

**PENGARUH PAPARAN ROKOK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID
PLASMA DARAH TIKUS YANG DIINDUKSI *HIGH-FAT DIET***

Karya Tulis Ilmiah

**untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran**

**Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



**Oleh:
Gavin Izza Muhammad
18711145**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH PAPARAN ROKOK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID
PLASMA DARAH TIKUS YANG DIINDUKSI *HIGH-FAT DIET***

Karya Tulis Ilmiah


Disusun dan Diajukan oleh:

Gavin Izza Muhammad

18711145

**Telah diseminarkan tanggal: 15 Juli 2022
dan disetujui oleh:**

Penguji



**dr. Rizki Fajar Utami, M. Sc.
NIK 118110417**

Pembimbing



**dr. Dwi Nur Ahsani, M.Sc
NIK 077110425**

**Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



**dr. Umatul Khoiriyah, M. Med.Ed, Ph. D.
NIK 047110101**

**Disahkan
Dekan**



**Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M. Kes.
NIK 017110408**

PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmanirrahim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Gavin Izza Muhammad

NIM : 18711145

Judul KTI : Pengaruh Paparan Rokok terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Tikus yang Diinduksi *High-Fat Diet*

Dosen Pembimbing : dr. Dwi Nur Ahsani, M. Sc.

Dengan ini menyatakan bahwa (pilihan diberi tanda)

Memberi izin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan direpository UII berupa seluruh bagian Laporan KTI (tanpa lampiran)

Memberi izin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII berupa Abstrak saja karena akan dipublikasikan di jurnal

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 15 Juli 2022

Pembimbing



dr. Dwi Nur Ahsani, M. Sc.
NIK 077110425

Yang menyatakan



Gavin Izza Muhammad
NIM 18711145

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN PROPOSAL	ii
Pernyataan publikasi	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
Halaman Pernyataan	viii
Kata Pengantar	ix
Intisari	xi
<i>Abstract</i>	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penulisan	3
1.4. Keaslian Penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	4
1.5.1. Teoritis	4
1.5.2. Praktis	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. HFD dan Peningkatan Kadar Radikal Bebas (MDA)	5
2.2. Rokok dan Peningkatan Kadar Malondialdehid (MDA)	6
2.3. Kondisi HFD Bersamaan dengan Penggunaan Rokok Memperberat Peningkatan Kadar Radikal Bebas	9
2.4. Induksi HFD pada hewan coba	10
2.5. Induksi Rokok (Konvensional dan Vape) pada Hewan Coba	11
2.6. Hipotesis	11
2.7. Kerangka Teori	12
2.8. Kerangka Konsep	12
BAB III. METODE PENELITIAN	13
3.1. Jenis dan Desain Penelitian	13
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.3. Populasi dan Subyek Penelitian	13
3.3.1. Populasi	13
3.3.2. Subyek Penelitian	13
3.3.3. Besar Sampel	14
3.4. Identifikasi Variabel	14
3.5. Definisi Operasional	15
3.6. Alat dan Bahan Penelitian	15
3.6.1. Alat	15
3.6.2. Bahan	15
3.7. Protokol dan Alur Penelitian	15
3.7.1. Persiapan Hewan Coba	15
3.7.2. Protokol Protokol induksi HFD	16
3.7.3. Protokol Pengambilan Darah	16
3.7.4. Protokol Intervensi Rokok dan Vape	17
3.7.5. Protokol Pengukuran Malondialdehid Plasma	18
3.7.6. Nasib Akhir Hewan Coba	18

3.7.7. Bagan Alur Penelitian	18
3.8. Analisis Data	19
3.9. Etika Penelitian	19
Bab 4. Hasil dan Penelitian	20
4.1. HASIL	20
4.1.1. Hasil Pengukuran MDA	20
4.2. Pembahasan	21
4.2.1 Limitasi Penelitian	23
BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN.....	24
5.1. Simpulan	24
5.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
Lampiran	32

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian	4
Tabel 2. Besar Sampel	14
Tabel 3. Tabel Pengukuran MDA	20
Tabel 4. Uji Post hoc	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Produksi ROS akibat FFA	6
Gambar 2. Produksi ROS oleh Rokok	7
Gambar 3. Proses Terjadi Hidroksi Radikal pada Vape	8
Gambar 4. Kerangka Teori	12
Gambar 5. Kerangka Konsep	12
Gambar 6. Instrumen Eksposur	17
Gambar 7. Bagan Alur penelitian	18

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi , dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan sebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 15 Juli 2022



Gavin Izza Muhammad
NIM 18711145

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warrahmatullah Waarakaatuh

Alhamdulillah, puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul “ Pengaruh Paparan Rokok terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Darah Tikus yang Diinduksi *High-fat Diet* “ sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas kedokteran, Universitas Islam Indonesia. Shalawat dan salam tdiak lupa selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang yakni Islam.

Penulisan karya tulis ilmiah ini tidak luput dari bimbingan, bantuan, dan dukungan berbagai pihak. Berkat dari dukungan berbagai pihak tersebut, penulis dapat melewati berbagai rintangan dan hambatan selama proses penelitian berlangsung hingga penulisan dari karya tulis ilmiah ini. Rasa terimakasih dan juga penghargaan dari penulis haturkan kepada seluruh pihak yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung, khususnya kepada :

1. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
2. Dr. dr. Isnatin Miladiyah, M. Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
3. dr. Umatul Khoiriyah, M.Med. Ed, Ph.D. selaku Ketua Program Studi Kedokteran Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
4. dr. Dwi Nur Ahsani, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan bantuan, arahan, dan dukungan, serta kesabarannya selama penelitian hingga proses penyusunan karya tulis ilmiah ini dari awal hingga akhir.
5. dr. Rizki Fajar Utami, M.Sc. selaku Dosen Penguji, yang telah memberikan arahan dan dukungan dalam penulisan karya tulis ini.
6. Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang selalu memberi dukungan kepada penulis selama menempuh kuliah S-1 Pendidikan Dokter
7. Orang tua dan saudara penulis yang selalu memberi dukungan, doa, dan restu kepada penulis khususnya untuk pembentukan karya tulis ini.
8. Naufal Arif Ismail, Muhammad ridho, dan Muhammad zaky, selaku anggota tim penelitian serta teman yang mendukung, mengingatkan, dan memberikan arahan selama penelitan, analisis data, dan penyusunan karya tulis ilmiah berlangsung
9. Zulfania Rahmah, Zavia Putri Salsabila, Arif Jamal Ar Rasyid, Anatasya Syam Ramadhani, Ahmad Alvin Noor Muchtar, Tsavira Nabila, dan Zalfa Nihamuyassari selaku tim penelitian dari angkatan 2019 dan 2020 yang membantu jalannya penelitian ini.
10. Teman-teman di Fakulatas Kedokteran Universitas Islam Indonesia khususnya angkatan 2018 INXAFAR yang memberi dukungan dan doa kepada penulis.

Seluruh pihak yang lain yang ikut terlibat dalam penelitian dan penyusunan karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis sadar bahwa karya tulis ini masih jauh dari kata sempurna dan banyak kekurangan, maka dari itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar

dapat memperbaiki segala kekurangan yang ada. Penulis memohon maaf atas kekurangan dan keterbatasan yang ada dalam penelitian ini. Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi semua yang membacanya
Wassalamua'alaikum Warahmatullah Wabarakaatuh

Yogyakarta, 15 Juli 2022



Gavin Izza Muhammad
NIM 18711145

PENGARUH PAPARAN ROKOK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID PLASMA DARAH TIKUS YANG DIINDUKSI *HIGH-FAT DIET*

Gavin Izza Muhammad¹, Dwi Nur Ahsani²

¹Mahasiswa kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia

Email: 18711145@students.uii.ac.id

INTISARI

Latar Belakang: Rokok mengandung berbagai macam zat yang memiliki sifat toksik pada tubuh baik rokok tembakau maupun elektrik. Salah satu kandungan tersebut adalah nikotin. Selain itu, konsumsi makanan tinggi lemak dapat meningkatkan stres oksidatif dalam tubuh. Kombinasi tersebut menyebabkan peningkatan kadar stres oksidatif dalam tubuh salah satunya adalah Malondialdehid (MDA) sehingga risiko penyakit metabolik

Tujuan: Mengetahui pengaruh paparan rokok terhadap kadar malondialdehid plasma pada tikus yang diinduksi *high-fat diet*

Metode: Dua puluh sembilan ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibagi secara acak kedalam empat kelompok. Kelompok kontrol sehat (N) diberikan pakan standar, kelompok kontrol induksi (I) diberikan intervensi tinggi lemak, dan kelompok rokok konvensional (R) diberikan kombinasi rokok konvensional dengan diet tinggi lemak, dan kelompok rokok vape (V) diberikan kombinasi rokok vape dengan diet tinggi lemak. Penelitian dilakukan selama enam pekan dan pengukuran MDA plasma darah pada akhir penelitian sebagai marker stres oksidatif.

Hasil: Pada kelompok I didapatkan adanya peningkatan kadar MDA dibandingkan kelompok N ($N=1,62\pm 0,28$, $I=2,71\pm 0,25$). Peningkatan MDA plasma tertinggi pada kelompok R diikuti dengan kelompok V ($R=9,77\pm 0,45$, $V= 4,63\pm 0,33$). Pada uji statistik ANOVA didapatkan hasil signifikan dan uji *Post hoc Bonferoni* didapatkan hasil homogen

Kesimpulan: Pemberian rokok (konvensional dan vape) pada tikus wistar yang diinduksi diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar MDA plasma darah.

Kata kunci : Rokok, Diet tinggi lemak, MDA

EFFECT OF CIGARETTE EXPOSURE ON MALONDIALDEHYDE LEVELS IN MICE BLOOD PLASMA INDUCED BY HIGH-FAT DIET

Gavin Izza Muhammad¹, Dwi Nur Ahsani²

¹Undergraduate Student, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

²Department of Histology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia

Email: 18711145@students.uii.ac.id

ABSTRACT

Background: Cigarettes contain various substance that are toxic substances, both tobacco and electric cigarettes. One of these ingredients is nicotine. In addition, the consumption of high-fat food can increase oxidative stress in the body. This combination causes an increase in oxidative stress levels in the body, one of which is Malondialdehyde (MDA), so that the risk of metabolic disease increase

Aim: To determine the effect of cigarette exposure on plasma malondialdehyde levels in rats induced by a high-fat diet

Method: Twenty-nine Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were randomly divided into four groups. The healthy control group (N) was given a standard diet, the induction control group (I) was given a high-fat intervention, the tobacco cigarette group (R) was given a combination of conventional cigarettes with a high-fat diet, and the electronic or vape group (V) was given a variety of electronic or vape cigarettes with a high-fat diet. The study was conducted for six weeks and the measurement of blood plasma MDA at the end of the study as a marker of oxidative stress

Result: There was an increase in MDA levels in group I compared to group N (N=1,62±0,28, I=2,71±0,25). The highest MDA plasma level was in group R followed by group V (R=9,77±0,45, V= 4,63±0,33). *Anova statistical* test obtained significant results and *Post hoc Bonferroni* test obtained homogenous results

Conclusion: Giving tobacco and electronic cigarettes to Wistar rats induced by a high-fat diet can increase blood plasma MDA levels.

Keywords: Cigarettes, MDA, High fat diet

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Merokok merupakan kebiasaan buruk dan dapat mengakibatkan bahaya kesehatan bagi individu dan masyarakat. Asap rokok mengandung lebih dari 4.700 komponen kimia, diantaranya adalah radikal bebas dan oksidan dalam konsentrasi tinggi. Radikal bebas pada rokok berasal dari fase tar dan fase Gas. Fase gas adalah berbagai macam gas yang dihasilkan oleh asap rokok terdiri dari nitrosamin, nitrosopirolidin, formaldehid, akrolein, asetaldehid, dan karbon monoksida. Pada fase tar merupakan bahan yang terserap dari penyaringan asap rokok menggunakan *filter cartridge*. Fase ini terdiri dari hidrokarbon aromatik, naftalen, polinuklear, nitrosamin, arsen, nikotin, alkaloid tembakau, dan fenol (Smith & Fischer, 2001). Kedua fase ini akan menimbulkan radikal bebas yang stabil dan tidak stabil. Radikal bebas yang stabil (fase tar) seperti *quinon* (Q), *semiquinon* (QH') dan *hydroquinon* (QH₂). Radikal bebas yang tidak stabil (fase gas) seperti Nitrogen dioksida (NO₂) dan Oksigen (O₂) yang akan bereaksi membentuk peroksinitrit (ONOOO₂) (Van Der Vaart et al., 2004; Banerjee et al., 2008)

Paru-paru merupakan organ yang sangat rentan dari paparan asap rokok yang mengandung banyak radikal bebas. Radikal bebas dari asap rokok menyebabkan stress oksidatif dan menginisiasi inflamasi pada paru serta penurunan antioksidan jaringan paru (Amin et al., 2003). Radikal bebas menyebabkan inflamasi pada paru dengan menginduksi sel kemotaksis. Isoprostan adalah salah satu siklooksigenase dari peroksidasi lipid dan memiliki efek yang kuat terhadap inflamasi di paru dengan menginduksi Interleukin dan makrofag. Peningkatan kadar hidrogen peroksida disebabkan oleh sel-sel inflamatori dan makrofag dengan meningkatkan kadar superoksida. Superoksida akan bereaksi secara endogen dan eksogen nitrit oksida memproduksi peroksinitrit (Scholz et al., 2003). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Valenca et al. (2008), pada tikus yang diberi paparan rokok terdapat peningkatan pada aktivitas antioksidan (SOD dan CAT) pada *bronchoalveolar lavage liquid* (BALF) dibandingkan tikus normal. SOD berfungsi sebagai mekanisme pertahanan utama melawan O₂⁻ pada paru. Kemudian, CAT akan meneruskan reaksi menjadi air. Kadar antioksidan yang rendah akan menyebabkan pembentukan

radikal (OH dan NO₂) yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan DNA (Radi, 2004).

Radikal bebas disebabkan oleh komponen yang terdapat pada rokok. Rokok tembakau mengandung banyak zat yang menyebabkan sitotoksik, mutagen, dan karsinogenik. Kandungan yang terdapat pada rokok yaitu tar, nikotin, hidrokarbon aromatik, fenol, kresol. Zat ini banyak terkandung pada fase partikel yang dapat mengendap pada paru-paru (Perez-Padilla, Schilmann and Riojas-Rodriguez, 2010). Aerosol vape mengandung propilen glikol (PG), vegetable gliserin (VG), nikotin, dan zat perasa. Kandungan yang terdapat liquid dapat menyebabkan ROS dan inflamasi pada paru. Perbedaan yang terdapat pada rokok dan vape adalah propilen glikol (PG), vegetable gliserin (VG), dan zat perasa (Shields et al., 2017). Pemanasan liquid akan menghasilkan formaldehid, akrolien, karbonil asetaldehid. Kandungan pada vape tidak jauh berbeda dibandingkan dengan rokok tembakau namun kadarnya lebih sedikit. Oleh karena itu, vape lebih aman dari konvensional tertera pada penelitian Taylor et al. (2016) bahwa kadar stress oksidatif vape lebih rendah dibandingkan dengan rokok konvensional. Hal ini dibuktikan dengan kadar aktivitas glutathion (GSH) pada kelompok vape lebih sedikit dibandingkan dengan rokok tembakau. Namun, beberapa literatur menyebutkan bahwa efek yang disebabkan pada vape maupun konvensional tidak jauh berbeda. Penelitian ini menyebutkan bahwa stress oksidatif maupun inflamasi yang terjadi pada keduanya tidak berbeda (Glynos et al., 2018). Vape maupun rokok konvensional menyebabkan penurunan fungsi paru serta terhambatnya udara yang masuk. Oleh karena itu, peningkatan risiko PPOK terjadi pada pengguna rokok konvensional maupun vape (Willemse et al., 2004).

Kondisi kadar radikal bebas yang tinggi pada penggunaan rokok, akan semakin diperberat oleh keadaan hiperlipidemia (dislipidemia). Kondisi hiperlipidemia pada hewan coba yang diberikan diet tinggi lemak (HFD) akan mengakibatkan peningkatan kadar stress oksidatif (MDA) sebanyak dua kali dibandingkan tikus control (Nassar et al. 2014). Peningkatan stress oksidatif sebagai penanda disfungsi mitokondria dan menginisiasi sel inflamatori. Berdasarkan penelitian Nassar et al. (2014), pada tikus yang diberikan pakan tinggi lemak (HFD) terjadi peningkatan kadar MDA dua kali dibandingkan tikus kontrol. Peningkatan stress oksidatif sebagai penanda disfungsi mitokondria dan

menginisiasi sel inflamatori. Selain itu, peningkatan kadar MDA berhubungan dengan penurunan fungsi paru dan risiko PPOK (Bajpai et al., 2017).

Meskipun telah banyak penelitian mengenai rokok tembakau, *e-cigarette* (vape), dan diet tinggi lemak (HFD), terdapat beberapa penelitian terhadap vape dan diet tinggi lemak seperti yang dilakukan oleh Hasan et al. (2020). Mereka melakukan penelitian kurang lebih selama tiga bulan dan induksi diet tinggi lemak (D12492). Vape dan HFD akan menyebabkan kerusakan pada otot jantung sehingga menghentikan enzim kinase dan reaksi stres oksidatif (4-HNE). Pada penelitian Arany et al. (2016) menjelaskan bahwa nikotin dan makanan tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan stress oksidatif pada organ ginjal *8-isoprostane*. Marker kerusakan ginjal muncul secara bersamaan disebabkan oleh nikotin atau diet tinggi lemak. Kedua hal ini menyebabkan marker tersebut muncul lebih cepat dan adanya penumpukan lemak pada tubulus ginjal.

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat adanya peningkatan kadar radikal bebas yang lebih tinggi pada paparan rokok disertai dengan diet tinggi lemak. Penelitian sebelumnya tidak membandingkan antara paparan rokok (konvensional dan vape) disertai induksi diet tinggi lemak. Waktu penelitian berlangsung cukup lama berkisar antara tiga bulan. Beberapa penelitian mengukur kadar stres oksidatif yang terdapat pada organ seperti paru, ginjal, dan jantung. Pada penelitian ini, peneliti mengkaji dan membuktikan lebih jauh perubahan kadar radikal bebas yang terjadi paska induksi kedua paparan tersebut dengan kajian pada parameter MDA dengan durasi yang lebih singkat.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pengaruh paparan rokok terhadap malondialdehid plasma darah tikus yang diinduksi *high-fat diet*?

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh paparan rokok terhadap kadar malondialdehid plasma tikus yang diinduksi *high-fat diet*

1.4. Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Judul	Metode	Hasil	Perbedaan
1	Comparison of the effects of e-cigarette vapor with cigarette smoke on lung function and inflammation in mice (Glynos et al., 2018)	Studi pada tikus	Perbandingan kadar stress oksidatif pada paru kelompok rokok dan vape terjadi peningkatan yang sama.	Melihat perbedaan melalui kadar MDA paru, interleukin, dan histopatologi
2	Oxidative stress and fatty acid profile in Wistar rats subjected to acute food restriction and refeeding with high-fat diets (Nassar et al., 2014)	Studi pada hewan tikus	Peningkatan kadar MDA pada tikus yang diberi pakan HFD dibandingkan dengan pakan standar.	Melihat perbedaan melalui biokimia darah
3	Nicotine Enhance High-Fat Diet Induced Oxidative Stress in the Kindey (Arany et al., 2016)	Studi pada tikus	Penurunan kadar SOD ginjal pada kelompok yang diintervensi oleh rokok dan diet tinggi lemak dibandingkan dengan rokok dan diet standar.	Melihat perbedaan melalui biokimia darah, biokimia organ, dan histopatologi

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

- a. Menambah khazanah keilmuan mengenai efek rokok, vape, dan HFD
- b. Menjadi rujukan penelitian-penelitian berikutnya
- c. Mengamalkan amalan Insan Ulil Albab dan merealisasikan Catur Dharma UII

1.5.2. Manfaat Praktis

- a. Menggali lebih dalam terhadap efek radikal bebas yang ditimbulkan oleh penggunaan rokok, vape, dan HFD
- b. Menunjukkan bukti ilmiah perubahan kadar radikal bebas yang ditimbulkan oleh penggunaan rokok, vape, dan HFD

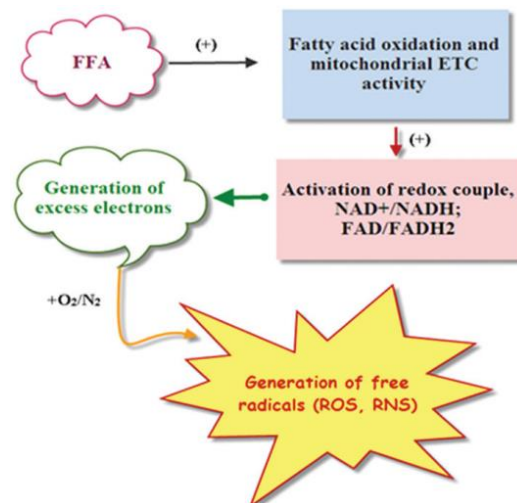
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. HFD dan Peningkatan Kadar Radikal Bebas Malondialdehid (MDA)

Telur, daging, dan makanan cepat saji menyebabkan dislipidemia yang merupakan tahap awal perkembangan penyakit oleh abnormalitas lipid. Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan kenaikan atau penurunan fraksi lipid dalam plasma (Arsana et al., 2015). Komponen lipid yang meningkat pada kondisi dislipidemia meliputi kolesterol total (*total cholesterol*, TC), *low-density lipoprotein* (LDL), dan trigliserida (TG), serta penurunan *high-density lipoprotein* (HDL) (Onwe et al., 2015). Asupan HFD secara kronis dapat menyebabkan disfungsi jaringan adiposa dan peradangan metabolik. Peningkatan sirkulasi asam lemak bebas menyebabkan lipotoksitas ke jaringan perifer, seperti disfungsi hati dan sel β pankreas. Masuknya asam lemak bebas yang tinggi ke dalam hati memicu produksi *very low-density* (VLDL) dan berkontribusi pada perkembangan dislipidemia. Selanjutnya, gangguan ini menyebabkan sindrom metabolik (Tan and Nohaizen, 2019).

Metabolisme lipoprotein sebagian besar melalui dua jalur, yaitu jalur metabolisme eksogen dan jalur metabolisme endogen. Jalur eksogen adalah jalur metabolisme makanan yang mengandung tinggi lemak, kemudian diabsorpsi oleh usus halus dalam bentuk trigliserida dan kolesterol. Selanjutnya, setelah masuk ke dalam sistem sirkulasi trigliserida akan diubah menjadi bentuk kolesterol ester dan reaksi fusi dengan fosfolipid dan apolipoprotein menjadi bentuk kilomikron (Setiati et al., 2014).

Asam lemak bebas terbentuk dari digesti lemak. Mitokondria melakukan oksidasi atau esterifikasi untuk membentuk trigliserida (TG). Mitokondria β -oksidasi berhubungan dengan konversi dari kofaktor oksidasi (NAD^+ dan FAD) dirubah menjadi NADH dan FADH_2 . Intake makanan tinggi lemak akan meningkatkan mitokondria β -oksidasi. Hal ini, menyebabkan elektron bergerak menggunakan *cytochrome-c* oksidasi dan memproduksi ROS. Mitokondria adalah sumber penting dari ROS yang mengoksidasi lemak tak jenuh sehingga menyebabkan peroksidasi lemak. ROS dan peroksidasi lipid dapat mendepleksi dari antioksidan sehingga timbul ketidakseimbangan. Hal ini akan menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid dan *ROS-mediated damage* (Le Lay et al., 2014).

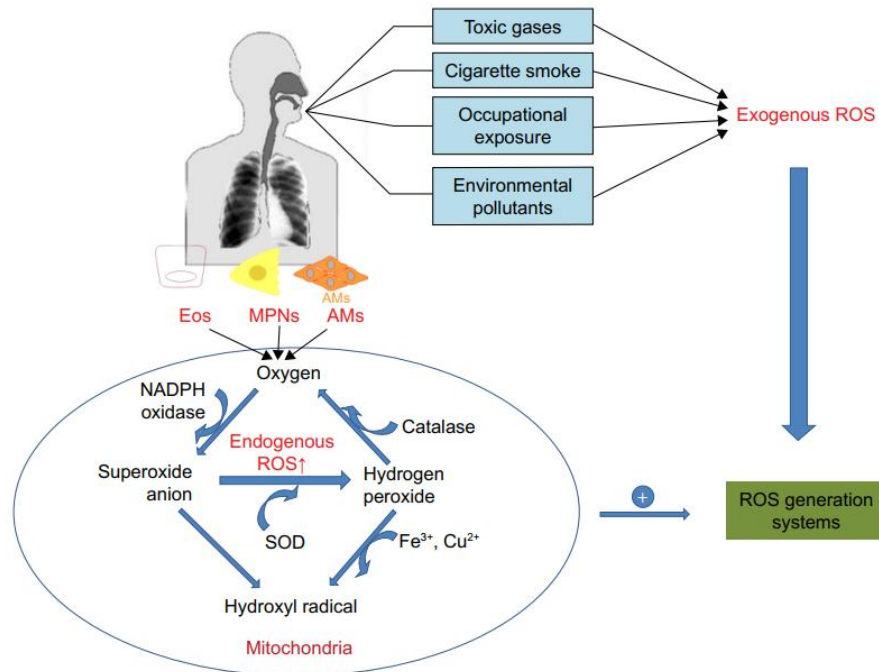


Gambar 1. Mekanisme produksi ROS akibat FFA (Kesh, Sarkar & Manna, 2016)

2.2. Rokok dan Peningkatan Kadar Malondialdehid (MDA)

Merokok merupakan salah satu faktor yang menyebabkan berkembangnya penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif. Selain itu, merokok salah satu penyumbang kematian terbesar di seluruh dunia. Rokok tembakau merupakan salah satu jenis yang masih banyak digunakan dikalangan remaja sampai dewasa. Dikarenakan banyaknya efek yang buruk terhadap kesehatan sehingga banyak yang beralih menggunakan vape. Hal ini disebabkan vape dapat membantu menggantikan rokok tembakau atau membantu menghentikan kecanduan. Vape menghasilkan kadar nikotin dengan cara membakar *e-liquid* dengan kawat melilit. Cairan yang dibakar akan menghasilkan zat-zat yang terkandung menjadi aerosol.

Asap rokok yang dihasilkan dari pembakaran mengakibatkan peningkatan radikal bebas melalui paparan kumulatif *reactive oxygen species* (ROS) baik dari ROS endogen maupun eksogen (Kelly, 2003). Pada perokok, peroksidasi lipid akan meningkat disebabkan peningkatan ROS sebagai dampak dari paparan asap rokok. Peningkatan tersebut akan mengakibatkan peningkatan kadar MDA plasma sebagai *biomarker* stress oksidatif (Gawel et al., 2004).

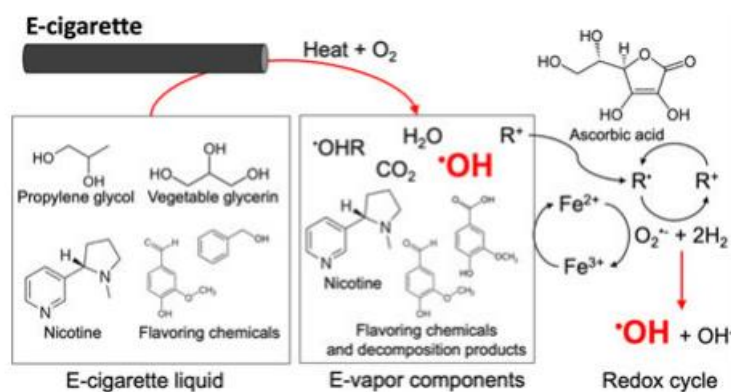


Gambar 2. Produksi ROS oleh Rokok (Xiaoqin, Wang and Hu, 2017)

ROS eksogen berasal dari inhalasi gas toksik atau polutan lingkungan seperti gas knalpot, eksposur debu, dan merokok. ROS endogen berasal dari mitokondria, peroksisom, NADPH oksidase (NOX) dan sel inflamatori. Produksi dari ROS terjadi paling banyak di mitokondria melalui reaksi O^2 dirubah menjadi O^{2-} oleh NOX. Pembentukan hidrogen peroksida (H_2O_2) terjadi melalui endogen dengan kontribusi dari Superoksida dismutase (SOD). Kemudian, akan diubah menjadi radikal hidroksil atau dekomposisi menjadi oksigen (O^2) (Martin Jastroch, Ajit S. Divakaruni, Shona Mookerjee, Jason R. Treberg, Treberg and Martin, 2010)

Aerosol vape yang mengandung nikotin dalam fase partikel dan fase gas (karbon monoksida) akan menyebabkan kecanduan dan secara sistemik menghasilkan radikal bebas sebagai zat oksidan (Schneider and White, 2015). Nikotin memiliki beberapa efek merugikan bagi tubuh seperti menurunkan respon imunitas, memicu proliferasi sel, apoptosis, dan mutasi DNA yang dapat memicu kanker (Mishra et al., 2015). Peningkatan kadar MDA tidak hanya disebabkan oleh nikotin yang dihasilkan juga disebabkan oleh inhalasi cairan *e-liquid* (seperti propilen glikol, gliserin, perasa) (McCauley, Markin and Hosmer, 2012)(Schaller et al., 2013).

Vaping dapat menginduksi dari stress oksidatif dengan membentuk *reactive oxygen species* (ROS). Vape menyebabkan pembentukan radikal hidroksi (OH) salah satu ROS paling destruktif. Peningkatan kadar OH di vape dikarenakan peningkatan temperatur coil dan suplai oksigen. Kandungan *e-liquid* yaitu *vegetable glycerin* (VG) dan *propylene glykol* (PG) mengandung OH dan banyak terdapat pada VG dibandingkan dengan PG. *E-liquid* yang mengandung rasa juga menghasilkan ROS yang lebih besar dibandingkan dengan tanpa rasa (Zhao et al., 2019).



Gambar 3. Proses terjadi hidroksi radikal pada vape (Son et al., 2016)

Bahan perasa (*flavouring agents*) yang terkandung dalam cairan vape dapat membahayakan tubuh. Inhalasi zat tersebut menghasilkan senyawa berbahaya seperti diasetil, *cinnamaldehyd*, *asetoin*, *pentanedion*, *o-vanilin*, *manitol*, dan *coumarin* yang berhubungan dengan oksidatif, produksi ROS, inflamasi, dan kerusakan jaringan sel. Peningkatan H₂O₂ yang bermakna terdapat pada inhalasi *e-liquid* yang mengandung perasa (*flavouring agents*) (Muthumalage et al., 2018).

Nikotin aerosol yang dihirup melalui pembakaran vape sebagian besar (80%) dimetabolisme menjadi *coitine* kemudian menuju ke peredaran darah dan disekresikan melalui urin. Zat ini umumnya tidak berbahaya dan tidak memiliki sifat karsinogenik. Namun sisa nikotin tersebut (>10%) dimetabolisme menjadi *N-nitrosornicotin* (NNN) dan *nicotine derived nitrosamine ketone* (NNK) (Ayala, Muñoz and Argüelles, 2014). NNK akan mengalami metabolisme secara spontan dan terdegradasi menjadi *methildiazohydroxide* (MDOH), *pyridylbutyl derived* (PBD), dan formaldehyd. NNN akan terdegradasi menjadi hidroksil atau *keto pyridyl-butyl derived* (keto PBD). MDOH, PBD serta formaldehyd akan menginduksi

kerusakan DNA. NNNK juga menginduksi γ -OH-PdG (*gamma-hydroxypropanodeoxyguanosine*) melalui metabolitnya formaldehid yang dapat memicu peroksidasi lipid dan menghasilkan *acrolein* serta produk samping asetaldehid (Lee et al., 2018)(Ayala, Muñoz and Argüelles, 2014).

2.3. Kondisi HFD Bersamaan dengan Penggunaan Rokok Memperberat Peningkatan Kadar Radikal Bebas

Diet tinggi lemak akan meningkatkan kadar lemak didalam tubuh dan peningkatan dipercepat dengan adanya paparan rokok. Komponen-komponen rokok yang terhisap yaitu nikotin akan meningkatkan kadar asam lemak yaitu *polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Eksposur yang berkepanjangan menyebabkan hiperglikemia dan hiperlipidemia (Weinberg, 2006). Paparan rokok menyebabkan LDL berada pada tubuh lebih lama sehingga menyebabkan penumpukan kadar lemak pada organ salah satunya adalah ginjal. Penumpukan lemak tersebut akan menyebabkan stress oksidatif dan berakibat injuri pada ginjal. Hal ini disebabkan karena adanya kerusakan pada mitokondria sehingga permeabilitasnya terganggu. Oleh karena itu, MnSOD sebagai antioksidan mayor produksinya berkurang. Mekanisme ini dipelopori oleh p66shc yang berperan menekan antioksidan dan meningkatkan stres oksidatif pada ginjal (Koch et al., 2008).

Kadar lemak yang tinggi menyebabkan kadar asam lemak bebas (FFA) plasma meningkat. Kadar lemak dalam darah akan meningkat lebih cepat bila dikombinasikan dengan nikotin. Hal ini dikarenakan nikotin mempercepat lipolisis sehingga kadar lemak dalam meningkat (Friedman et al., 2012). Rokok memproduksi stress oksidatif dengan melakukan lipid peroksidasi. Kadar stres oksidatif akan muncul lebih cepat pada darah. Salah satu marker yaitu MDA, digunakan sebagai tanda peningkatan kadar ROS darah dan indikator peroksidasi lipid. Kadar ROS dan lemak yang tinggi dalam darah akan menyebabkan pembentukan plak aterosklerosis. Plak aterosklerosis akan menimbulkan penyakit pada kardiovaskular (Espinoza-Derout et al., 2019).

Penyakit kardiovaskular disebabkan oleh meingkatnya kadar stres oksidatif. Hal ini disebabkan adanya kerusakan yang mengatur produksi energi dan sinyal sel. Mitokondria yang berperan mengatur tersebut mengalami kerusakan dikarenakan paparan rokok dan diet tinggi lemak. Kerusakan tersebut menyebabkan penurunan kadar antioksidan pada mitokondria yaitu SOD2 dan

ANT. Penurunan tersebut juga dibuktikan dengan adanya peningkatan pada protein nitrosasi. Kerusakan pada mitokondria akan menyebabkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan NO sehingga membentuk oksidasi pada LDL serta protein mitokondria. Kerusakan pada mitokondria akan menyebabkan disfungsi sel, terganggunya pembentukan energi, dan kadar NO yang tersedia. Hal ini menyebabkan terbentuknya stres oksidatif dalam tubuh serta berhubungan dengan peningkatan kerusakan DNA mitokondria, peroksidasi lipid, dan inaktivasi enzim mitokondria (Knight-Lozano et al., 2002).

2.4. Induksi HFD pada Hewan Coba

Hiperkolesterolemia mengindikasikan adanya akumulasi radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas menyebabkan proses peroksidasi lipid dan stress oksidatif yang ditandai dengan biomarker malondialdehid (MDA) (Argüelles et al., 2004). Keadaan hiperkolesterolemia ini diperburuk dengan kebiasaan mengkonsumsi makanan dengan tinggi kolesterol seperti telur. Kadar kolesterol telur paling besar terdapat pada telur puyuh. Komposisi antioksidan terdapat pada telur seperti Beta-karoten yang dapat mencegah oksidasi asam lemak tidak jenuh (Vrolijk et al., 2015). Kadar antioksidan tersebut dipengaruhi oleh tinggi dan rendahnya nilai MDA, jika telur semakin tinggi kadar MDA maka aktivitas oksidan rendah sehingga memacu produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kadar MDA pada telur berkorelasi dengan kadar kolesterol sehingga berisiko pada dampak di tubuh (Kitajima et al., 2016).

Minyak kelapa sawit mempunyai komposisi asam lemak jenuh (49%), asam lemak tak jenuh rantai tunggal (40%), dan asam lemak tak jenuh rantai ganda (11%) (Kamsiah et al., 2001). Radikal bebas terbentuk melalui proses reaksi oksidasi, hidrolisis, dan polimerasi. Kandungan kolesterol yang tinggi salah satunya terdapat pada minyak jelantah. Minyak kelapa sawit yang dilakukan proses oksidasi dengan suhu tinggi, kandungan *tocopherol dan carotenoid* yang berperan sebagai antioksidan akan mengalami kerusakan (Kanavouras, Cert and Hernandez, 2005). Peneliti melaporkan bahwa mengkonsumsi minyak goreng yang teroksidasi menyebabkan terjadinya peningkatan kadar MDA pada tubuh. Pada hasil penelitian Kamsiah, dengan melakukan pemanasan satu kali dan lima kali ke tikus sebanding dengan peningkatan kadar MDA plasma tikus secara bermakna (Kamsiah et al., 2001).

2.5. Induksi Rokok (Konvensional dan Vape) pada Hewan Coba

Penggunaan rokok dapat menyebabkan sindrom metabolik pada penggunanya. Hal ini disebabkan, nikotin yang terkandung dalam rokok dapat menyebabkan meningkatnya lipolisis, menghambat lipogenesis, dan resistensi insulin. Pada penggunaan kedua rokok (konvensional dan vape) terjadi peningkatan lingkaran pinggang, trigliserida darah, penurunan kadar HDL dibandingkan dengan orang yang tidak menggunakan rokok dan pengguna rokok konvensional saja. Penggunaan ganda ini akan meningkatkan risiko dari penyakit kardiovaskular (Kim et al., 2020).

Komponen yang terkandung dalam rokok yaitu nikotin, mengakibatkan penurunan sensitivitas insulin pada jaringan sehingga meningkatkan risiko dari diabetes tipe 2. Nikotin berkontribusi dalam meningkatkan hormon antagonis insulin seperti katekolamin dan kortisol (Benowitz and Burbank, 2016). Selain itu, nikotin mengaktifkan protein kinase pada jaringan lemak sehingga mempercepat proses lipolisis serta resistensi insulin. Kadar nikotin pada rokok juga menginduksi dari hiperglikemia melalui aktivasi glikogenesis dan glukoneogenesis (Vu et al., 2014).

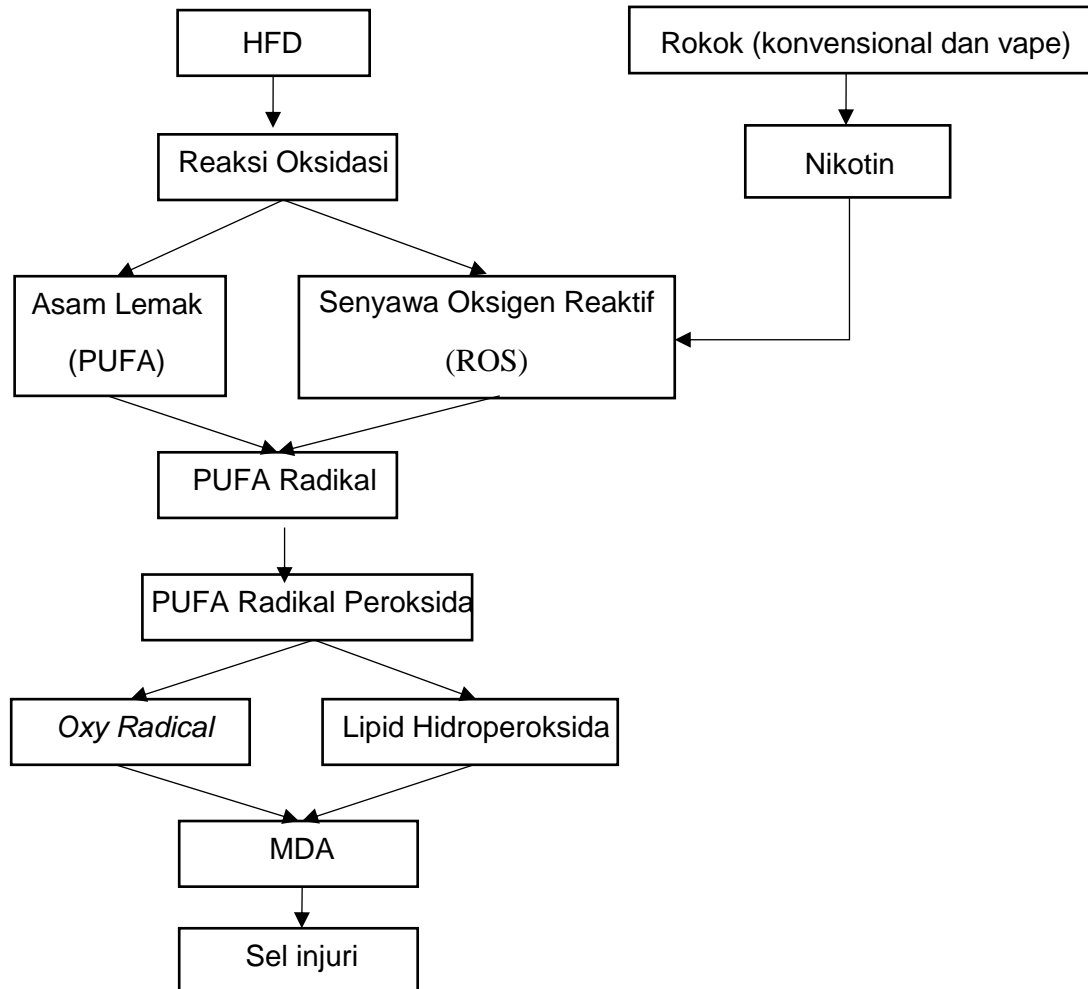
Pada keadaan hiperglikemia akan menyebabkan kerusakan pada sel endotelial. Hal ini juga dibantu dengan adanya dislipidemia, hipertensi dan kondisi inflamasi yang mempunyai peran penting dalam pembentukan aterosklerosis. Keadaan yang memengaruhi kadar NO seperti merokok, obesitas, dan resistensi insulin ikut berperan. Hal ini menyebabkan terjadinya peningkatan pada masa lemak, glukosa, trigliserida, asam lemak bebas, dan leptin. Selain itu, penurunan aktivasi pada lipase lipoprotein dan kolesterol asiltransferase mengakibatkan hiperkolesterolemia. Kandungan nikotin dalam rokok mengakibatkan penimbunan kadar lemak pada jaringan yang disebabkan oleh melimpahnya kadar trigliserida dalam darah (Wu et al., 2015).

2.6. Hipotesis

Ho : Tidak terdapat pengaruh paparan rokok terhadap kadar malondialdehid plasma pada tikus wistar yang diinduksi HFD jika dibandingkan dengan kelompok kontrol

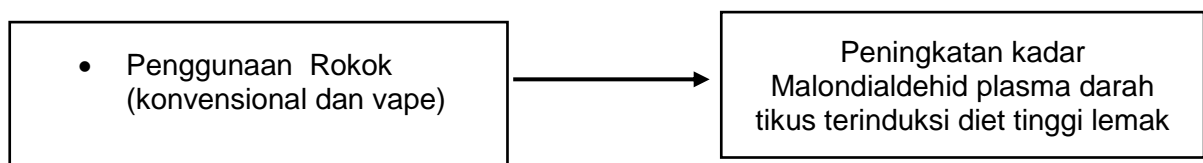
H1 : Terdapat pengaruh paparan rokok terhadap kadar malondialdehid plasma pada model tikus wistar yang diinduksi HFD jika dibandingkan dengan kelompok kontrol

2.7. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

2.8. Kerangka Konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian bersama dengan desain *true experimental* dengan desain *post-test only randomized control group*. Parameter yang diambil dari keseluruhan penelitian tersebut adalah profil lipid (kolesterol, HDL, LDL), glukosa plasma, malondialdehid plasma, dan histopatologi jaringan paru. Peneliti, mengambil dan melaporkan data kadar malondialdehid plasma darah pada penelitian ini.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (FK UII) dengan durasi waktu 6 pekan setelah mendapatkan persetujuan kajian etik dengan menerapkan protokol kesehatan pada pandemi COVID-19

3.3 Populasi dan Subyek Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan usia 4-6 pekan dengan berat 170-200 gram

3.3.2 Subyek Penelitian

Sampel diambil dari populasi menggunakan teknik *simple random sampling* kemudian dibagi menjadi 4 kelompok

1. Kelompok kontrol sehat (N): diet normal tanpa induksi HFD dan rokok
2. Kelompok kontrol HFD (I): diet normal + induksi HFD
3. Kelompok rokok konvensional (R): induksi HFD + intervensi rokok konvensional secara simultan
4. Kelompok vape (V) : induksi HFD + intervensi vape secara simultan

Kriteria inklusi

1. Tikus jantan strain wistar (*Rattus norvegicus*)
2. Berat 170-200 gram

3. Sehat, ditandai dengan gerakan aktif, tidak mengeluarkan sekret dari semua lubang tubuh, bulu tampak cerah dan tidak rontok
4. Usia 4-6 pekan

Kriteria Eksklusi

1. Tikus mati saat penelitian berlangsung

3.3.3. Besar Sampel

Estimasi jumlah sampel pada penelitian ini ditentukan dengan pendekatan rumus *resource equation* (Arifin & Zahiruddin, 2017).

Tabel 2. Besar Sampel

$DF = N - k = kn - k = k(n - 1)$ $n = DF / k + 1$ Minimum = $10 / k + 1$ = $10 / 4 + 1$ = 3,5 → 4 (pembulatan keatas) Maksimum = $20 / k + 1$ = $20 / 4 + 1$ = 6	Keterangan: DF (<i>degrees of freedom</i>) = minimum 10 dan maksimum 20 N = jumlah subyek k = jumlah kelompok n = jumlah subyek per kelompok
---	--

Dari perhitungan tersebut, jumlah tikus yang dihunakan untuk tiap kelompok yaitu sebanyak 4-6 ekor. Untukantisipasi risiko *drop out*, maka setiap kelompok ditambahkan 10 % atau sama dengan 1 ekor tikus sehingga tiap kelompok berjumlah 7 ekor. Maka, jumlah total sampel pada 4 kelompok perlakuan yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 28 ekor tikus.

3.4. Identifikasi Variabel

- 3.4.1. Variabel bebas (*independent variable*) : berupa induksi HFD dan intervensi rokok
- 3.4.2. Variabel terikat (*dependent variable*): kadar malondialdehid plasma darah
- 3.4.3. Variabel terkontrol : tikus yang diberikan pakan standar sebanyak 20gram/hari, suhu, kelembaban, ventilasi, pencahayaan dll

3.5. Definisi Operasional

- 3.5.1 Paparan rokok: adalah pemberian rokok (rokok atau vape) masing-masing dengan kandungan total nikotin 12 mg (sebanyak 1 kali sehari secara inhalasi)
- 3.5.2 Kadar malondialdehida plasma adalah kadar peroksidasi lipid sekunder yang dideteksi dari darah tikus yang dibuat menjadi bentuk plasma dan dideteksi dengan metode TBARS dan dinyatakan dengan satuan nmol/ml
- 3.5.3 Diet tinggi lemak adalah diet yang diberikan pada hewan coba secara sondasi menggunakan campuran minyak jelantah dan kuning telur puyuh dengan perbandingan 6:4. Dosis yang diberikan adalah 10%/ grBB tiap hewan coba sebanyak 1 kali sehari, 6 pekan

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat:

1. *Microplate readers*
2. Sonde
3. Sarung tangan
4. Sput
5. Kandang (40x20x20) cm³

3.6.2. Bahan

1. Pakan standar AD2 (Japfa Comfeed®, Indonesia)
2. Kuning telur puyuh
3. Minyak kelapa sawit teroksidasi (indofood, Indonesia)
4. Zoletil (Virbac S.A. Laboratories, Prancis)
5. Vape (Dovpo MVV III, American Breakfast)
6. Rokok (Gudang Garam Patra)

3.7. Protokol dan Alur Penelitian

3.7.1. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba pada penelitian ini yaitu tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*) sebanyak 29 ekor yang didapatkan dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada (LPPT UGM). Sebelum penelitian dilaksanakan, hewan coba akan diaklimatisasi selama 1 pekan dan diberi pakan standar sebanyak 20 gram/hari. Kandang diatur dengan suhu 20-26 °C,

kelembaban udara 40-70 %, ventilasi cukup, dan pencahayaan 12 jam gelap/terang. Pembersihan kandang dilakukan minimal 3 kali/pekan. Setelah diaklimatisasi, 29 ekor tikus dirandomisasi menggunakan teknik *simple random sampling* untuk dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok normal (N) 7 ekor, kelompok induksi HFD saja tanpa intervensi (I) 7 ekor, kelompok induksi HFD dan intervensi rokok (R) 8 ekor, dan kelompok induksi HFD dan intervensi vape (V) 7 ekor. Setiap pekannya tikus juga dilakukan penimbangan berat badan untuk mengetahui perkembangannya

3.7.2. Protokol induksi HFD

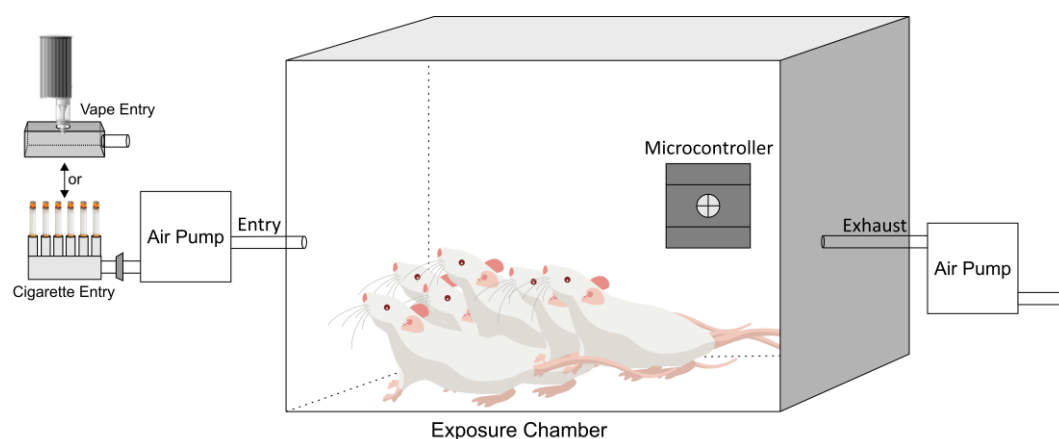
1. Induksi HFD pada penelitian ini adalah modifikasi metode penelitian Gunawan, Sitorus dan Rosidah (2018) dan Adam et al. (2008) HFD dibuat dengan mencampurkan kuning telur puyuh 40% dan minyak kelapa sawit teroksidasi 60% diberikan secara sonde oral.
2. Minyak kelapa sawit yang digunakan adalah merk Bimoli (Indofood, Indonesia). Agar menjadi minyak kelapa sawit teroksidasi, maka minyak tersebut dipanaskan selama 5 jam pada suhu 80 – 100 °C.
3. Induksi HFD secara sonde oral dilakukan setelah aklimatisasi dengan lama induksi 6 pekan. Dosis 2 mg per tikus

3.7.3. Protokol Pengambilan Darah

1. Darah diambil setelah selesai dilakukan intervensi rokok dan induksi HFD pada kelompok I, R, dan V selama 6 pekan.
2. Sebelum dilakukan pengambilan darah tikus dipuasakan selama 12 jam terlebih dahulu.
3. Tiap tikus dianestesi menggunakan Zoletil (Virbac S.A. Laboratories, Prancis) secara intraperitoneal (IP) sebanyak 50-75 mg/kg. Untuk memastikan tikus sudah teranestesi, diberi stimulasi motorik pada tubuh tikus. Jika berhasil teranestesi, tikus tidak memberikan respon terhadap stimulasi motorik tersebut.
4. Darah diambil sebanyak 2-3 mL dengan teknik pungsi jantung menggunakan spuit.
5. Darah yang didapatkan ditampung ke dalam *microcentrifuge tube* kemudian disentrifugasi untuk mendapat plasma. Selanjutnya plasma dipindahkan ke *microcentrifuge tube* baru untuk pengecekan Malondialdehid (MDA).

3.7.4. Protokol Intervensi Rokok (konvensional dan vape)

1. Intervensi rokok dilakukan menggunakan rokok Gudang Garam Patra (PT Gudang Garam Tbk, Indonesia) dengan kandungan nikotin 2 mg/batang (tercantum pada kemasan rokok). Pemaparan rokok dengan 6 batang sekaligus dalam sekali pemaparan. Total dosis nikotin yang diberikan adalah 12 mg/mL untuk 1 kelompok (R).
2. Intervensi vape dilakukan menggunakan vape merk *Dovpo MVV III output power 1-8 v 420 F*, baterai 2500 mAh (*Dovpo technology, China*) yang dapat diisi ulang dan liquid merk *American Breakfast (Hero 57, Indonesia)*. Liquid yang dipakai sebanyak 2 mL dengan kandungan nikotin 6 mg/mL (tercantum pada kemasan liquid) untuk pemaparan 1 kali/hari selama 6 pekan. Total dosis nikotin yang diberikan adalah 12 mg/mL untuk 1 kelompok (V).
3. Pemaparan rokok dan vape diadaptasi dari Ypsilantis et al., (2012) dan Prasedya et al. (2020) dengan modifikasi. Sebanyak 7 tikus atau 1 kelompok sekaligus ditempatkan dalam 1 kandang tertutup, lalu aerosol vape dan asap rokok dipompa masuk ke kandang menggunakan pompa udara yang dirakit sedemikian rupa.
4. Pemaparan *puff* disesuaikan dengan eksposur pada manusia di kehidupan nyata yaitu durasi *puff* 3 detik diikuti interval setiap *puff* adalah 30 detik.
5. Saat udara aerosol vape dan asap rokok dipompa masuk ke dalam kandang eksposur, lubang *output* menutup. Lalu lubang *output* akan terbuka dan menghisap udara keluar saat waktu interval berjalan.



Gambar 6. Instrumen Eksposur (Ismail et al., 2022)

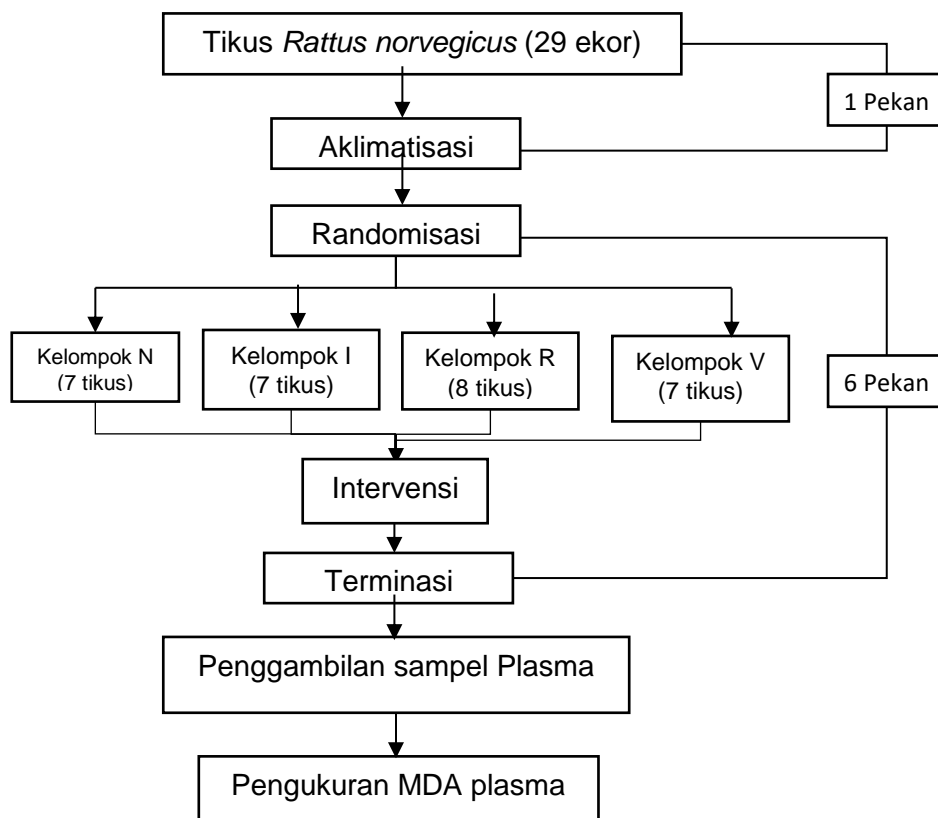
3.7.5. Protokol Pengukuran MDA Plasma

Profil Malondialdehid (MDA) diukur dengan metode Colorimetric method dengan zat *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARS) menggunakan *microplate readers*. Besaran untuk MDA dinyatakan dalam satuan nmol/ml. Pengukuran MDA pada penelitian ini dilakukan oleh laboran PAU UGM

3.7.6. Nasib Akhir Hewan Coba

Bagian-bagian tikus yang tidak digunakan dilakukan proses penjahitan kembali. Bangkai tikus dijadikan satu dan diletakkan dalam *freezer* -26 °C sebelum nantinya dilakukan kremasi yang sesuai dengan prosedur etik pada hewan coba di Laboratorium Terpadu FK UII.

3.7.7. Bagan Alur Penelitian



Gambar 7. Bagan Alur Penelitian

Keterangan

- N : Diet normal tanpa induksi HFD dan rokok
- I : Diet normal + induksi HFD
- R : Induksi HFD + intervensi rokok konvensional secara simultan
- V : Induksi HFD + intervensi vape secara simultan

3.8. Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* memperlihatkan hasil data terdistribusi normal. Kemudian, uji *test of homogeneity of variances* didapatkan hasil data homogen. Untuk membandingkan rata-rata kadar malondialdehid pada tiap kelompok, dilakukan uji statistik *One-way ANOVA* yang diikuti dengan uji *post hoc Bonferonni*. (Dahlan, 2014).

3.9. Etika Penelitian

Penelitian telah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komite Etik Fakultas Kedokteran UII dengan surat keterangan lolos kaji etik nomor 7/Ka.Kom.Et/70/KE/III/2021

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

Penelitian dengan judul “Pengaruh pemaparan Rokok pada Malondialdehid Tikus Strain Wistar yang Diinduksi *High-Fat Diet*” berlangsung selama 6 pekan. Terdapat satu tikus yang mati pada kelompok I (kontrol HFD) sehingga jumlah sampel pada akhir penelitian berjumlah 28 ekor tikus (N=7, I=6, R=8, V=7).

4.1.1. Hasil Pengukuran Kadar MDA

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar MDA tertinggi dijumpai pada kelompok hewan terinduksi HFD yang diberikan rokok konvensional diikuti oleh kelompok hewan terinduksi HFD yang diberikan vape (V) (R= $9,77 \pm 0,45$ nmol/ml, V= $4,63 \pm 0,33$ nmol/ml). Pemberian diet tinggi lemak (I) menyebabkan peningkatan kadar MDA dua kali lipat dibandingkan dengan kelompok normal (N= $1,62 \pm 0,28$ nmol/ml, I= $2,71 \pm 0,25$ nmol/ml). Peningkatan kadar MDA kelompok HFD (I) masih lebih rendah dibandingkan dengan kelompok HFD yang juga diberikan dengan rokok (konvensional dan vape). Pada uji statistik Anova terdapat adanya perbedaan yang bermakna pada keempat kelompok tersebut (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil pengukuran rata-rata \pm standar deviasi kadar MDA plasma

Kelompok	Jumlah	Rata-rata \pm Standar Deviasi (nmol/ml)	Nilai P
N	7	$1,62 \pm 0,28$	0,000*a
I	6	$2,71 \pm 0,25$	
R	8	$9,77 \pm 0,45$	
V	7	$4,63 \pm 0,33$	

Keterangan : N = kontrol sehat, I= kontrol HFD, R= Rokok konvensional, V=vape. “ $p < 0,05$, a= uji One-way ANOVA

Hasil uji *post hoc Bonferroni* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok diet tinggi lemak dengan kelompok normal dan juga kelompok rokok (konvensional dan vape) dengan kelompok normal. Terdapat juga perbedaan yang bermakna antara kelompok vape dengan kelompok yang diberi rokok konvensional (P=0,000) (Uji *post hoc Bonferroni*, tabel 4).

Tabel 4. Hasil Uji *post hoc* pada tiap kelompok

Kelompok	N	I	R	V
N		0,000*	0,000*	0,000*
I	0,000*		0,000*	0,000*
R	0,000*	0,000*		0,000*
V	0,000*	0,000*	0,000*	

Keterangan : N = kelompok kontrol sehat, I= kontrol HFD, R= Rokok konvensional, V=vape. * p=0,05

4.2. Pembahasan

Penelitian ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar MDA dapat dijumpai pada kondisi intake tinggi lemak dan juga kombinasi dengan penggunaan vape maupun rokok konvensional (perlakuan selama 6 pekan). Kadar MDA tertinggi dijumpai pada kelompok HFD dengan pemberian rokok (terutama rokok konvensional). Intake HFD mengakibatkan peningkatan kadar MDA sebanyak dua kali lipat dari kondisi normal.

Diet tinggi lemak meningkatkan kadar Malondialdehid plasma (Del Rio, Stewart and Pellegrini, 2005). Sejalan dengan hal tersebut penelitian ini juga menunjukkan peningkatan kadar MDA hati hewan coba pada perlakuan lima pekan (Meli et al., 2013). Pada penelitian Auberval et al (2014) mendapatkan hasil pemberian diet tinggi lemak selama dua bulan meningkatkan kadar lipid peroksidasi plasma. Peningkatan kadar lipid peroksidasi biasanya muncul pada jaringan. Biasanya lipid peroksidasi dalam plasma pada minggu ke-8 hingga ke-10 (Auberval et al., 2014). Penelitian yang dilakukan selama delapan pekan didapatkan terdapat adanya peningkatan kadar MDA plasma yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol (Lasker et al., 2019). Namun, pada penelitian kami kadar MDA plasma dapat muncul dengan waktu yang lebih pendek. Sejalan dengan penelitian kami, pemberian diet tinggi lemak dalam waktu 4 pekan dapat meningkatkan kadar MDA pada jaringan secara bermakna (Bhandari et al., 2011). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Andrich et al (2019) bahwa pemberian diet tinggi lemak selama dua minggu dapat menurunkan secara bermakna kadar GSH pada jaringan (Andrich et al., 2019).

Peningkatan lipid peroksidasi juga disebabkan oleh meningkatnya ROS (*reactive oxygen species*) dalam tubuh yang disebabkan oleh merokok (Kim et al., 2007; Valko et al., 2007). Hal ini sejalan dengan penelitian Glynos et al (2018) yang berlangsung selama satu bulan, pada hari ketiga terdapat adanya

peningkatan kadar MDA BALF (*bronchoalveolar lung fluid*) dan paru secara bermakna pada kelompok rokok (konvensional dan vape) dibanding kelompok normal. Pada minggu keempat didapatkan peningkatan secara bermakna baik MDA BALF maupun paru pada kelompok rokok (konvensional dan vape) dibanding kelompok normal. Selain itu, kadar MDA BALF pada kelompok vape meningkat secara bermakna dibandingkan dengan kelompok rokok konvensional (Glynos et al., 2018). Sejalan dengan hal tersebut, penelitian kami didapatkan peningkatan kadar MDA plasma. Tampaknya hasil ini juga menambah informasi bahwa pada perlakuan empat pekan, selain meningkatnya parameter pada jaringan juga terjadi pada parameter plasma darah. Pada penelitian Gupta et al (2021) dengan studi populasi didapatkan bahwa kadar biomarker peroksidasi lipid plasma kelompok rokok konvensional meningkat bermakna dibandingkan dengan kelompok vape. Hal ini juga diikuti dengan meningkatkan kadar asam lemak bebas kelompok rokok (konvensional dan vape) dibandingkan dengan kelompok normal (Gupta et al., 2021). Pada penelitian Taylor et al didapatkan penurunan GSH:GSSG sel pada kelompok rokok tembakau dibandingkan dengan kelompok rokok elektronik. Selain itu, peningkatan pembentukan ROS pada kelompok rokok lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok rokok elektronik (Taylor et al., 2016).

Kombinasi diet tinggi lemak dengan vape meningkatkan kadar lipid dan stres oksidatif dalam tubuh. Pada hasil penelitian kami bahwa marker oksidatif stres (MDA) pada kombinasi diet tinggi lemak dengan vape meningkat secara bermakna dibandingkan dengan kelompok diet tinggi lemak. Selain peningkatan pada marker plasma, Meningkatnya kadar MDA jaringan secara bermakna paska perlakuan 12 pekan (Espinoza-Derout et al., 2019). Selain itu, penelitian yang dilakukan Hasan et al (2019) yang berlangsung selama 12 minggu. Pada akhir penelitian didapatkan adanya peningkatan marker stres oksidatif di hepar yaitu 4-HNE (*4-hidroxy-trans-2-nonetal*) secara bermakna pada kelompok kombinasi diet tinggi lemak dan vape dibandingkan dengan kelompok kontrol (Hasan et al., 2019).

Peningkatan kadar stress oksidatif dalam tubuh akibat rokok (konvensional dan vape) dikarenakan kaya akan ROS sehingga meningkatnya ROS dalam tubuh. Walaupun vape dianggap lebih aman daripada rokok konvensional, kandungan liquid vape menginduksi stress oksidatif dan menghambat barier endotelial. Selain itu, PG dan VG pada vape menyebabkan iritasi pada pernafasan yang ditandai dengan meningkatnya produksi glikoprotein Muc5ac (Anderson et

al., 2016; Glynos et al., 2018). Peningkatan kadar stress oksidatif pada rokok disebabkan oleh meningkatnya karbonil, formaldehid dan asetaldehid. Selain itu, aktivasi dari Nrf2 dan deplesi dari antioksidan menyebabkan peningkatan kadar stres oksidatif (Taylor et al., 2016). Kadar stres oksidatif pada vape lebih rendah dibandingkan dengan rokok konvensional. Hal ini disebabkan komponen radikal bebas yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan rokok tembakau (Burstyn, 2014). Kadar karbonil tertinggi terdapat pada vaporisasi *liquid*. Namun, kadar karbonil yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan rokok tembakau (Jensen et al., 2015). Pemberian diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan berat badan dan stres oksidatif. Kadar stres oksidatif dalam plasma dapat muncul dalam durasi yang singkat disebabkan oleh kandungan lemak (32-36%). Hal ini disebabkan lemak yang tinggi menyebabkan perubahan pada jaringan hepar dan pembuluh darah dan juga respon hiperinsulin (Elmarakby and Imig, 2010; Auberval et al., 2014).

Hasil penelitian ini adalah kombinasi paparan rokok (konvensional dan vape) dan diet tinggi lemak meningkatkan kadar Malondialdehid (MDA) plasma darah. Kadar MDA plasma pada kombinasi vape dan diet tinggi lemak lebih tinggi dibandingkan diet tinggi lemak dan diet normal. Hal ini menunjukkan bahwa baik penggunaan rokok (konvensional dan vape) berpengaruh terhadap kesehatan tubuh. Walaupun penggunaan rokok vape lebih aman dibandingkan dengan rokok. Penggunaan yang intensif dapat memengaruhi kesehatan dan menimbulkan penyakit metabolik.

4.2.1. Limitasi Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini adalah penelitian ini hanya mengukur kadar MDA plasma, dimana kadar MDA plasma hanya merupakan salah satu dari berbagai parameter stress oksidatif yang ada. Kemudian, penelitian ini memiliki desain *post-test only* sehingga kadar MDA pada masing-masing subjek tidak diukur sebelum penelitian berlangsung. Hal ini mengakibatkan tidak diketahuinya kadar MDA plasma subjek sebelum dilakukannya intervensi.

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Pemberian rokok (konvensional dan vape) pada tikus wistar yang diinduksi *high-fat diet* dapat meningkatkan kadar MDA plasma darah.

5.2. Saran

Berdasarkan kekurangan dan keterbatasan dalam penelitian ini, agar dapat menyempurnakan penelitian selanjutnya maka peneliti memberikan beberapa saran diantaranya yaitu;

1. Perlu adanya pengukuran MDA pretest agar kadar MDA pada tiap subjek sebelum penelitian dapat diketahui
2. Perlu adanya penelitian ilmiah lebih lanjut dengan konsentrasi nikotin yang berbeda pada rokok (konvensional dan vape)

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, S. K., Soelaiman, I. N., Umar, N. A., Mokhtar, N., Mohamed, N. et al. (2008) 'Effects of repeatedly heated palm oil on serum lipid profile, lipid peroxidation and homocysteine levels in a post-menopausal rat model.', *McGill Journal of Medicine*, 11(2), pp. 145–51.
- Amin, K., Ekberg-Jansson, A., Löfdahl, C. G., and Venge, P. et al. (2003) 'Relationship between inflammatory cells and structural changes in the lungs of asymptomatic and never smokers: A biopsy study', *Thorax*, 58(2), pp. 135–142. doi: 10.1136/thorax.58.2.135.
- Anderson, C., Majeste, A., Hanus, J., and Shusheng. (2016) 'E-cigarette aerosol exposure induces reactive oxygen species, DNA damage, and cell death in vascular endothelial cells', *Toxicological Sciences*, 154(2), pp. 332–340. doi: 10.1093/TOXSCI/KFW166.
- A Andrich, D. E., Melbouci, L., Ou, Y., Auclair, N., Mercier, J., Grenier, J et al. (2019) 'A Short-term high-fat diet alters glutathione levels and IL-6 gene expression in oxidative skeletal muscles of young rats', *Frontiers in Physiology*, 10(APR). doi: 10.3389/fphys.2019.00372.
- Arany, I., Hall, S., Reed, D., Reed, C. T., and Dixit, M. (2016) 'Nicotine enhances High-Fat Diet-Induced oxidative stress in the kidney', *Nicotine and Tobacco Research*, 18(7), pp. 1628–1634. doi: 10.1093/ntr/ntw029.
- Argüelles, S., Garcia, S., Maldonado, M., Machado, A., Ayala, A. (2004) 'Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status?', *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 1674(3), pp. 251–259. doi: 10.1016/j.bbagen.2004.06.023.
- Arifin, W. N. and Zahiruddin, W. M. (2017) 'Sample size calculation in animal studies using resource equation approach', *Malaysian Journal of Medical Sciences*, 24(5), pp. 101–105. doi: 10.21315/mjms2017.24.5.11.
- Arsana, P. M. et al. (2015) 'Panduan Pengelolaan Dislipidemia di Indonesia', *PB. Perkeni*, p. 4.
- Auberval, N., Dal, S., Bietiger, W., Pinget, M., Jeandidier, N., Mailard-Pendracini, E et al. (2014) 'Metabolic and oxidative stress markers in Wistar rats after 2 months on a high-fat diet', *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 6(1), pp. 1–9. doi: 10.1186/1758-5996-6-130.
- Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014) 'Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014. doi: 10.1155/2014/360438.
- Bajpai, J., Prakash, V., Kant, S., Verma, A. K., Srivastava, A., Bajaj, D. K. et al. (2017) 'Study of oxidative stress biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease and their correlation with disease severity in north Indian population

- cohort Jyoti', *Indian Chest Society*, 35(1), pp. 41–46. doi: 10.4103/lungindia.lungindia_205_16.
- Banerjee, S., Chattopadhyay, R., Ghosh, A., Koley, H., Panda, K., Roy, S. et al. (2008) 'Cellular and molecular mechanisms of cigarette smoke-induced lung damage and prevention by vitamin C', *Journal of Inflammation*, 5, pp. 1–22. doi: 10.1186/1476-9255-5-21.
- Benowitz, N. and Burbank, A. D. (2016) 'Cardiovascular Toxicity of Nicotine: Implications for Electronic Cigarette Use', *Physiology & behavior*, 176(1), pp. 100–106. doi: 10.1016/j.tcm.2016.03.001.Cardiovascular.
- Bhandari, U., Kumar, V., Khanna, N., and Panda, B. P. (2011) 'The effect of high-fat diet-induced obesity on cardiovascular toxicity in wistar albino rats', *Human and Experimental Toxicology*, 30(9), pp. 1313–1321. doi: 10.1177/09603271110389499.
- Burstyn, I. (2014) 'Peering through the mist: What does the chemistry of contaminants in electronic cigarettes tell us about health risks?', *Drexel University: Philadelphia, PA: Available at: ...*, (August), pp. 1–22. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24406205>.
- Dahlan, M. S. (2014) *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat*. 6th edn. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Elmarakby, A. A. and Imig, J. D. (2010) 'Obesity is the major contributor to vascular dysfunction and inflammation in high-fat diet hypertensive rats', *Clinical Science*, 118(4), pp. 291–301. doi: 10.1042/CS20090395.
- Espinoza-Derout, J., Hasan, K. M., Shao, X. M., Jordan. M. C., Sims, C., Lee, D. L. et al. (2019) 'Chronic intermittent electronic cigarette exposure induces cardiac dysfunction and atherosclerosis in apolipoprotein-E knockout mice', *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 317(2), pp. H445–H459. doi: 10.1152/ajpheart.00738.2018.
- Friedman, T. C., Sinha-Hikim, I., Meher. P., Najjar. S. M., Liu, Y., Mangubat, M et al. (2012) 'Additive Effects of Nicotine and High-Fat Diet on Hepatic Steatosis in Male Mice', 153(December), pp. 5961–5971. doi: 10.1210/en.2012.
- Gawel, S., Wardas M., Niedworok, E., and Wardas, P. (2004) 'Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker.', *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland : 1960)*, 57(9–10), pp. 453–455.
- Glynos, C., Bibli, S., Katsaounou, P., Pavlidou, A., Mangkou, C., Karavana, V. et al. (2018) 'Comparison of the effects of e-cigarette vapor with cigarette smoke on lung function and inflammation in mice', *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 315(5), pp. L662–L672. doi: 10.1152/ajplung.00389.2017.
- Gunawan, H., Sitorus, P. and Rosidah (2018) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol

Herba Poguntano (*Picria Fel- Terrae Lour.*) Terhadap Profil Lipid Tikus Putih Jantan Dislipidemia', in *Talenta Publisher Universitas Sumatera Utara*, pp. 230–236.

- Gupta, R., Lin, Y., Luna, K., Logue, A., Yoon, A. J., Haptonstall, K. P. et al. (2021) 'Electronic and Tobacco Cigarettes Alter Polyunsaturated Fatty Acids and Oxidative Biomarkers', *Circulation Research*, 129(5), pp. 514–526. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317828.
- Hasan, K. M., Friedman, T. C., Parveen, M., Espinoza-Derout, J., Bautista, F., Razipour, M. M. et al (2019) 'E-cigarettes and Western Diet: Important Metabolic Risk Factors for Hepatic Diseases', *Hepatology*, 176(3), pp. 139–148. doi: 10.1002/hep.30512.E-cigarettes.
- Hasan, K. M., Friedman, T. C., Parveen, M., Esponzoa-Derout, J., Bautista, F., Razipour, M. M. et al. (2020) 'Electronic cigarettes cause alteration in cardiac structure and function in diet-induced obese mice', *PLoS ONE*, 15(10 October), pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0239671.
- Ismail, N. A., Nabila, T., Ramadhani, A. S., and Ahsani D. N.. (2022) 'Electronic and Conventional Cigarette Exposure Aggravate Metabolic Parameters in High-Fat Diet-Induced Rats', 10, pp. 841–847.
- Jensen, R. P., Luo, W., Pankow, J. F., Strongin, R. M., Peyton, D. H. (2015) 'Hidden Formaldehyde in E-Cigarette Aerosols', *New England Journal of Medicine*, 372(4), pp. 389–392. doi: 10.1056/nejmc1414731.
- Kamsiah, J., Aziz, S., Siew, S., Zahir, I. (2001) 'Changes in Serum Lipid Profile and Malondialdehyde following Consumption of Fresh or Heated Red Palm Oil', *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences*, 14(2), pp. 79–86. Available at: <http://www.medicaljournal-ias.org/jvi.aspx?pdire=ias&plng=eng&un=IAS-32650>.
- Kanavouras, A., Cert, A. and Hernandez, R. J. (2005) 'Oxidation of olive oil under still air', *Food Science and Technology International*, 11(3), pp. 183–189. doi: 10.1177/1082013205055001.
- Kelly, G. (2003) 'The interaction of cigarette smoking and antioxidants. Part III: Ascorbic acid', *Alternative Medicine Review*, 8(1), pp. 43–54.
- Kesh, S. B., Sarkar, D. and Manna, K. (2016) 'High-fat diet-induced oxidative stress and its impact on metabolic syndrome: A review', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(1), pp. 38–43.
- Kim, C. Y., Paek, Y. J., Seo, H. G., Cheong, Y. S., Leo, C. M., Park, S. M. et al. (2020) 'Dual use of electronic and conventional cigarettes is associated with higher cardiovascular risk factors in Korean men', *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–10. doi: 10.1038/s41598-020-62545-3.
- Kim, Y., Shin, A., Gwack, J., Jun, J. K., Park, S. K., Kang, D. et al. (2007) 'Cigarette

- smoking and gastric cancer risk in a community-based cohort study in Korea', *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 40(6), pp. 467–474. doi: 10.3961/jpmph.2007.40.6.467.
- Kitajima, N., Tomita, T., Watanabe, M., Kuroda, T., Nisihimura, A., Miyano, et al. (2016) 'TRPC3 positively regulates reactive oxygen species driving maladaptive cardiac remodeling', *Scientific Reports*, 6(October), pp. 1–14. doi: 10.1038/srep37001.
- Knight-Lozano, B., Cynthia, A., Christal, G., Young, B., David, L., Burrow, M. S. et al. (2002) 'Cigarette smoke exposure and hypercholesterolemia increase mitochondrial damage in cardiovascular tissues', *Circulation*, 105(7), pp. 849–854. doi: 10.1161/hc0702.103977.
- Koch, O. R., Fusco, S., Ranjeri, S. M., Maulucci, G., Palozza, P., Maria, L. et al. (2008) 'Role of the life span determinant P66shcA in ethanol-induced liver damage', *Laboratory Investigation*, 88(7), pp. 750–760. doi: 10.1038/labinvest.2008.44.
- Lasker, S., Rahman, M. M., Parves, F., Zamila, M., Miah, P., Nahar, K. et al. (2019) 'High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation', *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1–15. doi: 10.1038/s41598-019-56538-0.
- Le Lay, S., Simard, G., Martinez, M., and Andriantsitohaina, R. (2014) 'Oxidative stress and metabolic pathologies: From an adipocentric point of view', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014. doi: 10.1155/2014/908539.
- Lee, H. W., Park, S. W., Weng, M., Wang, H. T., Huang, W. C., Lepor, H. et al. (2018) 'E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(7), pp. E1560–E1569. doi: 10.1073/pnas.1718185115.
- Martin Jastroch, Ajit S. Divakaruni, Shona Mookerjee, Jason R. Treberg, and M. D. B., Treberg, J. R. and Martin, D. (2010) 'Mitochondrial proton and electron leaks oxygen consumption and pH data', *Essays Biochem* ., pp. 53–67. doi: 10.1042/bse0470053.Mitochondrial.
- McCauley, L., Markin, C. and Hosmer, D. (2012) 'An unexpected consequence of electronic cigarette use', *Chest*, 141(4), pp. 1110–1113. doi: 10.1378/chest.11-1334.
- Meli, R., Raso, G. M., Irace, C., Simeoli, R., Pascale, A. D., Paciello, O. et al. (2013) 'High Fat Diet Induces Liver Steatosis and Early Dysregulation of Iron Metabolism in Rats', *PLoS ONE*, 8(6). doi: 10.1371/journal.pone.0066570.
- Mishra, A., Chaturvedi, P., Sinukumar, S. D. S., Joshi, P., and Garg, A.. (2015) (2015) 'Harmful effects of nicotine', *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology*, 36(1), pp. 24–31. doi: 10.4103/0971-5851.151771.

- Muthumalage, T., Prinz, M., Ansah, K. O., Gerloff, J., Sundar, I. K., and Rahman, I. (2018) 'Inflammatory and oxidative responses induced by exposure to commonly used e-cigarette flavoring chemicals and flavored e-liquids without nicotine', *Frontiers in Physiology*, 8(JAN), pp. 1–13. doi: 10.3389/fphys.2017.01130.
- Nassar, A. L., Marot, L. P., Ovidio, P. P., de Castro, G. S., and Junior, A. A (2014) 'Oxidative stress and fatty acid profile in Wistar rats subjected to acute food restriction and refeeding with high-fat diets', *Acta Cirurgica Brasileira*, 29(3), pp. 178–185. doi: 10.1590/S0102-86502014000300006.
- Onwe, P., Folawiyo, M., Anyigor, O., Umahi, G., Okorochoa, A. E., and Afoke, A. O. (2015) 'Hyperlipidemia: Etiology and Possible Control', *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 14(10), pp. 2279–861. doi: 10.9790/0853-1410693100.
- Perez-Padilla, R., Schilman, A. and Riojas-Rodriguez, H. (2010) 'Respiratory health effects of indoor air pollution', *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 14(9), pp. 1079–1086.
- P Prasedya, E. S., Ambana, Y., Martyasari, N. W. R., Aprizal, Y., Nuriyawati. et al. (2020) 'Short-term E-cigarette toxicity effects on brain cognitive memory functions and inflammatory responses in mice', *Toxicological Research*, 36(3), pp. 267–273. doi: 10.1007/s43188-019-00031-3.
- Radi, R. (2004) 'Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(12), pp. 4003–4008. doi: 10.1073/pnas.0307446101.
- Del Rio, D., Stewart, A. J. and Pellegrini, N. (2005) 'A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress', *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), pp. 316–328. doi: 10.1016/j.numecd.2005.05.003.
- Schaller, K., Ruppert, L., Kahnert, S., Bethke, C., Nair, U., and Pötschke-Langer, M. (2013) 'Electronic cigarettes an overview.', *Tob Prev Tob Control*, 19, pp. 1–52.
- Schneider, B. N. and White, B. (2015) 'Nicotine addiction', *The 5-Minute Clinical Consult Standard 2016: Twenty Fourth Edition*, pp. 2295–2303.
- Scholz, H., Yndestad, A., Damås, J., Wæhre, T., Tonstad, S., Aukrust, P. et al. . (2003) '8-Isoprostane increases expression of interleukin-8 in human macrophages through activation of mitogen-activated protein kinases', *Cardiovascular Research*, 59(4), pp. 945–954. doi: 10.1016/S0008-6363(03)00538-8.
- Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo, A. W., Simandibrata, M., Setyohadi, B., and Syam, A. F. (2014) *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 6th edn, *Buku Ajar Ilmu Penyakit*

Dalam. 6th edn.

- Shields, P. G., Berman, M., Brasky, T. M., Freudenheim, J. L., Mathe, E., McElroy, J. P. et al. (2017) 'A review of pulmonary toxicity of electronic cigarettes in the context of smoking: A focus on inflammation', *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 26(8), pp. 1175–1191. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-17-0358.
- Smith, C. J. and Fischer, T. H. (2001) 'Particulate and vapor phase constituents of cigarette mainstream smoke and risk of myocardial infarction', *Atherosclerosis*, 158(2), pp. 257–267. doi: 10.1016/S0021-9150(01)00570-6.
- Son, Y., Mishin, V., Laskin, J. D., Mainelis, G., Wackowski, O. A., Delnevo, C. et al. (2016) 'Hydroxyl Radicals in E-Cigarette Vapor and E-Vapor Oxidative Potentials under Different Vaping Patterns', *Physiology & behavior*, 176(1), pp. 100–106. doi: 10.1021/acs.chemrestox.8b00400.Hydroxyl.
- Tan, B. L. and Nohaizen, M. E. (2019) 'Effect of High-Fat Diets on Oxidative Stress, Cellular Inflammatory Response and Cognitive Function', pp. 1–22.
- Taylor, M., Carr, T., Oke, O., Jaunky, T., Breheny, D., Lowe, F. et al. (2016) 'E-cigarette aerosols induce lower oxidative stress in vitro when compared to tobacco smoke', *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(6), pp. 465–476. doi: 10.1080/15376516.2016.1222473.
- Van Der Vaart, H., Postma, D. S., Timens, W., and Hacken, N. H. T. (2004) 'Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: A review', *Thorax*, 59(8), pp. 713–721. doi: 10.1136/thx.2003.012468.
- Valenca, S. S., Bezerra, F. S., Lopes, A. A., Romana-Souza, B., Cavalcante, M. C., Lima, A. B. et al. (2008) 'Oxidative stress in mouse plasma and lungs induced by cigarette smoke and lipopolysaccharide', *Environmental Research*, 108(2), pp. 199–204. doi: 10.1016/j.envres.2008.07.001.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., and Telser, J. (2007) 'Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease', *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), pp. 44–84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.
- Vrolijk, M. F., Opperhuizen, A., Jansen, E. H., Godschalk, R. W., Schooten, F. J., Bast, A. et al. (2015) 'The shifting perception on antioxidants: The case of vitamin E and β -carotene', *Redox Biology*, 4, pp. 272–278. doi: 10.1016/j.redox.2014.12.017.
- Wu, C. U., Siddiqui, J. A., Wadensweiler, P., Gayen, J. R., Avolio, E., Bandyopadhyay, G. K. et al. (2014) 'Nicotinic acetylcholine receptors in glucose homeostasis: The acute hyperglycemic and chronic insulin-sensitive effects of nicotine suggest dual opposing roles of the receptors in male mice', *Endocrinology*, 155(10), pp. 3793–3805. doi: 10.1210/en.2014-1320.

- Weinberg, J. M. (2006) 'Lipotoxicity', *Kidney International*, 70(9), pp. 1560–1566. doi: 10.1038/sj.ki.5001834.
- Willemse, B. W. M., Postma, D. S., Timens, W., and ten Hacken, N. H. T. (2004) 'The impact of smoking cessation on respiratory symptoms, lung function, airway hyperresponsiveness and inflammation', *European Respiratory Journal*, 23(3), pp. 464–476. doi: 10.1183/09031936.04.00012704.
- Wu, Y., Song, P., Zhang, W., Liu, J., Dai, X., Liu, Z. et al. (2015) 'Activation of AMPK α 2 in adipocytes is essential for nicotine-induced insulin resistance in vivo', *Nature Medicine*, 21(4), pp. 373–382. doi: 10.1038/nm.3826.
- Xiaoqin, Y. J., Wang, X. and Hu, D. (2017) 'Mitochondrial alterations during oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease', *International Journal of COPD*, 12, pp. 1153–1162. doi: 10.2147/COPD.S130168.
- Ypsilantis, P., Politou, M., Anagnostopoulus, C., Kortsaris, A., and Simopoulus, C. (2012) 'A Rat Model of Cigarette Smoke Abuse Liability', *Comparative medicine*, 62(5), pp. 395–399.
- Zhao, J., Zhang, Y., Sisler, J. D., Shaffer, J., Leonard, S. S., Morris, A. M. et al. (2019) 'Assessment of reactive oxygen species generated by electronic cigarettes using acellular and cellular approaches', pp. 549–557. doi: 10.1016/j.jhazmat.2017.10.057.Assessment.

LAMPIRAN



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Gedung Dr. Soekarno Widyadarmas
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext. 2007
E. fku@uii.ac.id
W. fku.uii.ac.id

Nomor : 7/Ka.Kom.Et/70/KE/III/2021

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Pengaruh Pemaparan Rokok dan Vape pada Tikus yang Diinduksi High-fat Diet"

Peneliti Utama : Naufal Arif Ismail
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Pendidikan Dokter FK UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 19 Maret 2021



*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini ethical clearance harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *Informed consent*

No	Kode	Abs	MDA nmol/ml
1	N1	0.048	1.84
2	N2	0.050	1.96
3	N3	0.044	1.59
4	N4	0.047	1.78
5	N5	0.039	1.28
6	N6	0.038	1.22
7	N7	0.046	1.72
8	I1	0.066	2.96
9	I2	0.067	3.02
10	I3	0.059	2.52
11	I4	0.060	2.58
12	I5	0.064	2.83
13	I6	0.057	2.40
14	R1	0.185	10.33
15	R2	0.177	9.83
16	R3	0.172	9.52
17	R4	0.168	9.28
18	R5	0.171	9.46
19	R6	0.188	10.51
20	R7	0.178	9.89
21	R8	0.169	9.34
22	V1	0.093	4.63
23	V2	0.092	4.57
24	V3	0.089	4.38
25	V4	0.104	5.31
26	V5	0.088	4.32
27	V6	0.091	4.50
28	V7	0.095	4.75

Hasil Uji Normalitas Kadar MDA plasma

Kelompok	Statistik	Dif	Sig.
N	0,909	7	0,389
I	0,921	6	0,510
R	0,904	8	0,316
V	0,852	7	0,128

Hasil Uji ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between groups	293,713	3	87,904	805,861	0,000
Within groups	2,961	24	0,121		
Total	296,629	27			

Hasil Uji Homogenitas *Levene test*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,198	3	24	0,332