan dengan Ekstrak Kacang Tunggak

Tabel 5.2 Rerata Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus*

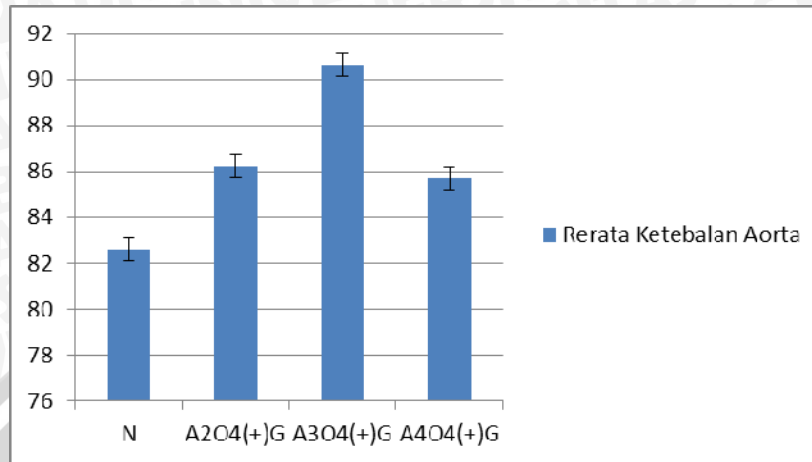
Kelompok Perlakuan	Keterangan	Rerata $\pm$ SD
N	Kontrol negatif (normal)	82,61 $\pm$ 1.614249
NO ₄	Oksigen 4 menit	83,91 $\pm$ 0.703675
NG	Ekstrak kacang tunggak	80,86 $\pm$ 0.432695
A ₂ O ₄ (-)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit	110,97 $\pm$ 3.947618
A ₂ O ₄ (+)G	Asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	86,22 $\pm$ 3.254949
A ₃ O ₄ (-)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit	118,56 $\pm$ 13.91994
A ₃ O ₄ (+)G	Asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	90,62 $\pm$ 0.465716
A ₄ O ₄ (-)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit	122,20 $\pm$ 4.966215
A ₄ O ₄ (+)G	Asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak	85,71 $\pm$ 4.897707



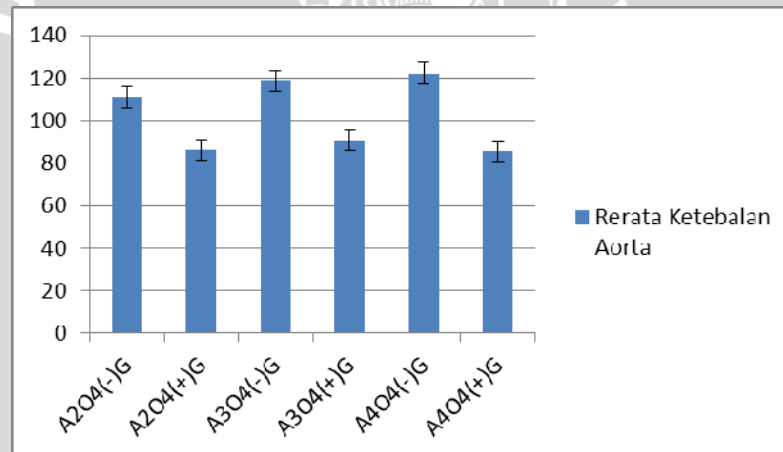
Gambar 5.14 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Tanpa Paparan Asap



Gambar 5.15 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap



Gambar 5.16 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Paparan Asap dengan Ekstrak Kacang Tunggak



Gambar 5.17 Diagram Rerata Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* Kelompok Kelompok Paparan Asap tanpa dan dengan Ekstrak Kacang Tunggak

5.2 Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian ini dianalisis dengan menggunakan program analisis statistik SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 17.0 dengan metode uji statistika *One Way ANOVA*. Sebelum melakukan analisa data, maka harus dipenuhi dahulu syarat-syarat uji *One*

Way ANOVA untuk lebih dari 2 kelompok data tidak berpasangan, yaitu distribusi data harus normal dan varians data harus sama. Uji statistik pertama yang dilakukan adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan metode Shapiro-Wilk. Setelah mengetahui apakah data terdistribusi normal, langkah selanjutnya adalah dengan menentukan apakah data memiliki varian yang berbeda atau tidak dengan menggunakan uji homogenitas. Apabila syarat telah terpenuhi maka dapat dilakukan pengujian *One Way ANOVA*. Namun, apabila data tidak memenuhi syarat, maka dilakukan pengujian Kruskal-Wallis.

Setelah melakukan pengujian tersebut, maka selanjutnya analisis yang dilakukan adalah untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan secara bermakna tersebut dengan menggunakan analisis *post-hoc*. Pada uji *post-hoc* suatu data dikatakan berbeda secara bermakna apabila nilai signifikansi $p < 0,05$ serta interval kepercayaan (IK) 95%.

5.2.1 Jumlah Sel Endotel

Uji statistik pertama yang dilakukan adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan Shapiro-Wilk (lampiran), didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki sebaran yang tidak normal (uji Shapiro-Wilk $p < 0.05$). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (lampiran). Pada tabel uji homogenitas didapatkan hasil bahwa data memiliki varian yang tidak sama ($p < 0.05$) dengan nilai $p = 0,002$. Dengan demikian selanjutnya tidak dapat dilakukan pengujian ANOVA karena syarat-syarat tidak terpenuhi, sehingga dilakukan pengujian Kruskal-Wallis.

Analisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis bertujuan untuk menilai perbedaan antara jumlah sel endotel aorta antar kelompok dengan cara melihat nilai signifikansi (p). Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai $p = 0.000$ (lampiran) dan berdasarkan hasil tersebut maka $p < 0.05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa “paling tidak terdapat perbedaan jumlah sel endotel yang bermakna pada dua kelompok”.

Selanjutnya analisis yang dilakukan adalah untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan secara bermakna dengan menggunakan analisis *post-hoc* Mann-Whitney. Berdasarkan *output* uji didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.3 Hasil Uji Komparasi Jumlah Sel Endotel Aorta

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
P1	-	0,059	0,021	0,885	0,021	0,020	0,237	0,021	0,021
P2	0,059	-	0,021	0,191	0,021	0,020	0,020	0,021	0,021
P3	0,021	0,021	-	0,029	0,021	0,020	0,245	0,021	0,021
P4	0,885	0,885	0,029	-	0,021	0,020	0,384	0,021	0,021
P5	0,021	0,021	0,021	0,021	-	0,020	0,042	0,021	0,021
P6	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	-	0,019	0,028	0,020
P7	0,237	0,237	0,245	0,384	0,042	0,019	-	0,020	0,020
P8	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,028	0,020	-	0,021
P9	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,020	0,020	0,021	-

Keterangan:

Nilai $p < 0.05$: terdapat perbedaan yang bermakna

Nilai $p > 0.05$: tidak terdapat perbedaan yang bermakna

P1 = N; P2 = N + O₄; P3 = N + G; P4 = A₂O₄(-)G; P5 = A₂O₄(+)G; P6 = A₃O₄(-)G; P7 = A₃O₄(+)G; P8 = A₄O₄(-)G; P9 = A₄O₄(+)G

Dari hasil uji komparasi di atas dapat disimpulkan bahwa:

- Terdapat penurunan tidak bermakna pada jumlah sel kelompok normal + oksigen 4 menit dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p = 0,059$). Terdapat peningkatan bermakna pada jumlah sel kelompok normal + ekstrak kacang tunggak dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p = 0,021$).
- Pada kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak terjadi peningkatan jumlah sel endotel yang bermakna dibandingkan kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0,021$).
- Pada kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak terjadi peningkatan jumlah sel endotel yang bermakna dibandingkan kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit ($p = 0,019$).
- Pada kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak terjadi peningkatan jumlah sel endotel yang bermakna dibandingkan kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit ($p = 0,021$).
- Terdapat penurunan yang bermakna pada kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit dan asap 4 menit + oksigen 4 menit dibandingkan kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0,020$, $p = 0,021$).
- Pada kelompok asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dan kelompok asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak terdapat peningkatan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0,042$, $p = 0,021$).

5.2.2 Ketebalan Dinding Aorta

Uji statistik pertama yang dilakukan adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan Shapiro-Wilk (lampiran), didapatkan bahwa data untuk semua kelompok memiliki sebaran yang tidak normal (uji Shapiro-Wilk $p < 0.05$). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (lampiran). Pada tabel uji homogenitas didapatkan hasil bahwa data memiliki varian yang tidak sama ($p < 0.05$) dengan nilai $p = 0,000$. Dengan demikian selanjutnya tidak dapat dilakukan pengujian ANOVA karena syarat-syarat tidak terpenuhi, sehingga dilakukan pengujian Kruskal-Wallis.

Analisis dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis bertujuan untuk menilai perbedaan antara ketebalan dinding aorta antar kelompok dengan cara melihat nilai signifikansi (p). Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai $p = 0.000$ (lampiran) dan berdasarkan hasil tersebut maka $p < 0.05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa “paling tidak terdapat perbedaan jumlah sel endotel yang bermakna pada dua kelompok”.

Selanjutnya analisis yang dilakukan adalah untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan secara bermakna dengan menggunakan analisis *post-hoc* Mann-Whitney. Berdasarkan *output* uji Mann-Whitney didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.4 Hasil Uji Komparasi Ketebalan Dinding Aorta

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9
P1	-	0,191	0,248	0,021	0,083	0,021	0,021	0,021	0,248
P2	0,191	-	0,021	0,021	0,386	0,021	0,021	0,021	0,386
P3	0,248	0,021	-	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,248

P4	0,021	0,021	0,021	-	0,021	0,564	0,021	0,043	0,021
P5	0,083	0,386	0,021	0,021	-	0,021	0,021	0,021	1,000
P6	0,021	0,021	0,021	0,564	0,021	-	0,021	0,386	0,021
P7	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	-	0,021	0,248
P8	0,021	0,021	0,021	0,043	0,021	0,386	0,021	-	0,021
P9	0,248	0,386	0,248	0,021	1,000	0,021	0,248	0,021	-

Keterangan:

Nilai $p < 0.05$: terdapat perbedaan yang bermakna

Nilai $p > 0.05$: tidak terdapat perbedaan yang bermakna

P1 = N; P2 = N + O₄; P3 = N + G; P4 = A₂O₄(-)G; P5 = A₂O₄(+)G; P6 = A₃O₄(-)G;

P7 = A₃O₄(+)G; P8 = A₄O₄(-)G; P9 = A₄O₄(+)G

Dari hasil uji komparasi di atas dapat disimpulkan bahwa:

- Terdapat peningkatan ketebalan dinding aorta yang tidak bermakna pada kelompok perlakuan oksigen 4 menit dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p = 0,191$). Terdapat penurunan ketebalan dinding aorta yang tidak bermakna pada kelompok perlakuan ekstrak kacang tunggak dibandingkan kelompok kontrol negatif ($p = 0,248$).
- Terdapat penurunan ketebalan dinding aorta yang bermakna pada kelompok perlakuan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dibandingkan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0,021$).
- Terdapat penurunan ketebalan dinding aorta yang bermakna pada kelompok perlakuan asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dibandingkan asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0,021$).
- Terdapat penurunan ketebalan dinding aorta yang bermakna pada kelompok perlakuan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak

kacang tunggak dibandingkan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0,021$).

- Terdapat peningkatan ketebalan dinding aorta yang tidak bermakna pada kelompok perlakuan asap 3 menit + oksigen 4 menit dibandingkan asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0,564$). Terdapat peningkatan ketebalan dinding aorta yang bermakna pada kelompok perlakuan asap 4 menit + oksigen 4 menit dibandingkan asap 2 menit + oksigen 4 menit ($p = 0,043$).
- Terdapat penurunan ketebalan dinding aorta yang bermakna pada kelompok perlakuan asap 3 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dibandingkan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 0,021$). Terdapat penurunan ketebalan dinding aorta yang tidak bermakna pada kelompok perlakuan asap 4 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak dibandingkan asap 2 menit + oksigen 4 menit + ekstrak kacang tunggak ($p = 1,000$).

5.3 Uji Korelasi Spearman

Untuk mengetahui besarnya hubungan dari durasi pemaparan asap kendaraan bermotor dengan jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus*, maka digunakan uji korelasi Spearman, dengan hasil pada tabel 5.5 berikut:

Tabel 5.5 Hasil Uji Korelasi Spearman

Correlations

			Durasi	Sel
Spearman's rho	Durasi	Correlation Coefficient	1.000	-1.000**
		Sig. (2-tailed)	.	.
		N	4	4
	Sel	Correlation Coefficient	-1.000**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.	.
		N	4	4

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Correlations

			Durasi	Ketebalan
Spearman's rho	Durasi	Correlation Coefficient	1.000	1.000**
		Sig. (2-tailed)	.	.
		N	4	4
	Ketebalan	Correlation Coefficient	1.000**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.	.
		N	4	4

*. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Berdasarkan analisis di atas dapat diketahui bahwa durasi paparan asap kendaraan bermotor terhadap ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus* memiliki hubungan yang signifikan ($p > 0,01$) dengan arah korelasi yang negatif. Dengan demikian peningkatan durasi paparan asap kendaraan bermotor mengurangi jumlah sel endotel *Rattus norvegicus*.

Berdasarkan analisis di atas dapat diketahui bahwa durasi paparan asap kendaraan bermotor terhadap ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus* memiliki hubungan yang signifikan ($p > 0,01$) dengan arah korelasi yang positif. Dengan demikian peningkatan durasi paparan asap kendaraan bermotor meningkatkan ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus*.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta yang dipapar asap mesin berbahan bakar bensin dengan lama paparan yang bervariasi. Penelitian ini dilakukan dengan memapar *Rattus norvegicus* galur Wistar terhadap asap kendaraan bermotor selama 2, 3, dan 4 menit dengan dan tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak yang telah diencerkan sebanyak 2 mL 30 menit sebelum proses pemaparan. Setelah perlakuan selama 30 hari, aorta *Rattus norvegicus* diambil dan dibuat preparat dan difoto menggunakan mikroskop dot slide kemudian diteliti menggunakan program OlyVIA dan dilakukan uji statistik dengan program SPSS.

6.1 Pengaruh Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus*

Hasil penghitungan rata-rata jumlah sel endotel aorta *Rattus norvegicus* kelompok kontrol negatif adalah $N = 9,15 \pm 0.479583$, sementara itu rata-rata jumlah sel endotel pembuluh darah aorta *Rattus norvegicus* pada kelompok yang dipapar asap masing - masing adalah $A_2O_4(-)G = 9,1 \pm 0.752773$ untuk paparan asap selama 2 menit tanpa ekstrak kacang tunggak, $A_3O_4(-)G = 6,23 \pm 0.287228$ untuk paparan asap 3 menit tanpa ekstrak kacang tunggak, dan $A_4O_4(-)G = 5,48 \pm 0.655108$ untuk paparan asap 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak. Dari hasil analisis statistik didapatkan bahwa terdapat perbedaan

bermakna ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok yang terpapar asap kendaraan bermotor.

Pada hasil pengukuran data ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus* didapatkan data kontrol negatif adalah $N = 82,61 \pm 1.614249 \mu\text{m}$, sementara untuk kelompok yang dipapar asap kendaraan asap masing-masing ukuran ketebalan dindingnya adalah $A_2O_4(-)G = 110,97 \pm 3.947618 \mu\text{m}$ untuk paparan asap selama 2 menit tanpa ekstrak kacang tunggak, $A_3O_4(-)G = 118,56 \pm 13.91994 \mu\text{m}$ untuk paparan asap 3 menit tanpa ekstrak kacang tunggak, dan $A_4O_4(-)G = 122,20 \pm 4.966215$ untuk paparan asap 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak. Dari hasil analisis statistik didapatkan bahwa terdapat perbedaan tidak bermakna ($p > 0.05$) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok yang terpapar asap kendaraan bermotor selama 2 menit, sedangkan antara kelompok negatif dengan kelompok yang dipapar asap selama 3 dan 4 menit terdapat perbedaan bermakna ($p < 0, 05$).

CO akan menurunkan status antioksidan enzim jantung sehingga menyebabkan kegagalan transport Ca^{2+} intraseluler, yang berakibat keparahan aritmia ventrikel, gagalnya pemulihan fungsi kardiovaskuler, dan meningkatkan ukuran infark (Meyer *et al.*, 2010). Partikulat ambien mengandung logam-logam terlarut seperti sulfat, nitrat, asam, dan logam-logam lain yang menimbulkan inflamasi akut pada pembuluh darah melalui reaksi redoks (Kelly, 2003; Pope dan Dockery, 2006). Partikulat menginduksi aktivasi c-jun-n-terminal protein kinase (JNK), yang menyebabkan transkripsi DMNT1 dan metilasi promotor p16 (Soberanes *et al.*, 2012; Soberanes *et al.*, 2009; Soberanes *et al.*, 2006 dalam

Ebele, 2012). Selain itu, partikulat juga menyebabkan ekspresi protein tumor p53, p21, dan CCND1, yang berakibat mempengaruhi proliferasi sel dan apoptosis endotel (Rosas Pérez et al., 2007; Bayram et al., 2006; Dagher et al., 2006; Soberanes et al., 2006 dalam Ebele, 2012). Apoptosis endotel menyebabkan aktivasi kompleks protein NF- κ B, yang mengaktifkan proses inflamasi pembuluh darah, khususnya aterosklerosis (Monaco et al., 2004). Selain itu, aktivasi NF- κ B dapat menyebabkan penurunan sistem imun, yang mengakibatkan mortalitas akibat penyakit kardiovaskuler (Lieb et al., 2010). Penumpukan sel-sel inflamasi pada tunika media disertai dengan pembentukan plak aterosklerosis akibat paparan partikulat PM_{2.5} menyebabkan peningkatan ketebalan dinding aorta (Schoen dan Cotran, 2003; Künzli et al., 2005).

Disfungsi endotel sangat penting pada patogenesis aterosklerosis (Robbin, et al., 2004). Rusaknya endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah (Lampka et al., 2010). Jejas endotel kronis yang menyebabkan disfungsi endotel dipicu oleh pengelupasan secara mekanis dan gaya hemodinamik akibat tekanan darah tinggi, pengendapan kompleks imun, iradiasi, zat kimia, dan pembentukan ateroma tipikal. Lesi dini dimulai di tempat yang endotelnya secara morfologis masih utuh. Penyebab spesifik jejas endotel pada awal aterosklerosis belum diketahui, namun diduga penyebabnya adalah derivat asap dalam darah, homosistein, kekurangan vitamin C, atau virus dan infeksi lainnya. Perubahan endotel ini juga disertai gangguan hemodinamik yang mengganggu fungsi sirkulasi normal (Schoen dan Cotran, 2003). Disfungsi endotel akibat apoptosis sel endotel menyebabkan vasokonstriksi, yang

mengakibatkan peningkatan tekanan darah, perubahan protrombin dan koagulan, inflamasi sistemik, respons stres oksidatif, imbalance otonom, aritmia, dan progresi aterosklerosis (Brook *et al.*, 2010).

Hal ini sejalan dengan penelitian Künzli *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa paparan partikulat PM_{2.5} menyebabkan kerusakan endotel dan peningkatan ketebalan aorta.

6.2 Pengaruh Lama Paparan Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus*

Dari hasil penghitungan jumlah sel endotel didapatkan data bahwa pada kelompok paparan asap 2 menit tanpa diberikan ekstrak kacang tunggak rata-rata jumlah sel endotel $A_2O_4(-)G = 9,1 \pm 0.752773$. Selanjutnya untuk kelompok paparan asap 3 menit tanpa ekstrak kacang tunggak rata-rata jumlah sel endotel $A_3O_4(-)G = 6,23 \pm 0.287228$, dan untuk kelompok paparan asap 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak rata-rata jumlah sel endotel $A_4O_4(-)G = 5,48 \pm 0.655108$. Dari hasil analisis statistik Mann-Whitney diketahui terdapat perbedaan bermakna antara ketiga kelompok ini ($p < 0.05$).

Untuk pengukuran ketebalan dinding aorta, kelompok paparan asap 2 menit tanpa pemberian ekstrak kacang tunggak memiliki rata-rata nilai sebesar $A_2O_4(-)G = 110,97 \pm 3.947618 \mu m$, sedangkan pada kelompok paparan asap 3 menit tanpa ekstrak kacang tunggak rata-rata ketebalan dinding adalah $A_3O_4(-)G = 118,56 \pm 13.91994 \mu m$, dan untuk kelompok paparan asap 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak rata-rata ketebalan dinding adalah $A_4O_4(-)G = 122,20 \pm 4.966215 \mu m$. Dari hasil analisis statistik Mann-Whitney diketahui tidak ada

perbedaan signifikan antara kelompok paparan asap 2 menit dan paparan asap 3 menit ($p > 0.05$). Sedangkan untuk paparan asap 4 menit memiliki perbedaan yang signifikan baik terhadap kelompok paparan asap 2 menit maupun 3 menit ($p < 0.05$).

Terdapat kecenderungan penurunan jumlah sel endotel dimana semakin lama waktu paparan maka semakin sedikit rata-rata jumlah sel endotel. Sedangkan untuk ketebalan dinding arteri, terdapat peningkatan ketebalan yang signifikan baik pada paparan 2, 3, maupun 4 menit.

Pada patogenesis penyakit kardiovaskuler, paparan radikal bebas yang singkat namun berulang-ulang pada jaringan miokardium dapat menyebabkan iskemia yang diikuti dengan reperfusi jaringan (Mimić-Oka *et al.*, 1999). Peningkatan durasi paparan terhadap polutan di udara telah terbukti menurunkan angka harapan hidup (Pope *et al.*, 2009). Hal ini dikarenakan perbedaan durasi paparan terhadap polutan di udara menyebabkan perbedaan kadar *C-reactive protein* (CRP), perbedaan biomarker inflamasi sistemik, perbedaan tingkat trombosis, dan perbedaan tekanan darah. Semakin lama durasi paparan terhadap polutan, semakin berat reaksi inflamasi dan kerusakan yang terjadi pada pembuluh darah (Rich *et al.*, 2012).

Hal ini sejalan dengan penelitian Künzli *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa kerusakan pembuluh darah berbanding lurus dengan peningkatan durasi paparan terhadap polutan di udara.

6.3 Pengaruh Pemaparan Oksigen dan Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* yang Tidak Dipapar Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Pada kelompok paparan oksigen 4 menit, rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta masing-masing adalah $NO_4 = 8,48 \pm 0.35$ dan $83,91 \pm 0.703675$. Berdasarkan uji analisis statistik Mann-Whitney terdapat perbedaan tidak signifikan dengan kelompok perlakuan negatif ($p > 0.05$) baik untuk jumlah sel endotel maupun ketebalan dinding aorta.

Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak kacang tunggak, rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta masing-masing adalah $NG = 10,28 \pm 0.221736$ dan $80,86 \pm 0.432695$. Berdasarkan uji analisis statistik Mann-Whitney jumlah sel endotel kelompok pemberian ekstrak kacang tunggak memiliki perbedaan signifikan ($p < 0.05$) dengan kelompok kontrol negatif, sedangkan ketebalan dinding aorta memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok kontrol negatif.

Pada keadaan oksigen berlebih, jumlah oksigen yang terlalu tinggi akan memicu peningkatan nitrogen oksida, yang akan bekerja sebagai radikal bebas (Xu *et al.*, 2009). Selain itu, tekanan oksigen terlalu tinggi pada pembuluh darah akan menyebabkan jejas dan hiperpermeabilitas pembuluh darah sehingga memicu reaksi inflamasi dan penumpukan sel inflamasi di dinding pembuluh darah (Mach *et al.*, 2011). Jumlah oksigen yang terlalu tinggi dalam darah juga memicu apoptosis sel endotel (Gu *et al.*, 2003). Hasil ini sejalan dengan penelitian Gu *et al.* (2003) yang menyatakan bahwa paparan oksigen berlebih

menyebabkan penurunan jumlah sel endotel di pembuluh darah retina. Hal ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut karena hasil yang didapat tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif.

Kacang tunggak mengandung genistein, yang dapat meningkatkan jumlah *endothelial progenitor cell* dalam pembuluh darah, sehingga membentuk sel endotel baru (Walker *et al.*, 2001). Kacang tunggak juga mengandung isoflavon yang bersifat kardioprotektif seperti estrogen (Lee *et al.*, 2011). Hasil ini sejalan dengan penelitian Chan *et al.* (2007) dan Baumgartner-Parzer *et al.* (2012) bahwa konsumsi isoflavon meningkatkan jumlah sel endotel dan mengurangi ketebalan dinding pembuluh darah. Hal ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut karena hasil yang didapat tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif.

6.4 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Jumlah Sel Endotel dan Ketebalan Dinding Aorta *Rattus norvegicus* yang Dipapar Asap Mesin Berbahan Bakar Bensin

Rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta pada kelompok paparan asap 2 menit tanpa ekstrak kacang tunggak masing-masing adalah $A_2O_4(-)G = 9,1 \pm 0.752773$ dan $110,97 \pm 3.947618 \mu m$ sedangkan pada kelompok paparan asap 2 menit dengan pemberian ekstrak kacang tunggak rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta adalah $A_2O_4(+)G = 12,48 \pm 1.352467$ dan $86,22 \pm 3.254949 \mu m$. Berdasarkan hasil uji analisis statistik Mann-Whitney diketahui terdapat perbedaan signifikan antara dua

kelompok ini ($p < 0.05$) baik untuk jumlah sel endotel maupun ketebalan dinding aorta.

Pada kelompok paparan asap 3 menit tanpa ekstrak kacang tunggak, rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta masing-masing adalah $A_3O_4(-)G = 6,23 \pm 0.287228$ dan $118,56 \pm 13.91994 \mu m$, sedangkan pada kelompok paparan asap 3 menit dengan ekstrak kacang tunggak rata-rata jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta $A_3O_4(+)G = 9,9 \pm 1.148913$ dan $90,62 \pm 0.465716 \mu m$. Berdasarkan hasil uji analisis statistik Mann-Whitney diketahui terdapat perbedaan signifikan antara dua kelompok ini ($p < 0.05$) baik untuk jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta.

Perbedaan yang signifikan berdasarkan hasil analisa statistik Mann-Whitney ($p < 0.05$) juga ditemukan pada kelompok paparan asap 4 menit tanpa ekstrak kacang tunggak dengan jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta $A_4O_4(-)G = 5,48 \pm 0.655108$ dan $122,20 \pm 4.966215 \mu m$ terhadap kelompok paparan asap 4 menit disertai pemberian ekstrak kacang tunggak dengan jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta $A_4O_4(+)G = 7,4 \pm 0.408248$ dan $85,71 \pm 4.897707 \mu m$.

Jika kita membandingkan kelompok kontrol negatif dengan kelompok paparan asap yang diberi ekstrak kacang tunggak, jumlah sel endotel aorta kedua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$) pada paparan asap 4 menit disertai pemberian ekstrak kacang tunggak. Sedangkan ketebalan dinding aorta kedua kelompok memiliki perbedaan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) pada paparan asap 2 dan 3 menit disertai pemberian ekstrak kacang

tunggak. Dengan demikian dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak kacang tunggak pada *Rattus norvegicus* sebelum paparan asap kendaraan bermotor mampu menghambat kerusakan dan pelepasan sel endotel dan mencegah penebalan dinding aorta *Rattus norvegicus*.

Kacang tunggak mengandung bermacam-macam isoflavon yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi, antara lain genistein, quercetin, dan daidzein (Lattanzio *et al.*, 1997; Isobe *et al.*, 2001 dalam Kritzinger, 2005). Genistein dan quercetin berfungsi sebagai antiinflamasi dengan mencegah aktivasi kompleks protein NF- κ B (Hämäläinen *et al.*, 2007; Palanisamy *et al.*, 2011). Genistein dapat meningkatkan EPC untuk mengganti sel-sel endotel yang mengalami apoptosis (Walker *et al.*, 2001). Selain itu, genistein juga dapat menghambat produksi ROS dan agregasi platelet pada pembuluh darah (Schoene dan Gaudry, 2000). Daidzein sendiri berfungsi sebagai antioksidan dengan mencegah proses peroksidasi lipid oleh ROS (Nakagawa *et al.*, 2006).

Dari fakta yang diperoleh di atas disertai kajian teoritik, maka hipotesis yang menyatakan bahwa ekstrak kacang tunggak mencegah terjadinya inflamasi pada pembuluh darah, sehingga mencegah penurunan jumlah sel endotel dan mencegah penebalan dinding aorta akibat polusi udara akibat asap mesin berbahan bakar bensin terbukti.

Namun demikian, kelemahan dari penelitian ini adalah mesin berbahan bakar bensin untuk pengasapan yang sering rusak dan bocor dengan tekanan asap yang tidak stabil, terutama pada bulan kedua pengasapan, sehingga asap tidak terdistribusi sempurna ke dalam kotak tikus dan pada akhirnya mempengaruhi hasil penelitian. Sehingga pada penelitian selanjutnya diharapkan *Rattus norvegicus* dapat diasapi dengan durasi lebih lama dan pada tekanan asap lebih stabil.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai efek ekstrak kacang tunggak terhadap jumlah sel endotel dan ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus* yang dipapar asap kendaraan bermotor dengan lama paparan yang bervariasi, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Paparan asap kendaraan bermotor dapat menyebabkan penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus*.
2. Perbedaan lama waktu paparan memiliki pengaruh terhadap penurunan jumlah sel endotel dan peningkatan ketebalan dinding aorta *Rattus norvegicus*.
3. Pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mampu menghambat pelepasan sel endotel dan mencegah penebalan dinding aorta *Rattus norvegicus* yang dipapar asap kendaraan bermotor.

7.2 Saran

Beberapa hal yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu paparan asap kendaraan yang lebih lama disertai modifikasi mesin pengasap agar tekanan

2. lebih stabil dan variasi model pengasapan sehingga *Rattus norvegicus* tahan dipapar dalam waktu yang cukup lama.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efek berbagai isoflavon dalam kacang tunggak terhadap kondisi endotel dan dinding aorta

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR PUSTAKA

- Aaronson, Philip I., Ward, Jeremy P.T. 2007. *The Cardiovascular System at a Glance*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Addo-Quaye, A.A., Darkwa, A.A., Ampiah, M.K.P. 2011. Performance of Three Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) Varieties in Two Agro-ecological Zones of the Central Region of Ghana I: Dry Matter Production and Growth Analysis. *ARPJ Journal of Agricultural and Biological Science*, 6 (2), pp.1-9.
- Amran, Adel A., Othman, Faizah, Das, Srijit, Raj, Santhana, Nordin, Nor-Anita M.M. 2010. Aqueous Extract of *Piper sarmentosum* Decreases Atherosclerotic Lesions in High Cholesterolemic Experimental Rabbits. *Lipids in Health and Disease*, 9:44.
- Atti, Khadiga A. Abdel, Dousa, B.M., Elseed, A.M. Fadel. 2011. Effect of Substitution the Imported Concentrate by Plant Concentrate on Performance and Blood Chemistry of Broiler Chicks. *Pakistan Journal of Nutrition*, 10 (11), pp.1000-1003.
- Averill, Michelle M., Bennett, Brian J., Rattazzi, Marcello, Rodmyre, Rebecca M., Kirk, Elizabeth A., Schwartz, Stephen M., Rosenfeld, Michael A. 2009. Dietary Antioxidants and Genistein Do Not Inhibit the Progression of Established Atherosclerotic Lesions in Older Apo E Deficient Mice. *Atherosclerosis*, 203 (1), pp.82-88.
- Baghel, Satyendra Singh, Shrivastava, Nikhil, Baghel, Rajendra Singh, Agrawal, Preeti, Rajput, Sarlesh. 2012. A Review of Quercetin: Antioxidant and Anticancer Properties. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1 (1), pp.146-160.
- Baumgartner-Parzer, Sabina M., Waldenberger, Ferdinand Rudolf, Freudenthaler, Angelika, Ginouves-Guerdoux, Amandine, McGahie, David, Gatto, Hugues. 2012. The Natural Antioxidants, Pomegranate Extract and Soy Isoflavones, Favourably Modulate Canine Endothelial Cell Function. *ISRN Veterinary Science*, 2012 (2012):590328.
- Beg, Tanveer, Sidique, Yasir Hasan, Ara, Gulshan, Afzal, Mohammad. 2007. Antimutagenic Evaluation of Genistein, a Polyphenol, in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Biomedical Research*, 18 (2), pp.139-143.
- Berger, Josef, Walczysko, Sylvia, Pávkova, Jitka, Gutzeit, Herwig O. 2003. Effects of Genistein on Insect Haemocytes. *Journal of Applied Biomedicine*, 1, pp.161-168.

- Bhagwat, Seema, Haytowitz, David B., Holden, Joanne M. 2008. USDA Database for the Isoflavone Content of Selected Foods. Beltsville: U.S. Department of Agriculture.
- Bórras, Consuelo, Gambini, Juan, Gómez-Cabrera, M. Carmen, Sastre, Juan, Pallardó, Federico V., Mann, Giovanni E., Viña, Jose. 2006. Genistein, a Soy Isoflavone, Up-regulates Expression of Antioxidant Genes: Involvement of Estrogen Receptors, ERK1/2, and NFκB. *The FASEB Journal*, 20, pp.e1476-e1481.
- Bressani, R. 1985. *Cowpea Research, Production and Utilization*. Winchester: Wiley&Sons.
- Brook, Robert D., Rajagopalan, Sanjay, Pope, C. Arden III, Brook, Jeffrey R., Bhatnagar, Aruni, Diez-Roux, Ana V., Holguin, Fernando, Hong, Yulin, Luepker, Russell V., Mittleman, Murray A., Peters, Annette, Siscovick, David, Smith, Sidney C. Jr., Whitel, Laurie, Kaufman, Joel D. 2010. Particulate Matter Air Pollution and Cardiovascular Disease: An Update to the Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation*, 121, pp.2331-2378.
- Chan, Yap-Hang, Lau, Kui-Kai, Yiu, Kai-Hang, Li, Sheung-Wai, Chan, Hiu-Ting, Tam, Sidney, Shu, Xiao-Ou, Lau, Chu-Pak, Tse, Hung-Fat. 2011. Isoflavone Intake in Persons at High Risk of Cardiovascular Events: Implications for Vascular Endothelial Function and the Carotid Atherosclerotic Burden. *Am J Clin Nutr*, 2007, 86, pp.938-45.
- Chen, Tong-Jong, Jeng, Jing-Yueh, Lin, Cheng-Wei, Wu, Chin-Yen, Chen, Yen-Chou. 2006. Quercetin Inhibition of ROS-dependent and -independent Apoptosis in Rat Glioma C6 Cells. *Toxicology*, 223 (1-2), pp.113-126.
- Chukeatirote, Ekachai, Saisavoey, Tanatorn. 2009. Antimicrobial Property and Antioxidant Composition of Crude Extracts of *Pueraria mirifica*, *Butea superba*, and *Mucuna macrocarpa*. *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, 3 (1), pp.212-221.
- Danciu, Corina Tiulea, Soica, Codruta, Csanyi, Erzsebet, Ambrus, Rita, Feflea, Stefana, Peev, Camelia, Dehelean, Cristina. 2012. Changes in the Anti-Inflammatory Activity of Soy Isoflavonoid Genistein Versus Genistein Incorporated in Two Types of Cyclodextrin Derivatives. *Chemistry Central Journal*, 6 (58).
- Davis, J. Mark, Murphy, E. Angela, Carmichael, Martin D., Davis, Ben. 2009. Quercetin Increases Brain and Muscle Mitochondrial Biogenesis and Exercise Tolerance. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 296, pp.R1071-R1077.

- de Lemos, M.L. 2001. Effects of Soy Phytoestrogens Genistein and Daidzein on Breast Cancer Growth. *Annals of Pharmacotherapy*, 35 (9), pp.11118-11121.
- Deanfield, J., Donald, A., Ferri, C., Giannattasio, C., Halcox, J., Halligan, S., Lerman, A., Mancina, G., Oliver, J.J., Pessina, A.C., Rizzoni, D., Rossi, G.P., Salvetti, A., Schiffrin, E.L., Taddei, S., Webb, D.J. 2005. Endothelial Function and Dysfunction. Part I: Methodological Issues for Assessment in the Different Vascular Beds: A Atatement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*, 23 (1), pp.7-17.
- Devia, Y.P., A., Lasmini, Indriastuti, A.K. 2011. Traffic Management of Signal Intervention Based on Minimizing Dispersion of Air Pollution Impact. *Journal of Economics and Engineering*, 2 (1), pp.44-58.
- Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. 29th Ed. 2000. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Ebele, Obinaju Blessing. 2012. Atherosclerotic Events: The Role of Air Particulate Matter. *Journal of Molecular Biology Research*, 2 (1), pp.42-53.
- Egert, Sarah, Wolfram, Siegfried, Bosy-Westphal, Anja, Boesch-Saadatmandi, Christine, Wagner, Anika Eva, Frank, Jan, Rimbach, Gerald, Mueller, Manfred James. 2008. Daily Quercetin Supplementation Dose-Dependently Increases Plasma Quercetin Concentrations in Healthy Humans. *J Nutr*, 138, pp.1615-1621.
- Ehrlich, Steven D. 2010. Atherosclerosis. [Online] Available at: HYPERLINK <http://www.umm.edu/altmed/articles/atherosclerosis-000016.htm> [Accessed 17 Desember 2011].
- Environmental Fact Sheet*. 2008. Concord: New Hampshire Department of Environmental Services.
- Frota, Karoline de Macedo Gonçalves, Matias, Andrea Carvalheiro Guerra, Arêas, José Alfredo Gomes. 2010. Influence of Food Components on Lipid Metabolism: Scenarios and Perspective on Control and Prevention of Dyslipidemias. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 30 (Supl.1), pp. 7-14.
- Galipeau, Denise, Verma, Subodh, McNeill, John. 2002. Female Rats Are Protected Against Fructose-induced Changes in Metabolism and Blood Pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 283, pp.H2478-2484.

- Geleijnse, J.M., Vermeer, C., Grobbee, D.E. *et al.* 2004. Dietary Intake of Menaquinone Is Associated with a Reduced Risk of Coronary Heart Disease: The Rotterdam Study. *J Nutr.*, 134 (11), pp.3100-5.
- Glantz, Stanton A. 2002. Air Pollution as a Cause of Heart Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 39, pp.943-945.
- Gu, Xiaolin, El-Remessy, Azza B., Brooks, Steven E., Al-Shabrawey, Mohamed, Tsai, Nai-Tsi, Caldwell, Ruth, B. Hyperoxia Induces Retinal Vascular Endothelial Cell Apoptosis Through Formation of Peroxynitrite. *Am J Physiol Cell Physiol*, 285, pp.C546-C554.
- Gusnita, Dessy. 2010. *Green Transport: Transportasi Ramah Lingkungan dan Kontribusinya dalam Mengurangi Polusi Udara*. *Berita Dirgantara*, 11(2), pp.66-71.
- Halim, Dwi Putra, Ghozali, Paulus Anwar. 2011. Korelasi Lama Bekerja dengan Nilai Kapasitas Vital Paru pada Operator Stasiun Pengisian Bahan Bakar Umum (SPBU) Sokaraja – Purwokerto. [Online] Available at: HYPERLINK [http://kedokteran.unsoed.ac.id/Files/Jurnal/mandala%20september%202011/KORELASI%20LAMA%20BEKERJA%20DENGAN%20NILAI%20KAPASITAS%20VITAL%20PARU%20PADA%20OPERATOR%20STASIUN%20PENGISIAN%20BAHAN%20BAKAR%20UMUM%20\(SPBU\)%20SOKARAJA%20E2%80%93%20PURWOKERTO.pdf](http://kedokteran.unsoed.ac.id/Files/Jurnal/mandala%20september%202011/KORELASI%20LAMA%20BEKERJA%20DENGAN%20NILAI%20KAPASITAS%20VITAL%20PARU%20PADA%20OPERATOR%20STASIUN%20PENGISIAN%20BAHAN%20BAKAR%20UMUM%20(SPBU)%20SOKARAJA%20E2%80%93%20PURWOKERTO.pdf) [Accessed 14 April 2012].
- Hanafiah, Kemas Ali. 2005. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Ed. Rev. 10. Jakarta: RajaGrafindo Persada.
- Hämäläinen, M., Nieminen R., Vuorela P., Heinonen M., Moilanen E. 2007. Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF- κ B Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF- κ B Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in Activated Macrophages. *Mediators in Inflammation*, 2007:45673.
- Hirota, Keiko. 2010. Comparative Studies on Vehicle Related Policies for Air Pollution Reduction in Ten Asian Countries. *Sustainability*, 2, pp.145-162.
- Ji, Guiyuan, Zhang, Yupei, Yang, Qinhe, Cheng, Shaobin, Hao, Jing, Zhao, Xihong, Jiang, Zhuoqin. 2012. Genistein Supresses LPS-Induced Inflammatory Response through Inhibiting NF- κ B following AMP Kinase Activation in RAW 264.7 Macrophages. *Plos One*, 7 (12), pp.1-7.
- Junqueira, Luiz Carlos, Carneiro, José. 2003. *Basic Histology: Text & Atlas*. 10th Edition. Columbus: The McGraw-Hill Companies, Inc.

- Kelly, Frank J. 2003. Oxidative Stress: Its Role in Air Pollution and Adverse Health Effects. *Occup Environmen Med*, 60, pp.612-616.
- Kintono, Rio A. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) Serum Tikus yang Diovariectomi. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Kritzinger, Q. 2005. Antimicrobial Activity and Fumonisin Associated with Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp). Thesis. University of Pretoria.
- Kusminingrum, Nanny, Gunawan, G. 2008. Polusi Udara Akibat Aktivitas Perkotaan Bermotor di Jalan Perkotaan Pulau Jawa dan Bali. [Online] Available at: HYPERLINK <http://www.pusjatan.pu.go.id/upload/jurnal/2008/JN2503DES0806.pdf> [Accessed 14 April 2012].
- Künzli, N., Jerrett, M., Mack, W.J., *et al.* 2005. Ambient Air Pollution and Atherosclerosis in Los Angeles. *Environmental Health Perspectives*, 113 (2), pp.201-206.
- Kwaye, Romanus Galako. 1998. Studies on Nodulation and Yield of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp). Dissertation. Department of Botany University of Nigeria.
- Le Tertre, A., Medina, S., Samoli, E., Forsberg, B., Michelozzi, P., Boumghar, A., Vonk, J.M., Bellini, A., Atkinson, R., Ayres, J.G., Sunyer, J., Schwartz, J., Katsouyanni, K. 2002. Short-Term Effects of Particulate Air Pollution on Cardiovascular Diseases in Eight European Cities. *J Epidemiol Community Health*, 56, pp. 773-779.
- Lee, Choong-Sik, Kwon, Su-Jin, Na, Sun-Young, Lim, Seung-Pyung, Lee, Jung-Hee. 2004. Genistein Supplementation Inhibits Atherosclerosis with Stabilization of the Lesions in Hypercholesterolemic Rabbits. *J Korean Med Sci*, 19, pp.656-61.
- Lee, Sang Min, Lee, Tae Hoon, Cui, En-Ji, Baek, Nam-In, Hong, Seong Gil, Chung, In-Sik, Kim, Jiyoung. 2011. Anti-inflammatory Effects of Cowpea (*Vigna sinensis* K.) Seed Extracts and Its Bioactive Compounds. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 54 (5), pp.710-717.
- Li, Hong-fang, Wang, Long-de, Qu, Song-yi. 2004. Phytoestrogen Genistein Decreases Contractile Response of Aortic Artery *in Vitro* and Arterial Blood Pressure *in Vivo*. *Acta Pharmacol Sin*, 25 (3), pp.313-318.

- Lieb, W., Gona, P., Larson, M.G., Massaro, J.M., Lipinska, I., Keaney, J.F., Rong, J., Corey, D., Hoffman, U., Fox, C.S., Vasan, R.S., Benjamin, E.J., O'Donnell C.J., Kathiresan S. 2010. Biomarkers of the Osteoprotegerin Pathway: Clinical Correlates, Subclinical Disease, Incident Cardiovascular Disease, and Mortality. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 30 (9), pp.1849–54.
- Lo, Yu-Li. 2012. A Potential Daidzein Derivative Enhances Cytotoxicity of Epirubicin on Human Colon Adenocarcinoma Caco-2 Cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, pp.158-176.
- Lodama, Kafua Emlo. 2010. Fumonisin Production by and Biological Control of *Fusarium* Species Associated with Cowpea Seed. Thesis. Department of Plant Science University of Pretoria.
- Mach, W.J., Thimmesch, A.R., Pierce, J.T., Pierce, J.D. 2011. Consequences of Hyperoxia and the Toxicity of Oxygen in the Lung. *Nursing Research and Practice*, 2011:260482.
- Magloire, Nkouannessi. 2005. The Genetic, Morphological, and Physiological Evaluation of African Cowpea Genotypes. Thesis. Department of Plant Sciences (Plant Breeding) University of the Free State.
- Mahamane, Sabiou. 2008. Evaluation of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp) Genotypes for Adaptation to Low Soil Phosphorus Conditions and to Rock Phosphate Application. Dissertation. Texas A&M University.
- Makoi, Joachim H.J.R. 2009. Seed Flavonoid Concentration in Cowpea Genotypes and the Effect of Plant Destiny on Growth, N₂ Fixation, and Rhizosphere Phosphatases and Grain Yield of Cowpea Intercropped with Sorghum. Dissertation. Faculty of Applied Science Cape Peninsula University of Technology.
- Maton, Anthea, Hopkins, Jean, McLaughlin, Charles William, Johnson, Susan, Warner, Maryanna Quon, LaHart, David, Wright, Jill D. 1993. *Human Biology and Health*. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Matsumoto, Takayuki, Kobayashi, Tsuneo, Kikuchi, Toyohiko, Honda, Toshio, Kamata, Katsuo. 2005. Effects of Dual-action Genistein Derivatives on Relaxation in Rat Aorta. *J. Smooth Muscle Res.*, 41 (1), pp.23-33.
- Meyer, G., André, L., Tanguy, S., Boissiere, J., Farah, C., Lopez-Lauri, F., Gayrard, S., Richard, S., Boucher, F., Razorla, O., Obert, P., Reboul, C. 2010. Simulated Urban Carbon Monoxide Air Pollution Exacerbates Rat Heart Ischemia-Reperfusion Injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 298, pp.1445-1453.

Miller, Kristin A., Siscovick, David S., Sheppard, Lianne, Shepherd, Kristen, Sullivan, Jeffrey H., Anderson, Garnet L., Kaufman, Joel D. 2007. Long-Term Exposure to Air Pollution and Incidence of Cardiovascular Events in Women. *N Engl J Med*, 356, pp.447-58.

Mills, Nicholas L., Donaldson, Ken, Hadoke, Paddy W., Boon, Nicholas A., MacNee, William, Cassee, Flemming R., Sandström, Blomberg, Anders, Newby, David E. 2009. Adverse Cardiovascular Effects of Air Pollution. *Cardiovascular Medicine*, 6(1), pp.36-44.

Mimić-Oka, Jasmina, Simić, Dragan V., Simić, Tatjana P. 1999. Free Radicals in Cardiovascular Diseases. *Medicine and Biology*, 6 (1), pp.11-22.

Mitchell, Richard N., Cotran, Ramzi, S. 2003. Inflamasi Akut dan Kronis. Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L. (Eds), *Buku Ajar Patologi Robbins*, Muhammad Asroruddin, Huriawati Hartanto, Nurwany Damaniah (penerjemah). 2004. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Nakagawa, Kanako, Adachi, Junko, Wong, Max C.Y., Ueno, Yasuhiro, 2006. Protective Effect of Daidzein against Acute Ethanol-induced Lipid Peroxidation in Rat Jejunum. *Kobe J. Med Sci.*, 52 (5), pp.141-149.

Nascimento, L.F.C. 2011. Air Pollution and Cardiovascular Hospital Admissions in a Medium-sized City in São Paulo State, Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 44, pp.720-724.

Nichols, W.W., O'Rourke, M.F. 1998. *McDonald's Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental, dan Clinical Examples*. 4th Edition. London: Edward Arnold.

Niessen, S.E., Nicholls, S.J., Sipahi, I. et al. 2006. Effect of Very High-Intensity Statin Therapy on Regression of Coronary Atherosclerosis: The ASTEROID Trial. *JAMA*, 295 (13), pp.1556-65.

Okwu, D.E., Orji, B.O. 2007. Phytochemical Composition and Nutritional Quality of *Glycine max* and *Vigna unguiculata* (L) Walp. 2007. *American Journal of Food Technology*, 2(6), pp.512-520.

Olowe, Tayo. 2009. Cowpea Germplasm Resistant to *Meloidogyne arenaria* Race 1, *Meloidogyne Incognita* Race 4, and *Meloidogyne javanica*. *European Journal of Scientific Research*, 28 (3), pp.338-350.

- Omran, Abdelnasr. 2010. Road Traffic Nuisance in Residential and Commercial Areas in Malaysia: A Case Study in Pinang Island. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 2 (11), pp.6845-6856.
- Paget, G.E., Barnes, J.M. 1964. Toxicity Tests. In: Lawrence D.R., Bacharach A.L., (Eds), *Evaluation of Drug Activation: Pharmacometrics*. London: Academic Press.
- Palanisamy, N., Kannappan, S., Anuradha, C.V. 2011. Genistein Modulates NF- κ B-associated Renal Inflammation, Fibrosis and Podocyte Abnormalities in Fructose-fed Rats. *Eur J Pharmacol*, 667 (1-3), pp.355-64.
- Pope, C. Arden, III, Ezzati, Majid, Dockery, Douglas W. 2006. Health Effects of Fine Particulate Air Pollution: Lines that Connect. *J. Air & Waste Manage.*, 56, pp.709-742.
- Pope, C. Arden, III, Dockery, Douglas W. 2009. Fine-Particulate Air Pollution and Life Expectancy in the United States. *N Engl J Med*, 360 (4), pp.376-386.
- Poursafa, Parinaz, Kelishadi, Roya, Lahijanzadeh, Ahmadreza, Modaresi, Mohammadreza, Javanmard, Shaghayegh Haghjouy, Assari, Raheleh, Amin, Mohammad Mehdi, Moattar, Faramarz, Ammini, Abbasgholi, Sadeghian, Babak. 2011. The Relationship of Air Pollution and Surrogate Markers of Endothelial Dysfunction in a Population-based Sample of Children. [Online] Available at: HYPERLINK <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/11/115> [Accessed 23 Maret 2012].
- Price, P.A., et al. 2000. Warfarin-Induced Artery Calcification Is Accelerated by Growth and Vitamin D. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 20 (2), pp.317-27. doi:10.1161/01.ATV.20.2.317.
- Röhrdanz, Elke, Ohler, Sandra, Tran-Thi, Quynh-Hoa, Kahl, Regine. 2002. The Phytoestrogen Daidzein Affects the Antioxidant Enzyme System of Rat Hepatoma H4IIE Cells. *J. Nutr.*, 132, pp.370-375.
- Satriyo, Saputro. 2008. Studi Kondisi Kimiawi Penyebaran Pb, Debu, dan Kebisingan di Kota Jakarta. *Jurnal Kajian Ilmiah Lembaga Penelitian Ubhara Jaya*, 9(2), pp.862-891.
- Schoen, Frederick J., Cotran, Ramzi S. 2003. Pembuluh Darah. Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L. (Eds), *Buku Ajar Patologi Robbins*, Muhammad Asroruddin, Huriawati Hartanto, Nurwany Damaniah (penerjemah). 2004. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Sharma, Rakesh, Singh, Ram B. 2004. MRI of Coronary Artery Atherosclerosis in Rabbits: Histopathology-MRI Correlation and Atheroma Characterization. *Thrombosis Journal*, 2, pp.5.
- Schoene, Norberta W., Guidry, Catherine A. 2000. Genistein Inhibits Reactive Oxygen Species (ROS) Production, Shape Change, and Aggregation in Rat Platelets. *Nutrition Research*, 20 (1), pp.47-57.
- Sies, Helmut. 1997. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Experimental Physiology*, 82, pp.291-295.
- Stedman's Medical Dictionary. 28th Edition*. 2005. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins.
- Stewart, Laura K., Soileau, Jeff L., Ribnicky, David, Wang, Zhong Q., Raskin, Ilya, Poulev, Alexander, Majewski, Martin, Cefalu, William T., Gettys, Thomas W. 2008. Quercetin Transiently Increases Energy Expenditure But Persistently Decreases Circulating Markers of Inflammation in C57BL/6J Mice Fed a High-fat Diet. *Metabolism*. 2008 July; 57 (7 Suppl 1): S39–S46. doi:10.1016/j.metabol.2008.03.003.
- Strauss, M.H., Hall, A.S. 2006. Angiotensin Receptor Blockers May Increase Risk of Myocardial Infarction: Unraveling the ARB-MI Paradox. *Circulation*, 114 (8), pp. 838–54. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.594986.
- Suwa, Tatsushi, Hogg, James C., Quinlan, Kevin B., Ohgami, Akira, Vincent, Renaud, van Eeden, Stephan F. 2002. Particulate Air Pollution Induces Progression of Atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 39 (6), pp.935-942.
- Vogiatzi, Georgia, Tousoulis, Dimitris, Stefanadis, Christodoulos. 2009. The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis. *Hellenic J Cardiol*, 50, pp.402-409.
- Walker, H.A., Dean, T.S., Sanders, T.A.B., Jackson, G., Ritter, J.M., Chowienczyk, P.J. The Phytoestrogen Genistein Produces Acute Nitric Oxide–Dependent Dilation of Human Forearm Vasculature With Similar Potency to 17 β -Estradiol. *Circulation*, 103, pp.258-262.
- Xu, Xiongfei, Wang, Zhongzhuang, Li, Quan, Xiao, Xiang, Lian, Qinglin, Xu, Weigang, Sun, Xuejun, Tao, Hengyi, Li, Runping. Endothelial Nitric Oxide Synthase Expression is Progressively Increased in Primary Cerebral Microvascular Endothelial Cells During Hyperbaric Oxygen Exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2 (1), pp.7-13.

Yang, Shih-Hung, Liao, Chih-Chen, Syu, Jhih-Pu, Jeng, Chung-Jiuan, Wang, Seu-Mei. 2012. Daidzein Induces Neuritogenesis in DRG Neuronal Cultures. *Journal of Biomedical Science*, 19, pp.80.

Yousef, Mokhtar I., Kamel, Kamel I., Esmail, Alshaimaa M., Baghdadi, Hoda H. 2004. Antioxidant Activities and Lipid Lowering Effects of Isoflavone in Male Rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 42, pp.1497-1503.

Zhen, Panpan, Zhao, Qian. Hou, Dandan, Liu, Teng, Jiang, Dongqiao, Duan, Jinhong, Lu, Lingqiao, Wang, Wen. 2012. Genistein Attenuates Vascular Endothelial Impairment in Ovariectomized Hyperhomocysteinemic Rats. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, pp.1-10.



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diana Bonton Wardanita

NIM : 0910710055

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 Februari 2013

Yang membuat pernyataan,

(Diana Bonton Wardanita)

NIM. 0910710055

LAMPIRAN 1

Dokumentasi Penelitian

Proses Pengasapan



Proses Anestesi dan Mematikan *Rattus norvegicus*



Pembedahan Tikus



Aorta *Rattus norvegicus*



Pengawetan Organ dan Pembuatan Sampel



LAMPIRAN 2

Data Berat Badan Tikus

Berat rata-rata saat penelitian

Penimbangan ke-	Kelompok								
	A2O4(-)G	A2O4(+)G	A4O4(-)G	A4O4(+)G	N	N + O4	N + G	A3O4(-)G	A3O4(+)G
1	341.2	337	359.6	356.2	400.33	412.75	400.25	399.25	392.25
2	344.6	346.2	363.2	374.8	410.28	422.31	406.75	407.3	403.5
3	356.6	355	380.5	370					

Berat pada hari pembedahan

No Tikus	Kelompok								
	A2O4(-)G	A2O4(+)G	A4O4(-)G	A4O4(+)G	N	N + O4	N + G	A3O4(-)G	A3O4(+)G
1	347	422	348	431		418	437	416	438
2	423	345	313	383	385		412	345	433
3	326	374	391	310	408		379	384	378
4	410	391	349	396	398	435	439	430	385

LAMPIRAN 3**Perhitungan Dosis Ekstrak Kacang Tunggak**

Perhitungan didasarkan pada kandungan genistein dalam ekstrak kacang tunggak yaitu:

$$= 140.7 \text{ ppm}$$

$$= 140.7 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$= 140.7 \text{ mg/1000 ml}$$

Dosis efektif genistein dalam ekstrak kacang tunggak berdasarkan penelitian tentang efek antioksidan ekstrak kacang tunggak pada tikus yang di ovariectomi adalah 0.5 mg/kgBB.

Rata - rata berat badan tikus kelompok dengan pemberian ekstrak kacang tunggak pada bulan pertama adalah 370 gr.

Untuk 10 tikus perhari

$$\frac{3700}{1000} \text{ kg} \times 0.5 \text{ mg/kgBB} = 1.8 \text{ mg/hari}$$

Untuk 10 tikus per 30 hari

$$1.8 \text{ mg/hari} \times 30 = 55.5 \text{ mg genistein}$$

$$\frac{55.5 \text{ mg}}{140.7 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ml} = 394.4 \text{ ml/hari}$$

Untuk 1 tikus perhari

$$394.4 \text{ ml} : 3 = 131.5 \text{ ml (10 ekor)}$$

$$131.5 \text{ ml} : (10 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}) = 1.3 \text{ ml/ekor/hari}$$

Dijadikan 2 ml → di tambah 0.7 ml air

Untuk 10 ekor per 10 hari

131.5 ml + 70 ml air = 201.5 ml



Rata - rata berat badan tikus kelompok dengan pemberian ekstrak kacang tunggak pada bulan kedua adalah 396.25 gr.

Untuk 8 tikus perhari

$$\frac{3170}{1000} \text{ kg} \times 0.6 \text{ mg/kg BB} = 1.902 \text{ mg/hari}$$

Untuk 8 tikus per 34 hari

$$1.902 \text{ mg/hari} \times 34 = 64.67 \text{ mg genistein}$$

$$\frac{64.67 \text{ mg}}{160.7 \text{ mg}} \times 1000 \text{ ml} = 402.43 \text{ ml/hari}$$

Untuk 1 tikus perhari

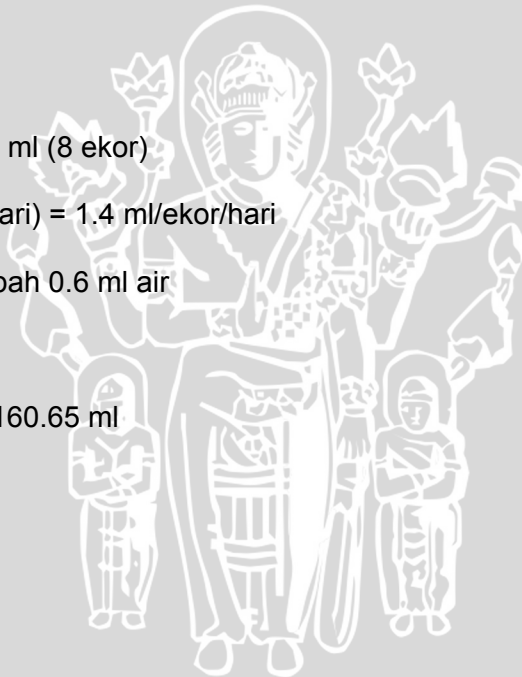
$$402.43 \text{ ml} : 3.4 = 118.36 \text{ ml (8 ekor)}$$

$$118.36 \text{ ml} : (8 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari}) = 1.48 \text{ ml/ekor/hari}$$

Dijadikan 2 ml → di tambah 0.6 ml air

Untuk 10 ekor per 8 hari

$$118.36 \text{ ml} + 60 \text{ ml air} = 178.36 \text{ ml}$$



LAMPIRAN 4

Hasil Penghitungan Jumlah Sel Endotel

Kelompok	Jumlah Sel Endotel		Standar Deviasi	
N	8.9	9.15	0.479583	0.48
N	9.8			
N	9.2			
N	8.7			
N + O4	8.3	8.48	0.35	
N + O4	8.9			
N + O4	8.6			
N + O4	8.1			
N + G	10.2	10.28	0.221736	0.22
N + G	10			
N + G	10.4			
N + G	10.5			
A2O4(-)G	10	9.10	0.752773	0.75
A2O4(-)G	8.7			
A2O4(-)G	8.3			
A2O4(-)G	9.4			
A2O4(+)G	13.5	12.48	1.352467	1.35
A2O4(+)G	13.7			
A2O4(+)G	11.8			
A2O4(+)G	10.9			
A3O4(-)G	5.9	6.23	0.287228	0.29
A3O4(-)G	6.6			
A3O4(-)G	6.2			
A3O4(-)G	6.2			
A3O4(+)G	9.6	9.90	1.148913	1.15
A3O4(+)G	11.6			
A3O4(+)G	9.2			
A3O4(+)G	9.2			
A4O4(-)G	5.9	5.48	0.655108	0.66
A4O4(-)G	5.7			
A4O4(-)G	5.8			
A4O4(-)G	4.5			
A4O4(+)G	7.1	7.40	0.408248	0.41
A4O4(+)G	7			
A4O4(+)G	7.8			
A4O4(+)G	7.7			

LAMPIRAN 5

Hasil Pengukuran Ketebalan Dinding Aorta

Kelompok	Ketebalan dinding arteri		Standar Deviasi	
N	80.19	82.61	1.614249	1.61
N	83.4			
N	83.49			
N	83.36			
N + O4	83.93	83.91	0.703675	0.70
N + O4	83.46			
N + O4	83.36			
N + O4	84.9			
N + G	81	80.86	0.432695	0.43
N + G	80.22			
N + G	81.15			
N + G	81.08			
A2O4(-)G	111.23	110.97	3.947618	3.95
A2O4(-)G	106.24			
A2O4(-)G	110.52			
A2O4(-)G	115.88			
A2O4(+)G	83.47	86.22	3.254949	3.25
A2O4(+)G	89.68			
A2O4(+)G	88.32			
A2O4(+)G	83.42			
A3O4(-)G	120.3	118.56	13.91994	13.92
A3O4(-)G	105.51			
A3O4(-)G	111.1			
A3O4(-)G	137.33			
A3O4(+)G	91.01	90.62	0.465716	0.46
A3O4(+)G	90.25			
A3O4(+)G	90.18			
A3O4(+)G	91.03			
A4O4(-)G	123.65	122.20	4.966215	5.00
A4O4(-)G	121.57			
A4O4(-)G	115.83			
A4O4(-)G	127.76			
A4O4(+)G	80	85.71	4.897707	4.90
A4O4(+)G	84.61			
A4O4(+)G	91.85			
A4O4(+)G	86.38			

LAMPIRAN 6

Analisis Data Jumlah Sel Endotel

Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Sel Endotel	.074	36	.200 [*]	.976	36	.596

a. Lilliefors Significance Correction

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

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Sel Endotel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.436	8	27	.002

Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank
Jumlah Sel Endotel	N	4	21.25
	N + O4	4	15.75
	N + G	4	29.38
	A2O4(-)G	4	20.88
	A2O4(+)G	4	34.25
	A3O4(-)G	4	6.38
	A3O4(+)G	4	25.50
	A4O4(-)G	4	2.63
	A4O4(+)G	4	10.50
	Total	36	

Test Statistics^{a,b}

	Jumlah Sel Endotel
Chi-Square	32.443
df	8
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok
Perlakuan dan Kontrol**Uji Mann-Whitney****Ranks**

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N	4	6.13	24.50
	N + O4	4	2.88	11.50
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	11.500
Z	-1.888
Asymp. Sig. (2-tailed)	.059
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan
Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N	4	2.50	10.00
	N + G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N	4	4.63	18.50
	A2O4(-)G	4	4.38	17.50
	Total	8		

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-.145
Asymp. Sig. (2-tailed)	.885
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.886 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	4	2.50	10.00
A2O4(+)-G	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel N	4	6.50	26.00
A3O4(-)G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel N	4	3.50	14.00
A3O4(+)G	4	5.50	22.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.183
Asymp. Sig. (2-tailed)	.237
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks				
	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N	4	6.50	26.00
	A4O4(-)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks				
	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N	4	6.50	26.00
	A4O4(+)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000

Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + O4	4	2.50	10.00
	N + G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + O4	4	3.38	13.50
	A2O4(-)G	4	5.63	22.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	13.500
Z	-1.307
Asymp. Sig. (2-tailed)	.191
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + O4	4	2.50	10.00
	A2O4(+)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel N + O4	4	6.50	26.00
A3O4(-)G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel N + O4	4	2.50	10.00
A3O4(+)G	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	13.500
Z	-1.307
Asymp. Sig. (2-tailed)	.191
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel N + O4	4	6.50	26.00
A4O4(-)G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--------------------------------------	---	-----------	--------------

Jumlah Sel Endotel	N + O4	4	6.50	26.00
	A4O4(+)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + G	4	6.38	25.50
	A2O4(-)-G	4	2.63	10.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.178
Asymp. Sig. (2-tailed)	.029
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + G	4	2.50	10.00
	A2O4(+)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + G	4	6.50	26.00
	A3O4(-)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + G	4	5.50	22.00
	A3O4(+)G	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.162
Asymp. Sig. (2-tailed)	.245
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + G	4	6.50	26.00
	A4O4(-)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000

Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	N + G	4	6.50	26.00
	A4O4(+)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A2O4(-)-G	4	2.50	10.00
	A2O4(+)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A2O4(-)G	4	6.50	26.00
	A3O4(-)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A2O4(-)G	4	3.75	15.00

A3O4(+)-G	4	5.25	21.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.871
Asymp. Sig. (2-tailed)	.384
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel A2O4(-)-G	4	6.50	26.00
A4O4(-)-G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel A2O4(-)G	4	6.50	26.00
A4O4(+)G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel A2O4(+)G	4	6.50	26.00
A3O4(-)G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.178
Asymp. Sig. (2-tailed)	.029
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A2O4(+)-G	4	6.25	25.00
	A3O4(+)-G	4	2.75	11.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.033
Asymp. Sig. (2-tailed)	.042
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A2O4(+)-G	4	6.50	26.00
	A4O4(-)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A2O4(+)-G	4	6.50	26.00
	A4O4(+)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A3O4(-)G	4	2.50	10.00
	A3O4(+)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A3O4(-)G	4	6.38	25.50
	A4O4(-)G	4	2.63	10.50
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.191
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A3O4(-)G	4	2.50	10.00
	A4O4(+)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol



Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A3O4(+)-G	4	6.50	26.00
	A4O4(-)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A3O4(+)-G	4	6.50	26.00
	A4O4(+)-G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a
--------------------------------	-------------------

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Sel Endotel	A4O4(-)G	4	2.50	10.00
	A4O4(+)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Sel Endotel
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

LAMPIRAN 7

Perbandingan antar kelompok		Nilai p	Arti
N	N + O ₄	0.059	Penurunan tidak bermakna
	N + G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.885	Penurunan tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.020	Penurunan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.237	Peningkatan tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
N + O ₄	N + G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.191	Peningkatan tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.020	Penurunan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.020	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
N + G	A ₂ O ₄ (-)G	0.029	Penurunan bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.020	Penurunan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.245	Penurunan tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
A ₂ O ₄ (-)G	A ₂ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.020	Penurunan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.384	Penurunan tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Penurunan bermakna
A ₂ O ₄ (+)G	A ₃ O ₄ (-)G	0.020	Penurunan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.042	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
A ₃ O ₄ (-)G	A ₃ O ₄ (+)G	0.019	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.028	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.020	Peningkatan bermakna
A ₃ O ₄ (+)G	A ₄ O ₄ (-)G	0.020	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.020	Penurunan bermakna
A ₄ O ₄ (-)G	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna

LAMPIRAN 8

Analisis Data Ketebalan Dinding Aorta

Uji Normalitas

	Tests of Normality ^a					
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	.259	36	.000	.824	36	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.685	8	27	.148

Uji Kruskal-Wallis

Ranks			
	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N	4	7.88
	N + O4	4	12.13
	N + G	4	4.50
	A2O4(-)G	4	28.25
	A2O4(+)G	4	14.75
	A3O4(-)G	4	30.25
	A3O4(+)G	4	21.50
	A4O4(-)G	4	33.00
	A4O4(+)G	4	14.25

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank
Ketebalan Tunika Intima -	N	4	7.88
	N + O4	4	12.13
	N + G	4	4.50
	A2O4(-)G	4	28.25
	A2O4(+)G	4	14.75
	A3O4(-)G	4	30.25
	A3O4(+)G	4	21.50
	A4O4(-)G	4	33.00
	A4O4(+)G	4	14.25
Total		36	

Test Statistics^{a,b}

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Chi-Square	30.059
Df	8
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok
Perlakuan dan Kontrol

Uji Mann-Whitney

Ranks				
	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N	4	3.38	13.50
	N + O4	4	5.63	22.50
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	13.500
Z	-1.307
Asymp. Sig. (2-tailed)	.191
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan
Kontrol

Ranks				
	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N	4	5.50	22.00
	N + G	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)			
N	4	2.50	10.00
A2O4(-)G	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--------------------------------	---	-----------	--------------

Ketebalan Tunika Intima -	N	4	3.00	12.00
Media (μm)	A2O4(+)-G	4	6.00	24.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.732
Asymp. Sig. (2-tailed)	.083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima -	N	4	2.50	10.00
Media (μm)	A3O4(-)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a
--------------------------------	-------------------

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks				
Kelompok Perlakuan dan Kontrol		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (µm)	N	4	2.50	10.00
	A3O4(+)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	Ketebalan Tunika Intima - Media (µm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N	4	2.50	10.00
	A4O4(-)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan
Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N	4	3.50	14.00
	A4O4(+)G	4	5.50	22.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	6.50	26.00
	N + G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	2.50	10.00
	A2O4(-)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	3.75	15.00
	A2O4(+)G	4	5.25	21.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	2.50
	A3O4(-)G	4	6.50
Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	2.50	10.00
	A3O4(+)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	2.50	10.00
	A4O4(-)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + O4	4	3.75	15.00
	A4O4(+)-G	4	5.25	21.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + G	4	2.50	10.00
	A2O4(-)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + G	4	2.50	10.00
	A2O4(+)G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)			
N + G	4	2.50	10.00
A3O4(-)G	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + G	4	2.50	10.00
	A3O4(+)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan
Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + G	4	2.50	10.00
	A4O4(-)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks				
	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	N + G	4	3.50	14.00
	A4O4(+)G	4	5.50	22.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(-)G	4	6.50	26.00
	A2O4(+)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(-)G	4	4.00	16.00
	A3O4(-)G	4	5.00	20.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.577
Asymp. Sig. (2-tailed)	.564

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a
--------------------------------	-------------------

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks				
Kelompok Perlakuan dan Kontrol		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (µm)	A2O4(-)G	4	6.50	26.00
	A3O4(+)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics ^b	
	Ketebalan Tunika Intima - Media (µm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks				
Kelompok Perlakuan dan Kontrol		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (µm)	A2O4(-)G	4	2.75	11.00
	A4O4(-)G	4	6.25	25.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(-)G	4	6.50	26.00
	A4O4(+)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(+)-G	4	2.50	10.00
	A3O4(-)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(+)-G	4	2.50	10.00
	A3O4(+)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(+)-G	4	2.50	10.00
	A4O4(-)-G	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A2O4(+)-G	4	4.50	18.00
	A4O4(+)-G	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A3O4(-)G	4	6.50	26.00
	A3O4(+)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A3O4(-)G	4	3.75	15.00
	A4O4(-)G	4	5.25	21.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-.866
Asymp. Sig. (2-tailed)	.386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.486 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A3O4(-)G	4	6.50	26.00
	A4O4(+)G	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A3O4(+)G	4	5.50	22.00
	A4O4(+)G	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan
Kontrol

Ranks

	Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)	A3O4(+)G	4	5.50	22.00
	A4O4(+)G	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.155
Asymp. Sig. (2-tailed)	.248
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Ranks

Kelompok Perlakuan dan Kontrol	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ketebalan Tunika Intima - Media (μm) A4O4(-)G	4	6.50	26.00
A4O4(+)G	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Ketebalan Tunika Intima - Media (μm)
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok Perlakuan dan Kontrol

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



LAMPIRAN 9

Perbandingan antar kelompok		Nilai p	Arti
N	N + O ₄	0.191	Peningkatan tidak bermakna
	N + G	0.248	Penurunan tidak bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.083	Peningkatan tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.248	Peningkatan tidak bermakna
N + O ₄	N + G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₂ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.386	Peningkatan tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.386	Peningkatan tidak bermakna
N + G	A ₂ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₂ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.248	Peningkatan tidak bermakna
A ₂ O ₄ (-)G	A ₂ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₃ O ₄ (-)G	0.564	Peningkatan tidak bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.043	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
A ₂ O ₄ (+)G	A ₃ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₃ O ₄ (+)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	1.000	Penurunan tidak bermakna
A ₃ O ₄ (-)G	A ₃ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
	A ₄ O ₄ (-)G	0.386	Peningkatan tidak bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna
A ₃ O ₄ (+)G	A ₄ O ₄ (-)G	0.021	Peningkatan bermakna
	A ₄ O ₄ (+)G	0.248	Penurunan tidak bermakna
A ₄ O ₄ (-)G	A ₄ O ₄ (+)G	0.021	Penurunan bermakna

