

**Pengaruh Theaflavin Teh Hitam (*Camellia sinensis*) Gambung, Jawa Barat terhadap Ketebalan Dinding Aorta Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Diet Atherogenik**

Pratista Adi Krisna \*, Retty Ratnawati \*\*, Eviana Norahmawati \*\*\*

**ABSTRAK**

Penyakit kardiovaskular yang disebabkan terutama oleh atherosklerosis, merupakan penyebab utama kecacatan dan kematian dini di seluruh dunia. Salah satu strategi terbaru yang dilakukan sebagai pencegahan atherosklerosis adalah konsumsi antioksidan. Theaflavin dari teh hitam merupakan antioksidan yang memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian theaflavin teh hitam berbagai dosis terhadap penurunan ketebalan dinding aorta tikus (*Rattus norvegicus*) wistar yang diberi diet atherogenik. Studi eksperimental ini menggunakan *post test only control group design*. Sampel dibagi ke dalam lima kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 tikus, yaitu kelompok kontrol negatif (diet normal), kelompok kontrol positif (diet atherogenik), kelompok dosis 1 (diet atherogenik + theaflavin 5 mg/kgBB/hari), kelompok dosis 2 (diet atherogenik + theaflavin 10 mg/kgBB/hari), dan kelompok dosis 3 (diet atherogenik + theaflavin 20 mg/kgBB/hari). Variabel yang diukur pada penelitian ini adalah ketebalan dinding aorta. Pada uji *one-way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi 0,000. Pada uji *post hoc* terdapat perbedaan yang signifikan pada ketebalan dinding aorta antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negative ( $p = 0.000$ ) dan kelompok perlakuan ( $p = 0.000$ ;  $0.000$ ;  $0.000$ ), namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian theaflavin dapat menurunkan ketebalan dinding aorta tikus yang diberi diet atherogenik secara signifikan.

Kata kunci: Atherosklerosis, Ketebalan dinding aorta, Theaflavin.

**The Effect of Theaflavin Black Tea (*Camellia sinensis*) Gambung, West Java on Aortic Wall Thickness of Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Atherogenic Diet**

**ABSTRACT**

Cardiovascular disease which mostly caused by atherosclerosis plaque is the major cause of disability and death in the world. One of the newest strategy of preventing atherosclerosis is antioxidant consumption. Theaflavin is an antioxidant which has high antioxidant effect. This research is aimed to prove theaflavin's effect on aortic wall thickness of rats (*Rattus norvegicus*) Wistar given atherogenic diet. This experimental study was using *post test only control group design*. These samples were be divided into five groups which each group was consist of 5 rats, Negative control group (normal diet), positive control group (atherogenic diet), dose 1 group (atherogenic diet + theaflavin 5 mg/kgBW/day), dose 2 group (atherogenic diet + theaflavin 10 mg/kgBW/day), and dose 3 group (atherogenic diet + theaflavin 20 mg/kgBW/day). The measured variable is aortic wall thickness. *One-way ANOVA* was used to analyze various doses that showed significance score 0,000. The *post hoc* test showed significant difference between positive control group with negative control group and dose groups, but there was no significant difference among dose groups. It is concluded that theaflavin decreases aortic wall thickness of rats induced by atherogenic diet significantly.

Keywords: Aortic wall thickness, Atherosclerosis, Theaflavin.

\* Program Studi Pendidikan Dokter FKUB

\*\* Labotarium Fisiologi FKUB

\*\*\* Laboratorium Patologi Anatomi FKUB

## PENDAHULUAN

Atherosklerosis merupakan penyakit yang menjadi permasalahan terbesar yang dihadapi baik bagi negara maju maupun negara berkembang. Atherosklerosis merupakan kelainan yang mendasari penyakit kardiovaskuler (jantung dan pembuluh darah). Menurut data WHO tahun 2004, penyakit kardiovaskuler merupakan peringkat pertama (29,34 %) penyebab kematian di dunia.<sup>1</sup> Data Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2001 menunjukkan penyakit kardiovaskuler (jantung dan pembuluh darah) menempati urutan pertama (26,4 %) sebagai penyakit penyebab kematian di Indonesia.<sup>2</sup>

Patogenesis atherosklerosis dimulai dari disfungsi endotel yang disebabkan salah satunya karena hiperlipidemia dan kadar *reactive oxygen species* (ROS) yang tinggi.<sup>3</sup> Disfungsi endotel menyebabkan pengeluaran molekul adhesi dan faktor kemotaktik serta peningkatan permeabilitas endotel sehingga LDL (*low density lipoprotein*) akan masuk ke dalam jaringan.<sup>4</sup> LDL dalam jaringan akan berubah menjadi LDL yang teroksidasi (Ox-LDL) melalui proses lipid peroxidase. LDL yang teroksidasi (Ox-LDL) sebagian besar akan ditelan oleh makrofag melalui *scavenger receptor* (SR), dan berkembang menjadi sel foam.<sup>5</sup> Sel foam dan kolesterol membentuk *lipid core*. Disfungsi endotel dan aktivasi sel foam menyebabkan migrasi dan proliferasi otot polos dalam tunika intima. Sel otot polos ini kemudian memproduksi matrik ekstraseluler berupa kolagen, elastin dan proteoglikan yang kemudian membentuk *fibrous cap* di atas inti lemak yang kemudian akan menimbulkan bentuk atherosklerosis yang disebut *fibrous plaque*. Kumpulan dari sel otot polos, makrofag, sel foam, serat kolagen, elastin, proteoglikan ini menyebabkan terjadinya penebalan dinding pembuluh darah.<sup>6</sup>

Radikal bebas memegang peranan penting dalam setiap tahap patogenesis atherosclerosis.<sup>7</sup> Maka strategi terbaru yang dilakukan sebagai pencegahan atherosklerosis adalah penggunaan antioksidan. Antioksidan bekerja mendonorkan ion hidrogen kepada radikal bebas dan sebagai *scavenger* radikal bebas.<sup>8</sup>

Salah satu antioksidan yang potensial yaitu theaflavin, senyawa polifenol yang terkandung dalam teh hitam. Efek antioksidan pada theaflavin lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C, vitamin E, PG, dan catechin teh hijau karena memiliki gugus hidroksi (OH) lebih banyak yang berfungsi sebagai antiradikal bebas atau antioksidan, serta tetapan laju penangkapan radikal superoksida lebih tinggi.<sup>9</sup> Selain itu, theaflavin dapat meningkatkan antioksidan alami yang terdapat dalam tubuh.<sup>10</sup> Untuk mengetahui peran theaflavin yang berpotensi atheroprotektif, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut khususnya tentang peran theaflavin dalam menghambat penebalan dinding aorta sebagai pendekatan prevensi atherosklerosis.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental*) yang dikerjakan di laboratorium secara *in vivo* dengan menggunakan rancangan percobaan *post test only control group design*.

Sampel penelitian adalah 25 ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) betina berumur 6-8 minggu yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Pengelompokan dan perlakuan dilakukan secara acak (*randomized*), dengan membagi hewan coba menjadi 5 kelompok yang terdiri dari 5 tikus untuk masing-masing kelompok, yaitu: kelompok kontrol negatif (K) yaitu hewan coba dengan diet normal tanpa diberikan ekstrak theaflavin; kelompok

kontrol positif (P) yaitu hewan coba dengan diet atherogenik tanpa diberikan ekstrak theaflavin; kelompok perlakuan I (D1) yaitu hewan coba dengan diet atherogenik + ekstrak theaflavin dosis 5 mg/kgBB/hari; kelompok perlakuan II (D2) yaitu hewan coba dengan diet atherogenik + ekstrak theaflavin dosis 10 mg/kgBB/hari; kelompok perlakuan III (D3) yaitu hewan coba dengan diet atherogenik + ekstrak theaflavin dosis 20 mg/kgBB/hari.

Perlakuan diberikan setiap hari secara bersamaan selama 65 hari. Pada akhir penelitian yaitu hari ke-66, semua tikus dibunuh dengan kloroform dan diambil jaringan aortanya dengan pembedahan untuk selanjutnya dilakukan pembuatan sediaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxilin-eosin. Kemudian dilakukan pengukuran ketebalan dinding aorta dan dihitung reratanya.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak theaflavin yang didapat dari teh hitam (*Camellia sinensis*) Gambung yang diekstraksi di Laboratorium Kimia organik FMIPA, Institut Teknologi Bandung dan Pusat Penelitian Kina dan Teh Gambung, Bandung.<sup>11</sup> Dosis theaflavin yang diberikan adalah 5 mg/kgBB/hari, 10 mg/kgBB/hari, dan 20 mg/kgBB/hari yang diencerkan dengan 5 ml aquades.<sup>12</sup> Variabel terikat penelitian adalah ketebalan dinding aorta tikus Wistar dalam tiap kelompok perlakuan yang dilihat pada 5 lapang pandang dengan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali dan diukur dengan menggunakan *software Image Pro Plus* (IPP) 6.1. Tebal dinding aorta dapat diukur dengan menarik garis tegak lurus garis terdalam tunika intima dan garis terluar tunika adventisia. Pengukuran dilakukan di ujung awal, ujung akhir dan tengah aorta.

Komposisi diet normal dan diet atherogenik dibuat berdasarkan penelitian yang dilakukan Mutiyani.<sup>13</sup>

Lokasi pemeliharaan hewan coba adalah Laboratorium Farmakologi Fakultas

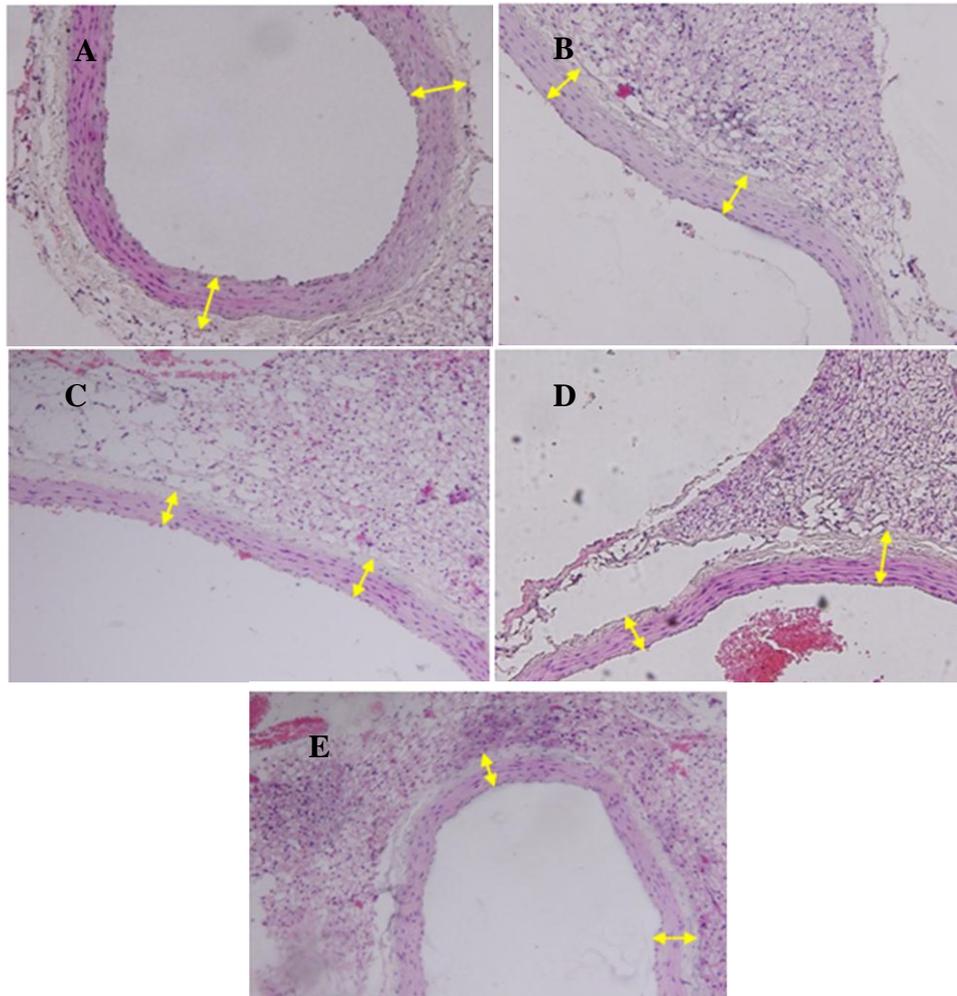
Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan sediaan histopatologi jaringan aorta dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran ketebalan dinding aorta tikus wistar dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan dalam jangka waktu 3 bulan, dari bulan Maret-Mei 2011.

Data penelitian adalah ketebalan dinding aorta tikus Wistar, dan analisis data yang digunakan adalah *one-way ANOVA*, dilanjutkan dengan analisis *post hoc least significant difference (LSD)*, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program *software statistical product and service solution 17 PS (SPSS 17 PS)*, dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ( $p = 0.05$ ) dan taraf kepercayaan 95 % ( $\alpha = 0.05$ ).

## HASIL

Preparat aorta tikus difoto dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Kemudian gambar penampang aorta yang didapatkan diukur dengan menggunakan *software Image Pro Plus* (IPP) 6.1. Tebal dinding dapat diukur dengan menarik garis tegak lurus garis terdalam tunika intima dan garis terluar tunika adventisia. Akan didapatkan ketebalan rata-rata dari dinding aorta. Pengukuran dilakukan di ujung awal, ujung akhir dan tengah aorta. Dalam satu kali pengukuran dilihat lima kali lapangan pandang.

Pengukuran terhadap masing-masing kelompok perlakuan ditampilkan pada Gambar1.



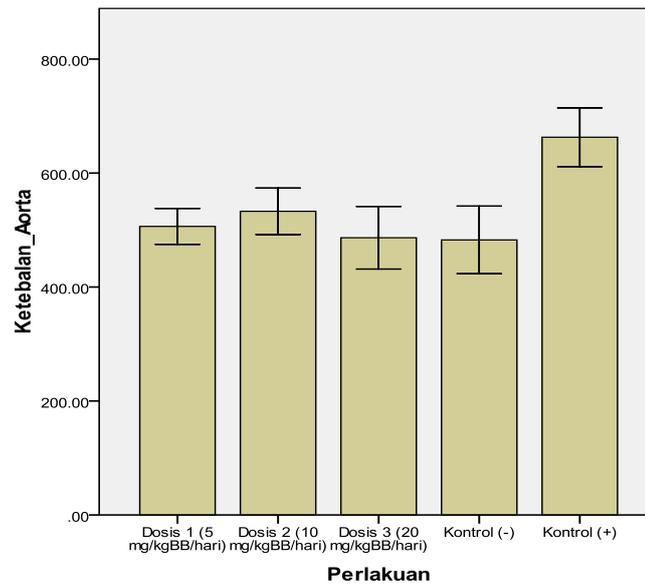
Gambar 1. Preparat jaringan aorta yang diwarnai hematoxilin-eosin (400x) pada setiap kelompok. Keterangan: **A.** Jaringan aorta tikus kelompok kontrol negatif (K) yang diberi diet normal. Rata-rata ketebalan aorta pada kelompok K adalah  $482.66 \pm 59.32 \mu\text{m}$ . **B.** Jaringan aorta tikus kelompok kontrol positif (P) yang diberi diet atherogenik saja. Rata-rata ketebalan aorta pada kelompok P adalah  $662.90 \pm 51.59 \mu\text{m}$ . **C.** Jaringan aorta tikus (D1) yang diberi diet atherogenik + theaflavin 5 mg/kgBB/hari. Rata-rata ketebalan aorta pada kelompok D1 adalah  $506.40 \pm 31.51 \mu\text{m}$ . **D.** Jaringan aorta tikus (D2) yang diberi diet atherogenik + theaflavin 10 mg/kgBB/hari. Rata-rata ketebalan aorta pada kelompok D2 adalah  $532.90 \pm 40.74 \mu\text{m}$ . **E.** Jaringan aorta tikus (D3) yang diberi diet atherogenik + theaflavin 20 mg/kgBB/hari. Rata-rata ketebalan aorta pada kelompok D3 adalah  $486.6 \pm 54.93$ .

Rerata hasil pengukuran ketebalan dinding aorta dari setiap kelompok perlakuan ditampilkan pada Tabel 1. Diagram rerata

ketebalan dinding aorta masing-masing kelompok sampel ditampilkan pada Gambar 2.

Tabel 1. Rerata hasil pengukuran ketebalan dinding aorta

Kelompok	Perlakuan	Rerata ( $\mu\text{m}$ )	Standar Deviasi
K	Kontrol negatif	482,66	59,32
P	Kontrol positif (diet atherogenik)	662,90	51,59
D1	Diet atherogenik + theaflavin 5 mg/kgBB/hari	506,40	31,51
D2	Diet atherogenik + theaflavin 10 mg/kgBB/hari	532,90	40,74
D3	Diet atherogenik + theaflavin 20 mg/kgBB/hari	486,6	54,93



Gambar 2. Rerata ketebalan dinding aorta tikus pada masing-masing perlakuan

Dari Gambar 2 terlihat rerata ketebalan dinding aorta terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif (K) yaitu  $482,66 \pm 59,32 \mu\text{m}$ . Sementara rerata ketebalan dinding aorta tertinggi terdapat pada kelompok kontrol positif (P) yaitu  $662,90 \pm 51,59 \mu\text{m}$ . Pada kelompok perlakuan yang diberi diet atherogenik dan theaflavin berbagai dosis selama 65 hari (D1, D2, dan D3) terlihat adanya penurunan ketebalan dinding aorta bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (P).

Dari hasil uji *one-way* ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ) didapatkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Jadi dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nilai rerata (*mean*) ketebalan dinding aorta yang bermakna pada setidaknya dua kelompok. Analisis dilanjutkan dengan *post hoc test* yang bertujuan untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan bermakna dari hasil uji ANOVA, dengan menggunakan uji *least significant difference* (LSD), yang hasilnya ditampilkan dalam Tabel 2.

Tabel 2 Hasil uji LSD terhadap ketebalan dinding aorta tikus

Nilai $p$	K	P	D1	D2	D3
K	-	0.000	<b>0.450</b>	<b>0.118</b>	<b>0.903</b>
P	0.000	-	0.000	0.000	0.000
D1	<b>0.450</b>	0.000	-	<b>0.400</b>	<b>0.525</b>
D2	<b>0.118</b>	0.000	<b>0.400</b>	-	<b>0.147</b>
D3	<b>0.903</b>	0.000	<b>0.525</b>	<b>0.147</b>	-

Keterangan:

Nilai  $p < 0,05$ : terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan

Nilai  $p > 0,05$ : tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok yang dibandingkan

## PEMBAHASAN

Hasil perhitungan ketebalan dinding aorta tikus Wistar kelompok kontrol negatif adalah  $K = 482.66 \pm 59.32 \mu\text{m}$ . Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif. Hal ini disebabkan karena tikus pada kelompok kontrol negatif diberikan diet normal, dengan kata lain tidak diberikan diet atherogenik yang tinggi lemak, sehingga proses atherosklerosis tidak terjadi.

Pengukuran ketebalan dinding aorta pada kelompok kontrol positif memiliki ketebalan dinding aorta tertinggi yaitu  $662,90 \pm 51,59 \mu\text{m}$ . Analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol positif ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif dan dengan kelompok perlakuan. Hal ini terjadi karena pemberian diet tinggi lemak (diet atherogenik). Diet atherogenik terdiri atas penambahan kolesterol dan minyak babi yang bertujuan untuk meningkatkan serum kolesterol dalam darah dan asam lemak yang berfungsi untuk menjaga kestabilan kolesterol dalam darah pada asupan makanan sehingga diet atherogenik ini menginduksi terjadinya hiperlipidemia.<sup>13</sup>

Hiperlipidemia menyebabkan peningkatan ROS dan menyebabkan terjadinya disfungsi endotel. Disfungsi endotel akan menyebabkan infiltrasi LDL ke dalam subendotel aorta. Hiperlipidemia juga berhubungan dengan LDL yang tinggi. Jika LDL terlalu tinggi maka reseptor LDL pada hepatosit dan membran sel jaringan lainnya tidak cukup untuk berikatan dengan jumlah kolesterol LDL yang ada. Sehingga LDL tetap bebas beredar dalam darah.<sup>14</sup> LDL yang menembus endotel dan mengalami proses oksidasi berubah menjadi LDL teroksidasi (Ox-LDL). Melalui *scavenger reseptor* makrofag memfagosit Ox-LDL dan

berubah menjadi sel busa (*sel foam*).<sup>15</sup> Sel foam dan kolesterol membentuk *lipid core*. Dalam proses atherosklerosis sel foam mengeluarkan beberapa mediator inflamasi, *growth factor* serta upregulasi dari SR, sekresi MMPs, ekspresi *tissue factor*, sekresi ROS, inhibisi ekspresi ABCA1, sekresi *proinflammatory cytokine*, peningkatan kematian sel, sekresi molekul adhesi, sekresi *chemokine*, inhibisi NO, sekresi *growth factor*, dan penurunan hidrolisis CE.<sup>15</sup> Proses inflamasi yang terjadi di dalam intima akan menghasilkan beberapa *growth factor* yang mempengaruhi proliferasi dari sel otot polos, antara lain PDGF/*platelet-derived growth factor* (dilepaskan oleh makrofag yang menempel pada sel endotel yang rusak, makrofag, sel endotel, dan sel otot polos), *fibroblast growth factor*, dan TGF- $\alpha$  /*transforming growth factor  $\alpha$* . Sel otot polos di dalam media akan bermigrasi ke intima, berproliferasi, dan menghasilkan matriks ekstraselular berupa serat kolagen, elastin, dan proteoglikan yang akan membentuk *fibrous cap* di atas inti lemak yang kemudian akan menimbulkan bentuk atherosklerosis yang disebut *fibrous plaque*. Kumpulan dari sel otot polos, makrofag, sel foam, serat kolagen, elastin, proteoglikan ini menyebabkan terjadinya penebalan dinding pembuluh darah.<sup>6</sup>

Pemberian theaflavin pada kelompok dengan dosis 5, 10, dan 20 mg/kgBB/hari pada tikus Wistar bersamaan dengan pemberian diet atherogenik selama 65 hari mengurangi ketebalan dinding aorta berkurang secara bermakna ( $p < 0,05$ ), dibandingkan dengan ketebalan dinding aorta kelompok kontrol positif (P) yang diberikan diet atherogenik saja. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian theaflavin dapat menurunkan ketebalan dinding aorta tikus secara bermakna.

Theaflavin adalah sejenis antioksidan yang terkandung dalam teh hitam. Pada teh hitam, selama proses fermentasi atau

oksimatis (oksidasi enzimatis), sebagian besar katekin yang merupakan polifenol yang banyak terdapat pada teh hijau diubah menjadi *theaflavin* dan *thearubigin* oleh enzim polifenol oksidase yang terdapat pada daun teh itu sendiri dan oksigen.<sup>16</sup>

Efek antioksidan theaflavin yang tinggi disebabkan kandungan gugus hidroksi (OH) yang banyak pada theaflavin.<sup>17</sup> Gugus hidroksi ini memiliki aktivitas antioksidan dengan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya oksidasi lipid atau memotong reaksi berantai oksidasi lipid. Selain itu, theaflavin dapat meningkatkan antioksidan alami yang terdapat dalam tubuh seperti glutathione-S transferase (GST), glutathione peroksidase (GPX), dismutase superoksida (SOD) dan katalase (CAT) yang mampu membantu menurunkan oksidasi lipid.<sup>8</sup>

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian diet atherogenik selama 65 hari mampu meningkatkan ketebalan dinding aorta tikus Wistar secara bermakna dan pemberian theaflavin dalam berbagai dosis mampu mengurangi ketebalan dinding aorta tikus Wistar secara signifikan. Maka, dapat disimpulkan bahwa ekstrak theaflavin dari teh hitam (*Camellia sinensis*) Gambung, Jawa Barat memiliki pengaruh dalam mengurangi ketebalan dinding aorta tikus Wistar yang diberikan diet atherogenik secara signifikan.

Kekurangan dari penelitian ini adalah kurangnya variasi dosis, sehingga tidak ditemukan perbedaan pengaruh yang signifikan ( $p > 0,05$ ) antar dosis theaflavin dalam mengurangi ketebalan dinding aorta, tidak dapat ditentukan perbandingan efek antar dosis dan dosis optimum untuk theaflavin sebagai antioksidan.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai efek theaflavin pada ekstrak teh hitam

(*Camellia sinensis*) Gambung, Jawa Barat terhadap ketebalan dinding aorta tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet atherogenik, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian diet atherogenik dapat meningkatkan ketebalan dinding aorta.
2. Pemberian theaflavin mampu menghambat penebalan dinding aorta tikus Wistar yang diberi diet atherogenik secara signifikan.
3. Dosis theaflavin yang dapat menghambat penebalan dinding aorta paling besar pada penelitian ini adalah dosis 20 mg/kgBB/hari

## SARAN

Beberapa hal yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut penelitian ini:

1. Perlu dilakukan penelitian yang sama dengan variasi dosis yang lebih besar.
2. Perlu dilakukan pengecatan Venhoeff & van Gieson pada dinding pembuluh darah untuk memastikan jaringan yang akan diperiksa adalah aorta.
3. Perlu dilakukan penelitian yang sama mengenai luas lumen pembuluh darah.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Boudi FB. Atherosclerosis. (Online). 2010. Diakses 18 Agustus 2010. <http://emedicine.medscape.com/cardiology#atherosclerosis>.
2. Priyana A. Anggur Merah Baik untuk Jantung. Di dalam Suhanda I (Editor), *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. Jakarta: Penerbit Buku Kompas. 2009. Hlm 31-36.
3. Steinberg D and Witztum JL. Is the Oxidative Modification Hypothesis Relevant to Human Atherosclerosis?: Do the Antioxidants Trials Conducted to Date Refute Hypothesis?. *Circulation*. 2002. 105:2107-2111.

4. Tesfamariam B and DeFelice AF. Endothelial Injury in the Initiation and Progression of Vascular Disorders. *Vascul Pharmacol*. 2007. 46(4):229-37.
5. Mughni A. Pengaruh Puasa Ramadhan Terhadap Faktor-Faktor Risiko Atherosklerosis. Semarang: Universitas Diponegoro. Tesis tidak diterbitkan. 2007.
6. Ontoseno T. Pencegahan Primordial Penyakit Jantung Koroner. (Online). 1999. Diakses 18 September 2010. [www.pediatrik.com/buletin/06224113606-2g3xih.pdf](http://www.pediatrik.com/buletin/06224113606-2g3xih.pdf).
7. Grassi D, Giovambattista D dan Claudio F. Flavonoids: Antioxidants Against Atherosclerosis. *Nutrients*. 2010. 2(8):889-902.
8. Astuti S. The Effects of Isoflavone-riched Soybean Flour, Zinc (Zn) and Vitamin E on Profile of Cu, Zn-SOD in the Seminiferous Tubules of Male Rats Testes. *Jurnal Penelitian Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Universitas Lampung*. 2009. 122-126.
9. Wang C and Li Y. Research Progress on Property and Application of Theaflavin. *African Journal of Biotechnology*. 2006. 5(3): 213-218.
10. Prosenjit S and Sukta D. Regulation of Hazardous Exposure by Protective Exposure: Modulation of Phase II Detoxification and Lipid Peroxidation by *Camellia Sinensis* and *Swertia chirata*. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis Supplement*. 2003. 1:313-322.
11. Polisenawati A dan Ciptati. Ringkasan dan Pengajuan Metode Analisis: Proses Ekstraksi dan Isolasi Theaflavin dari Sampel Teh Hitam Gambung. Laporan tidak diterbitkan. Bandung: Laboratorium Penelitian Kimia Organik ITB. 2010.
12. Cai F, Cai RL, Ji LW, Jian GC, Chao L, Qing M, *et al*. Theaflavin Ameliorates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats Through Its Anti-Inflammatory Effect and Modulation of STAT-1. *Mediators Inflamm*. 2006. (5):1-9.
13. Mutiyani M. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan dengan Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel  $\beta$  Pankreas pada *Rattus norvegicus* strain Wistar. Tugas Akhir tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Program Studi Ilmu Gizi Universitas Brawijaya. 2005.
14. Wibowo JW. Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Vitamin E Terhadap Profil Lipid dan Ketebalan Dinding Aorta Abdominalis Tikus yang Mendapat Diet Tinggi Kolesterol. Thesis. Semarang: Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro. 2003.
15. Su Jun. Natural Antibodies Against Phosphorylcholine as Potential Protective Factors in Atherosclerosis, Cardiovascular Disease and Systemic Lupus Erythematosus. Thesis. Stockholm: Karonlinka Institutet. 2009.
16. Rohdiana D. Teh Hitam Dan Anti Oksidan. Pusat Penelitian The dan Kina Gambung. (Online). 2008. Diakses 21 Oktober 2010. [http://www.ritc.or.id/files/rohdiana\\_Teh\\_Hitam\\_dan\\_Antioksidan.pdf](http://www.ritc.or.id/files/rohdiana_Teh_Hitam_dan_Antioksidan.pdf).
17. Leborgne L, Rajbabu P, Christian D, David H, Rufus S, Fermin O, Tio RW. 2005. Effect of Antioxidants on Atherosclerotic Plaque Formation in Balloon-Denuded and Irradiated Hypercholesterolemic Rabbits. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 46(4):540-547.