

**Pengaruh pemberian ekstrak labu siam (*Sechium edule*) terhadap kadar
Malondiadehida pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*)
strain wistar yang diinduksi pakan aterogenik**

^{1*}Annisa Hanifwati, ²Arumita Ayu Novitasari, ³Anung Putri Illahika

^{1,3} Staff Pengajar, Universitas Muhammadiyah - Malang;

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah - Malang

Email: annisahanif@umm.ac.id

Abstrak. Hiperkolesterolemia dan stres oksidatif berdampak pada peroksidasi lipid dan mengakibatkan peningkatan *Malondiadehida* (MDA). *Sechium edule* mengandung flavonoid dan fenolik yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menurunkan nilai MDA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak *Sechium edule* terhadap MDA pada *Rattus novergicus* strain wistar dengan pakan aterogenik. Penelitian ini menggunakan *true* eksperimental dengan *post test only control group design*. Enam belas ekor tikus jantan dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok positif diberi pakan aterogenik dan tiga kelompok diberi pakan aterogenik dan ekstrak *Sechium edule* dengan dosis 20, 40 dan 80 (mg/hari) selama 42 hari. Nilai MDA dihitung dengan metode TBARS. Hasil uji One Way Anova menunjukkan pengaruh ekstrak *Sechium edule* yang signifikan terhadap nilai MDA tikus ($p=0,001$). Uji post hoc bonferroni menunjukkan dosis yang distrat memberikan efek 40mg/hari. Uji regresi variabel dummy 2 menunjukkan bahwa ekstrak *Sechium edule* dapat menurunkan MDA tikus dengan nilai 75,3%. Ekstrak *Sechium edule* dapat menurunkan MDA tikus dengan pakan aterogenik dan dosis yang mulai memberikan efek adalah 40 mg/hari

Kata kunci: pakan aterogenik, MDA, dan ekstrak *Sechium edule*

Abstract. Hypercholesterolemia and oxidative stress which has an impact on lipid peroxidation to increasing of *Malondiadehida* (MDA). *Sechium edule* contains flavonoid and phenolic that has been proved to have antioxidant activity that can decrease of MDA value. This study aim to determine the effect of *Sechium edule* extract on MDA in *Rattus novergicus* strain wistar with atherogenic feed This study used true experimental with post test only control group design. Sixteen male rats were divided into 4 groups. The positive group were given atherogenic feed and three groups were given atherogenic feed and *Sechium edule* extract at a dose 20, 40 and 80 (mg/day) for 42 days. The MDA value is calculated with TBARS method. The result of One Way Anova test showed significant effect of *Sechium edule* extract to the rats to MDA value ($p=0.001$). Post hoc bonferroni test showed the doses strated giving effect in 40mg/day. Regression variable dummy 2 test showed that *Sechium edule* extract can decrease MDA rats with value of 75,3%. *Sechium edule* extract can decrease of MDA rats with atherogenic feed and the doses started giving effect is 40 mg/day

Keywords: atherogenic feed, MDA, and sechium edule extract

Pendahuluan

Aterosklerosis adalah kondisi dinding endotel pembuluh darah yang mengalami penebalan pada tunika intima akibat dari penumpukan plak fibrosa. Plak fibrosa terbentuk dari akumulasi monosit, makrofag, sel busa, jaringan ikat, debris jaringan dan kristal kolesterol. Pembuluh darah pada aterosklerosis secara bertahap mengalami penyempitan lumen endotel dan menyebabkan iskemia¹. Kondisi ini banyak dipengaruhi oleh stres

oksidatif, yaitu ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan².

Faktor resiko utama dari aterosklerosis adalah hiperkolesterolemia. Hiperkolesterolemia ditandai dengan peningkatan kadar *low density lipoprotein* (LDL) ≥ 190 mg/dL³. Sekitar 70 % dari kolesterol akan ditransport dalam bentuk LDL yang berpengaruh terhadap pembentukan aterosklerosis¹. Kolesterol LDL bersifat mudah teroksidasi oleh radikal bebas dan erat hubungannya dengan proses

peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menghasilkan senyawa aldehida yang disebut *Malondialdehyde* (MDA)⁴. Kadar MDA dapat digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan gambaran derajat stres oksidatif⁵.

Malondialdehida dapat bereaksi dengan protein sel dan jaringan menjadi *adducts protein* yang merupakan salah satu dari kelompok *Advanced Lipid Peroxidation End Products* (ALE). Protein ALE memodifikasi dan mengubah LDL terhadap *scavenger reseptor* pada makrofag menjadi sel busa (*foam cell*). Sel busa yang menumpuk dalam jaringan endotel berubah menjadi *fatty streak* dan berkembang menjadi aterosklerosis⁶.

Labu siam memiliki manfaat sebagai antibakterial, antioksidan dan antiinflamasi bergantung pada senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya. Labu siam mengandung senyawa aktif flavonoid, fenol, vitamin C, karotenoid dan antioksidan⁷. Jenis flavonoid pada labu siam adalah flavon dan flavonol dengan 3 c-glikosida dan 5 o-glikosida dapat menurunkan kolesterol total dengan mekanisme menghambat absorpsi kolesterol di usus⁸. Fenol sebagai antioksidan mendonasikan gugus -OCH₃ dan -OH dapat menjadikan radikal bebas menjadi senyawa yang stabil⁹. Ekstrak etanol labu siam mengandung antioksidan yang tinggi, sehingga dapat menghambat radikal bebas dan menurunkan kadar LDL¹⁰. Labu siam juga memiliki kandungan yang sama dengan buah kiwi yaitu fenol dan flavonoid yang dapat menurunkan kadar MDA¹¹.

Tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) strain wistar digunakan dalam penelitian tentang aterosklerosis karena mudah dimanipulasi genetik dan mudah diamati aterogenesisnya dalam waktu cepat¹². Pemberian diet aterogenik pada tikus dapat meningkatkan kadar LDL¹³. Pemberian diet tinggi lemak dengan komposisi bahan salah satunya adalah *lard* dapat mempengaruhi peningkatan kadar MDA tikus¹¹.

Berdasarkan hasil kajian dan kandungan yang terdapat dalam labu siam, maka peneliti ingin mengetahui pengaruh ekstrak labu siam (*Sechium edule*) terhadap kadar MDA tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) strain wistar yang diinduksi pakan aterogenik.

Metode penelitian

Penelitian ini *true eksperimental* dengan *post test only control group design* selama 42 hari di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran

Universitas Muhammadiyah Malang. Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novvergicus*) strain wistar, umur 2-3 bulan, berat badan 160-240 gram, sejumlah 16 ekor tikus yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan dengan setiap kelompok diisi 3 ekor tikus dengan 1 cadangan²⁴. Ekstrak labu siam (*Sechium edule*) dibuat di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Malang. Ekstrak diberikan secara peroral dengan dosis 20mg/ 200grBBtikus/ hari, 40mg/ 200grBBtikus/ hari, 80mg/ 200grBBtikus/ hari selama 42 hari. Induksi pakan aterogenik terdiri dari 5% lemak kambing, 0,5% asam kolat, 2% kuning telur puyuh, dan 10% *lard*. Pakan aterogenik diberikan selama 42 hari dengan dicampur di pakan standart 20 gram/hari.

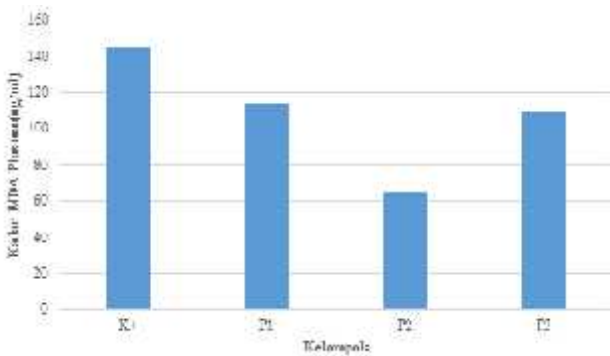
Tikus diadaptasi selama 7 hari dengan diberikan pakan standart dan minum. Kemudian tikus dibagi dalam 4 kelompok, yaitu

- Kelompok K+ : sebagai kontrol positif diberi pakan standart dan pakan aterogenik tanpa ekstrak labu siam (*Sechium edule*) selama 42 hari.
- Kelompok P1 : diberi pakan standart, pakan aterogenik, pemberian ekstrak buah labu siam (*Sechium edule*) dengan dosis 20mg/ 200grBBtikus/hari selama 42 hari.
- Kelompok P2 : diberi pakan standart, pakan aterogenik, pemberian ekstrak buah labu siam (*Sechium edule*) dengan dosis 40mg/ 200grBBtikus/hari selama 42 hari.
- Kelompok P3 : diberi pakan standart, pakan aterogenik, pemberian ekstrak buah labu siam (*Sechium edule*) dengan dosis 80mg/ 200grBBtikus/hari selama 42 hari.

Kemudian tikus dianestesi dengan kloroform dan dibedah untuk diambil darahnya di ventrikel kiri sebanyak $\pm$ 2 ml. Darah tikus disentrifugasi untuk diambil serum darahnya dan lalu serum di ukur kadar MDA di Laboratorium Faal, FK UB dengan metode TBARS. Selanjutnya data kadar MDA tikus dilakukan analisis data dengan uji one way anova, post hoc dan uji regresi linier.

Hasil penelitian

Berdasarkan penelitian didapatkan bahwa pengukuran kadar MDA pada kontrol positif memiliki kadar MDA tertinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, yaitu 145,493 ng/ml (Gambar 1).



Gambar 1. Grafik rata-rata kadar MDA Plasma

Hasil uji *one way anova* menunjukkan signifikansi (p) sebesar 0,001. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Hal ini mengindikasikan paling tidak terdapat perbedaan rerata kadar MDA plasma antara perlakuan dan kontrol positif (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji *one way anova*

Variabel	Sig.
Kadar MDA Plasma	0,001

Pada kelompok P2 dosis 40mg/200grBB/hari dalam hasil uji *post hoc* (sig = 0,001) terkait perbedaan kadar MDA antara kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak labu siam dapat menurunkan kadar MDA sebagai efek pencegahan proses aterosklerosis dengan signifikan (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji *post hoc bonferroni*

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Sig.	Keterangan
K+	P1	0,339	Tidak berbeda signifikan
	P2	0,001	Berbeda signifikan
	P3	0,141	Tidak berbeda signifikan

Nilai uji regresi variabel *dummy_2* didapatkan bahwa ekstrak labu siam pada dosis 40mg/200grBB/hari dapat menurunkan kadar MDA. Hasil uji regresi ini juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak labu siam berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA tikus sebesar 75,3 % dan 24,7 % lainnya dipengaruhi oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Faktor lain yang tidak diteliti, tetapi memberikan pengaruh sehingga

menjadi keterbatasan pada penelitian ini terdiri atas faktor endogen dan eksogen (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Regresi Linier Variabel Dummy

Model	Unstandardized Coefficients		Std. Coefficients Beta	T	Sign
	B	Std. Error			
1 Constant	144,454	13,196		10,947	0,000
Dummy 1	-30,152	17,036	-0,407	-1,770	0,111
Dummy 2	-78,758	16,162	-1,164	-4,873	0,001
Dummy 3	-35,090	16,162	-0,519	-2,171	0,058

Pembahasan

Pakan aterogenik pada penelitian ini terdiri dari 5% lemak kambing, 0,5% asam kolat, 2% kuning telur puyuh, 10% *lard* yang dicampurkan pakan standart dengan pemberian 20g/hari selama 42 hari dapat menunjukkan peningkatan kadar MDA dari normalnya dibuktikan dengan didapatkan pengukuran kadar MDA pada kontrol positif memiliki kadar MDA tertinggi. Peningkatan kadar MDA pada penelitian ini juga disebabkan oleh penambahan *lard* dalam diet aterogenik. Penambahan minyak babi atau *lard* dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah hewan coba dikarenakan memiliki kandungan asam lemak jenuh yang tinggi yaitu 38-43% dan kolesterol, sehingga penggunaan minyak babi yang terus menerus memiliki efek yang tidak baik untuk tubuh¹⁴. Penelitian ini mendukung penelitian Yu Zhenxiang¹¹ yaitu pemberian pakan tinggi lemak terdiri dari *lard*, asam kolat, bubuk kolesterol selama 42 hari dapat meningkatkan kadar MDA tikus pada kelompok kontrol positif.

Mekanisme pakan aterogenik dalam penelitian ini dapat meningkatkan kadar MDA tikus. Pakan aterogenik menyebabkan peningkatan *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan memicu interaksi dengan radikal bebas²⁵. Radikal bebas yang tidak seimbang dengan antioksidan menyebabkan peningkatan produksi ROS yang akibatnya terjadi stres oksidatif dan menginduksi terjadinya peroksidasi lipid. Proses akhir dari peroksidasi lipid yaitu MDA. Peningkatan kadar LDL dalam darah berpengaruh terhadap peningkatan produksi MDA melalui proses peroksidasi lipid¹⁵.

Ekstrak labu siam dapat menurunkan kadar MDA sebagai efek pencegahan proses aterosklerosis dengan signifikan. Penelitian ini didukung oleh

penelitian Agustini¹⁶ dan Neeraja, *et al.*,¹⁰ yang menggunakan ekstrak buah labu siam dengan dosis 40mg/200grBBtikus dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL yang juga dapat berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA tikus. Penurunan kadar MDA pada perlakuan dosis ini, juga didukung oleh penelitian Yu Zhenxiang¹¹ bahwa dengan pemberian ekstrak buah kiwi (40mg/200grBB) yang kandungan buahnya sama dengan labu siam yaitu fenol dan flavonoid dapat menurunkan kadar MDA tikus model hiperlipidemia.

Penurunan kadar MDA pada penelitian ini juga disebabkan oleh kandungan ekstrak labu siam yang mempunyai antioksidan berupa flavonoid dan fenol. Jenis flavonoid yang terkandung dalam labu siam adalah flavon dan flavonol dengan 3 c-glikosida dan 5 o-glikosida, zat ini dapat menghambat absorpsi kolesterol di usus. Flavonoid juga dapat menghambat pembentukan ROS dan meningkatkan regulasi serta proteksi dari antioksidan. Flavonoid dapat melindungi membran lipid dari kerusakan oksidatif, sehingga peroksidasi lipid dapat dihambat dan peningkatan kadar MDA dapat dicegah¹⁷. Fenol sebagai antioksidan mendonasikan gugus -OCH₃ dan -OH dapat menjadikan radikal bebas menjadi senyawa yang stabil. Fenol dapat menurunkan sekresi lipoprotein yang terdapat di hati dan usus dan mengurangi proses esterifikasi kolesterol. Fenol menghambat sintesis Apo B-48 dan Apo B-100 di dalam enterosit dan hati sehingga menghambat oksidasi LDL dan proses peroksidasi lipid¹⁸.

Secara statistik pada uji *post hoc* kelompok P1 dosis 20mg/200grBB/hari (sig = 0,339) dan P3 dosis 80mg/200grBB/hari (sig = 0,141) ekstrak labu siam belum memberikan efek penurunan terhadap kadar MDA tikus putih. Namun, jika dilihat pada grafik rerata kadar MDA menunjukan bahwa ekstrak labu siam pada dosis 20mg/200grBB/hari menurunkan kadar MDA menjadi 114,302 ng/ml dan pada dosis 80mg/200grBB/hari menurunkan kadar MDA menjadi 109,364 ng/ml.

Pada kelompok P1 ekstrak labu siam dosis 20mg/200grBB/hari tidak memberikan pengaruh terhadap kadar MDA. Hal ini sesuai dengan penelitian Agustini, *et al.*,¹⁶ bahwa pada ekstrak labu siam dosis 20mg/200gr/hari belum memberikan pengaruh terhadap kadar kolesterol dan trigliserida. Akan tetapi, pada penelitian Neeraja *et al.*,¹⁰ pada dosis 20mg/200gr/hari sudah dapat menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida dan LDL. Pada penelitian Yu Zhenxiang¹¹, bahwa pemberian ekstrak buah kiwi (20mg/200gr) dengan kandungan buah sama dengan labu siam yaitu fenol dan flavonoid

dapat menurunkan kadar MDA tikus model hiperkolesterol. Perbedaan ini dapat terjadi karena faktor penyerapan ekstrak pada setiap tikus berbeda. Faktor penyerapan ini dipengaruhi oleh ukuran tubuh, usia, toleransi dan resistensi. Faktor lainnya juga dapat disebabkan karena dosis terlalu rendah sehingga belum mencapai konsentrasi efektif. Apabila konsentrasi efektif belum tercapai maka ekstrak tidak menghasilkan efek optimal (*optimal efficacy*)¹⁹.

Kelompok P3 ekstrak labu siam dosis 80mg/200grBB/hari juga tidak didapatkan pengaruh dosis terhadap kadar MDA. Kadar MDA pada dosis ini cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan dosis ekstrak labu siam 40mg/200grBB/hari. Pada dosis ini dapat dikarenakan terjadinya proses hormesis, yaitu fenomena reaksi dosis, dimana dosis kecil akan menimbulkan efek stimulasi, sedangkan dosis besar akan menyebabkan efek inhibisi. Penggunaan antioksidan dengan dosis yang tepat akan menimbulkan efek positif/ stimulasi biologis, sedangkan antioksidan dalam dosis tinggi menyebabkan efek merugikan²⁰. Pada umumnya, oksidan dalam bentuk ROS dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah rendah sebagai pensinyalan molekul seluler dalam proses fisiologis, ekspresi gen, pengaturan respon imun dan mempertahankan antioksidan. Sedangkan dengan adanya kadar antioksidan yang berlebihan dapat turut menetralkan oksidan fisiologis yang digunakan dalam jalur pensinyalan ini, karena antioksidan eksogen tidak dapat membedakan oksidan fisiologis dan patologis, sehingga antioksidan eksogen menjadi prooksidan. Dalam keadaan ini maka dosis tinggi pada ekstrak labu siam menghasilkan prooksidan dan menjadikan peningkatan kadar MDA sulit dicegah²¹.

Faktor lain yang tidak diteliti, tetapi memberikan pengaruh terdiri dari faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen yaitu metabolisme yang mempengaruhi absorpsi terhadap pemberian ekstrak labu siam. Selain itu, kadar antioksidan yang berasal dari dalam tubuh seperti SOD, GSH dan katalase yang berperan langsung dalam menghambat terbentuknya radikal bebas. Faktor eksogen yaitu lingkungan kandang tikus yang tidak standar menjadi keterbatasan pada penelitian ini. Alat pengukur suhu ruangan tidak terinstalasi pada kandang, padahal direkomendasikan suhu ruangan untuk tikus adalah 20-28°C. Suhu ruangan kurang dari 20 °C meningkatkan metabolisme tikus, sedangkan suhu ruangan lebih 28 °C mengganggu sistem termoregulasi tikus²². Prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini seperti memegang dan mengangkat tikus selama proses pembersihan kandang dapat

meningkatkan tingkat stress dan menurunkan imunitas pada tikus²³.

Keterbatasan lain dalam penelitian ini terdapat 2 ekor tikus masuk kriteria *drop out* karena mengalami mati selama proses penelitian. Tikus yang mati pada kelompok K⁺ berjumlah 1 ekor disebabkan karena tikus tidak mau makan pakan aterogenik dan minum, sehingga sakit dan akhirnya mati. Tikus yang mati pada kelompok P1 berjumlah 1 ekor disebabkan karena kesalahan peneliti saat menyonde ekstrak yang mengakibatkan aspirasi pada tikus.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak labu siam (*Sechium edule*) dapat menurunkan kadar MDA tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) strain wistar yang diinduksi pakan aterogenik dan dosis efektif yang mulai berpengaruh adalah 40mg/200grBB/hari.

Daftar Pustaka

1. Simbernagl Stefan, Lang Florian. *Aterosklerosis dalam: Teks dan Atlas Berwarna Patofisiologi*. EGC. 2016. p 236-239. ISBN 979-448-756-2.
2. Ismawati & Oenzil, Fadil. Analisis Konsentrasi Low Density Lipoprotein Teroksidasi Serum pada Tadap Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2017, 10(10): 1-5.
3. American Heart Association (AHA). *Guideline on the Management of Blood Cholesterol*. AHA. 2017. p 1-22. Puspitasari A.P, S. & Syauqy, A.. Pengaruh Pemberian Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* forma typical) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus Sprague Dawley. *Journal of Nutrition College*. 2015, 4(2), p. 314-322. ISSN 2622-884X.
4. Rijhoff Jeroen, G. Winyard Paul, Zarkovic Neven. Clinical relevance of biomarkers of oxidative stress. *Forum Review Article, Maastricht University, Faculty of Health, Medicine and Life Sciences, Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht, The Netherlands*. 2015, p 1-118. DOI: 10.1089/ars.2015.6317
5. Negre-Salvayre, A., C Coatrieux, C Ingueneau, R Salvayre. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors, *British Journal of Pharmacology*. 2018, 153(1), pp. 6–20.
6. Vieira, E.F., Pinho, O., Ferreira, I.M.P., Delerue-Matos, C. Chayote (*Sechium edule*): a review of nutritional composition, bioactivities and potential applications, *Food Chemistry*. 2018, p 1-50.
7. Coronel, O. A. D. Á., León-García, E., Vela-Gutiérrez, G. & Cruz, J. D. I. Chayote (*Sechium edule*) Phytochemical and pharmacological approaches. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*. 2017, p 979-991.
8. Mathew Sindhu, Abraham T. Emilia, Zakaria Zainul Akmar. Reactivity of phenolic compounds towards free radicals under in vitro conditions. *Journal Food Scientists & Technologist*. 2015, 52(9), p 5790–5798.
9. Neeraja, Kosanan., Rabindra Debnath, Firdous. Cardioprotective Activity of fruits of *Sechium edule*. *Bangladesh J Pharmacol*, 2015. p 125-130. ISSN 2598-0165.
10. Yu Zhenxiang, Huali Xu, Xiafeng Yu, Dayun Sui. Hypolipidemic effect of total flavonoids extracted from the leaves of *Actinidia kolomikta* in rats feed a high fat diet, *Irian Journal of Basic Medical Sciences*, 2017, p 1141-1148.
11. Veseli Besa Emini, Paola Perrotta, Gregory R.A. De Meyer, Lynn Roth, Carole Van der Donckt, Wim Martinet and Guido R.Y. De Meyer. Animal models of atherosclerosis, *European Journal of Pharmacology*. 2017, p 1-46.
12. Paulina, Ariza & Asni, Enikarmila. Pengaruh Lama Pemberian Diet Aterogenik Terhadap Indeks Aterogenik Serum *Rattus novvergicus* Strain Wistar Jantan. *Journal of Midwifery FK Universitas Andalas*, 2(2). 2015, p. 1-15. ISSN 2355-6889.
13. Kusumastuty Inggita.. Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus Dengan Diet Aterogenik. *Indonesian Journal of Human Nutrition*. 2014, 1(1): p 50-56. E-ISSN 2355-3987
14. Ayala Antonio, Munoz Mario, Arguelles Sandro. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Review Article Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014, pp 1-31.
15. Agustini, K., Azizahwati & Marlina, S. Pengaruh Lama Pemberian Formula Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium Edule*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Dan Trigliserida Tikus Putih Jantan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, VI(2). 2017, pp. 60-64.
16. Kurniawaty, E. & Yusnita, A. R. Pengaruh Konsumsi Blueberry (*Vaccinium cyanococcus*) Terhadap Penurunan Oksidasi LDL sebagai Pengobatan untuk Penyakit Jantung Koroner. *Jurnal Majority Fakultas Kedokteran*

- Universitas Lampung*, 2016 5(3), pp. 6-10. ISSN 2599-0527.
17. Listianasari, Y., Dirgahayu, P., Wasita, B. & Nuhriawangsa, A. M. P. Efektivitas Pemberian Jus Labu Siam (*Sechium edule*) Terhadap Profil Lipid Tikus (*Rattus novergicus*) Model Hiperlipidemia. *Penelitian Gizi dan Makanan*, 2017 40(1), pp. 36-43. ISSN 0125-9717.
 18. Nasution, Azizah, *Pemberian Obat Extravascular: Farmakokinetik Klinis*. USU press. 2015, Pp 40-42. ISBN 9794587850
 19. Djuanda, Edwin, Hormesis dan Rasionalisasi Penggunaan Antioksidan : *MDVI*, 2012. 39 (4). pp 149-150
 20. Salehi Bahare, Martorell Miquel, Arbiser Jack, Sureda Antoni, Antioxidants: Positive or Negative Actors ?. *Biomolecular Journal MDPI*. 2018, 124(4), pp 1-11. Koolhaas, J. M. The laboratory rat, dalam: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals Eighth Edition*, *University of Groningen*, 2010. pp. 311-326.
 21. Ballcombe J.P., Neal D, and Chad, 2004, *Laboratory Routine Cause Animal Stress*, American Association For Laboratory Animal Science, vol.43, pp. 24-40.
 22. Fitts Douglass A. Ethics and Animal Numbers : Informal Analyses, Uncertain Sample Size, Inefficient Replications, and Type I Errors, *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 2011, 50, No. 4, pp. 445-453. PMID: PMC3148647.
 23. Nègre-Salvayre A, Nathalie Augé, Caroline Camaré, Titziana Bacchetti, Gianna Ferretti and Robert Salvayre. Dual signaling evoked by oxidized LDLs in vascular cells, *Free Radical Biology and Medicine*, 2017 pp 1-42.