



Penurunan hs-CRP Tikus *Sprague dawley* Jantan Setelah Pemberian Madu Hutan *Apis Dorsata*

Inna Mutmainnah Musa^{1,2*)}, Agussalim Bukhari³, Irfan Idris⁴, Ika Yustisia⁵,
Rosdiana Natzir⁵, Aminuddin Aminuddin³, Marhaen Hardjo⁵

¹ Konsentrasi Aging and Regenerative Medicine, Sekolah Pascasarjana Ilmu Biomedik, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan Tlp: +62 853-4288-4047

² Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

³ Departemen Gizi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

⁴ Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

⁵ Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan

*Alamat korespondensi: innamusa@yahoo.co.id.

Diterima: Juli 2022

Direview: November 2022

Dimuat: Juli 2022

ABSTRACT

Excessive consumption of fatty foods causes various metabolic disorders and systemic inflammation triggers increased inflammatory markers, namely high sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP). Apis dorsata forest honey contains high antioxidants. There has not been much research on the antioxidant activity of this forest changes in hs-CRP levels. This aimed to determine the effect of Forest honey Apis dorsata on serum hs-CRP levels in old rats induced high-fat diet (HFD). The research design with pre-post test with control group design. 15 male Sprague Dawley rats were divided into a group of negative control rats, a group of positive control rats induced by HFD, and an intervention group of rats induced by HFD and Forest honey Apis dorsata at a dose of 0.5ml/200 g BW. HFD induction was given for 30 days while honey was given for 7 days. Serum hs-CRP was taken after being induced by HFD and after intervention with honey which was then measured using the ELISA method. The results showed that the intervention group of rats induced High Fat Diet and Forest intervention experienced a significant decrease in hs-CRP levels ($p=0.009$). In conclusion, Forest honey Apis dorsata at a dose of 0.5ml/200 g BW was able to reduce serum levels of hs-CRP in Sprague Dawley male rats induced by a High Fat Diet.

Keywords: Forest Honey Apis dorsata, hs-CRP, Sprague Dawley male Rat, High Fat Diet

ABSTRAK

Pola konsumsi makanan berlemak berlebih menimbulkan berbagai gangguan metabolik dan inflamasi sistemik sehingga memicu peningkatan penanda inflamasi, yaitu *high sensitivity C-Reactive Protein* (hs-CRP). Madu hutan *Apis dorsata* mengandung antioksidan tinggi, namun belum banyak penelitian mengenai aktifitas antioksidan madu hutan ini terhadap perubahan kadar hs-CRP

di dalam darah. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu hutan *Apis dorsata* terhadap kadar serum hs-CRP tikus *Sprague dawley* jantan diinduksi pakan tinggi lemak (PTL). Rancangan penelitian yaitu *pre-post test with control group design*. 15 ekor tikus jantan *Sprague dawley* dibagi dalam tikus kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+) diinduksi PTL, dan perlakuan (P) diinduksi PTL + madu hutan *Apis dorsata* dosis 0,5 ml/200 g BB. Induksi PTL diberikan selama 30 hari dan madu selama 7 hari. Serum hs-CRP diambil dua kali, yaitu setelah pemberian PTL dan setelah pemberian madu, kemudian diukur menggunakan metode ELISA. Hasilnya menunjukkan kelompok tikus yang diberi PTL+intervensi madu hutan mengalami penurunan kadar hs-CRP yang signifikan ($p=0,009$). Hal ini menandakan efek antioksidan dan antiinflamasi pada madu hutan *Apis dorsata* dapat menurunkan kadar hs-CRP. Kesimpulannya, Madu hutan *Apis dorsata* dosis 0,5 ml/200 g BB mampu menurunkan kadar serum hs-CRP tikus *Sprague dawley* jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak.

Kata kunci: Madu hutan *Apis dorsata*, hs-CRP, Tikus *Sprague dawley* jantan, Pakan Tinggi Lemak

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit yang cukup serius dan sering diderita oleh kaum lansia, salah satunya adalah Penyakit Jantung Koroner. PJK menjadi salah satu penyebab kematian pasien di atas usia 65 tahun [1,2]. Menurut data *World Health Organization* tahun 2018, diperkirakan sebanyak 17,9 juta penduduk dunia meninggal akibat penyakit kardiovaskular pada 2019 dan menyumbang sekitar 32% angka kematian di seluruh dunia [3]. Data dari Riskesdas 2018 memperlihatkan adanya kecenderungan prevalensi penyakit jantung yang meningkat seiring dengan bertambahnya umur dimana kelompok usia 65-74 tahun mendapat persentase tertinggi sebesar 4,6% [4]. Pola konsumsi makanan berlemak yang berlebih termasuk dalam faktor risiko munculnya penyakit kardiovaskular yang akan menimbulkan inflamasi sistemik di dalam tubuh [5,6]. Begitu pula dengan penuaan, seiring pertambahan usia terjadi peningkatan produksi radikal bebas secara terus-menerus akibat kegagalan kompensasi sel tubuh [7]. Studi epidemiologi memperlihatkan adanya peningkatan petanda inflamasi pada lansia, salah satunya adalah *C-Reactive Protein* (CRP)

[8].

Peningkatan kadar CRP pada rentang tertentu menunjukkan terjadinya peningkatan risiko penyakit kardiovaskular, Oleh karena itu CRP dapat dijadikan sebagai prediktor kuat terjadinya penyakit kardiovaskular. Untuk lebih meningkatkan sensitivitasnya, pemeriksaan dapat dilakukan dengan mengukur kadar *high sensitivity C-Reactive Protein* (hs-CRP). hs-CRP memiliki tingkat sensitivitas analitik yang lebih tinggi dibanding CRP. hs-CRP dapat mengukur kadar CRP yang sangat rendah sehingga dapat digunakan sebagai penanda inflamasi derajat rendah (*low grade inflammation*) yang merupakan salah satu risiko penyakit kardiovaskular [9,10].

Penggunaan obat-obatan farmakologis antiinflamasi yang mengandung berbagai bahan kimia memang efektif menurunkan kadar inflamasi di dalam tubuh, namun juga memiliki efek samping yang cukup membahayakan jika digunakan secara terus menerus. Oleh karenanya, eksplorasi bahan alam perlu dilakukan guna mencari sumber-sumber antioksidan dan antiinflamasi yang bersifat ekonomis, mudah ditemukan dengan efek samping yang minimal. Salah satu bahan alami yang

mengandung antioksidan dan banyak terdapat di alam Indonesia adalah madu. Menurut Penelitian Yaghoobi, (2008) pada 55 orang pasien dengan obesitas menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar hs-CRP setelah pemberian madu alami [11].

Saat ini, belum banyak peneliti yang melakukan riset mengenai aktivitas antioksidan pada produk lebah utamanya madu hutan *Apis dorsata* terhadap perubahan kadar hs-CRP di dalam darah. Kebanyakan peneliti menggunakan buah dan sayuran. Padahal, madu hutan *Apis dorsata* memiliki kadar antioksidan yang cukup tinggi. Hasil penelitian dari Moniruzzaman, *et al.* (2013) menunjukkan pemeriksaan kadar antioksidan madu hutan *Apis dorsata* memakai DPPH sebesar 59,89 ppm dan kadar flavonoidnya sekitar 65,65 mg [12]. Selain itu, madu jenis ini banyak terdapat di hutan Indonesia dan proses pengolahannya pun cukup mudah. Di daerah Sulawesi Selatan sendiri, jenis madu hutan *Apis dorsata* dapat ditemukan di Kecamatan Mallawa, Kabupaten Maros yang juga merupakan salah satu produk unggulan daerah setempat.

METODE PENELITIAN

Rancangan/Desain Penelitian

Penelitian ini telah mendapat Surat Persetujuan Etik No: 210/UN.4.6.4.5.31/PP36/2021 dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Hasanuddin Fakultas Kedokteran. Penelitian dilaksanakan sesuai dengan kode etik penelitian.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental terhadap hewan coba tikus putih jantan *Rattus norvegicus* strain *Sprague dawley* dengan desain *pre-post test with control group design* yaitu dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kontrol.

Sumber Data

Pemeliharaan dan pemberian intervensi hewan dilakukan di Laboratorium Biofarmasi dan Biofarmaka Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Pengamatan dan pemeriksaan kadar hs-CRP dengan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) di unit penelitian Laboratorium HUMRC Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin Makassar.

Madu hutan *Apis dorsata* berasal dari Kecamatan Mallawa, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan yang didapat dari penduduk lokal yang berprofesi sebagai pencari madu di hutan. Pemberian Madu diberikan peroral dengan sonde lambung dosis optimal yaitu 0,50 ml/200g BB tikus. Pakan standar yang digunakan adalah pakan AD2 dengan kandungan protein kasar min. 20,5%, lemak kasar min.7%, serat kasar maks. 5%, abu maks 7%, kalsium 0,9-1,2% dan fosfor 0,7-0,9%. Pakan tinggi lemak (PTL) yang digunakan terdiri dari 65 ml susu sapi dan 35 g margarin. Pakan ini mengandung karbohidrat 11,28%, protein kasar 3,88% dan lemak kasar 66,51% . Pakan tinggi lemak dibuat dengan cara mencairkan margarin yang masih berupa padatan pada nyala api dengan suhu 45° celcius kemudian dicampur dengan susu sapi dan diperoleh formula pakan tinggi lemak sebanyak 100 ml dalam bentuk cair [13].

Sasaran Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain *Sprague* berumur 3-6 bulan dengan berat antara 150-350 g dalam kondisi sehat diperoleh dari Laboratorium Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 15 ekor tikus. Penentuan besaran sampel sesuai dengan rumus *grup comparison one-way ANOVA*. [14].

Dilakukan adaptasi (aklimatisasi) selama 14 hari. Selama masa adaptasi seluruh kelompok tikus diberikan pakan standar sebanyak 30 g/hari dan diberikan minum secukupnya. Kandang dibersihkan setiap hari. Untuk menjaga suasana lingkungan yang stabil, tikus ditempatkan dalam ruangan dengan sirkulasi udara yang cukup dan dipertahankan sesuai suhu ruangan pada suhu standar ($\pm 20-28^{\circ}\text{C}$) dengan kelembaban $\pm 50-10\%$ dan lampu ruangan diatur dalam siklus gelap 12 jam dan terang 12 jam. Berat badan seluruh kelompok tikus ditimbang tiap minggu.

Sebanyak 15 ekor dibagi dalam tiga kelompok, dengan jumlah sampel tiap kelompok sebanyak lima ekor yang terdiri dari kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+) yang diinduksi PTL, dan perlakuan (P) yang diinduksi PTL + madu hutan *Apis dorsata* dosis 0,5 ml/200 g BB. Setelah masa adaptasi, kelompok (K-) tetap diberi pakan standar saja, sedangkan kelompok (K+) dan kelompok (P) diberi pakan standar dan pakan tinggi lemak selama 30 hari sebanyak 2 ml/200 g BB tikus per hari per sonde lambung setiap pagi sebelum pemberian pakan standar untuk menghindari penolakan pada tikus akibat kekenyangan. Setelah pemberian pakan tinggi lemak, dilanjutkan pemberian intervensi madu hutan *Apis dorsata* dengan dosis optimal 0,5 ml/200 g BB pada kelompok tikus perlakuan (P) selama tujuh hari. Madu yang disondekan adalah madu yang telah diencerkan dengan aquadest dengan perhitungan sebagai berikut: Nilai konversi $x 15 \text{ ml madu} = 0,018 x 15 \text{ ml madu} = 0,25 \text{ ml madu}$, Pengenceran madu = $2,5 \text{ ml madu} + \text{aquadest} = 10 \text{ ml larutan madu}$, jadi dalam 1 ml larutan mengandung 0,25 ml madu. $2 x 1 \text{ ml larutan madu} = 2 \text{ ml Madu}$. Sehingga madu yang akan disondekan pada tikus dengan berat badan 200 g adalah 2 ml [15].

Pengembangan Instrumen dan Teknik Pengumpulan Data

Parameter yang diukur pada penelitian ini adalah kadar serum hs-SRP dengan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) yang menggunakan kit merek BT-LAB. Pemeriksaan serum hs-CRP dilakukan sebanyak dua kali, yakni setelah pemberian pakan tinggi lemak sebelum pemberian madu hutan (*pre test*) dan setelah pemberian madu hutan *Apis dorsata* (*post test*). Sampel darah diambil sebanyak 2 ml yaitu pada daerah sinus orbita menggunakan mikrohematokrit. Darah kemudian ditampung pada tabung vacutainer dan dijaga agar tidak terjadi lisis. Setelah pengambilan sampel darah lalu dilakukan proses sentrifus dan dilakukan pengukuran kadar hs-CRP dengan metode ELISA menggunakan kit ELISA dan hasilnya dinyatakan dalam satuan ng/ml.

Teknik Analisis Data

Teknik pengolahan data menggunakan program aplikasi SPSS dengan signifikansi $\leq 0,05$. Hasil pengukuran disajikan dalam bentuk narasi dan tabel. Data penelitian kemudian dianalisis secara statistik menggunakan metode uji *One Way ANOVA (Analysis Of Variance)* kemudian dilanjutkan dengan *uji post hoc Tukey* untuk melihat perbedaan antar kelompok. Untuk membandingkan sebelum dan setelah perlakuan menggunakan metode uji *Paired Sample T Test* untuk data terdistribusi normal dan uji *Wilcoxon* untuk data tidak terdistribusi normal.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Berat Badan Hewan Uji

Tabel 1 memperlihatkan data karakteristik berat badan hewan uji tikus penelitian yang diperoleh dari tiga waktu hasil pengukuran yang berbeda, yakni hari 0 sebelum perlakuan, hari ke-31 setelah pemberian induksi pakan tinggi lemak dan hari ke-38 setelah pemberian madu hutan

Apis dorsata. Setelah pemberian pakan tinggi lemak, rerata peningkatan berat badan yang cukup signifikan terdapat pada kelompok kontrol positif sebesar 24,8% dan kelompok perlakuan sebesar 17,5%. Kemudian setelah pemberian intervensi madu hutan *Apis dorsata*, kelompok perlakuan mengalami penurunan paling besar, yakni 5,4% .

Hasil uji statistik menunjukkan rerata berat badan kelompok kontrol negatif ($p=0,221$) dan kontrol positif ($p=0,153$) tidak berbeda secara signifikan, sedangkan pada kelompok perlakuan ($p=0,029$) mengalami perubahan yang signifikan (Tabel 1).

Karakteristik hs-CRP Hewan Uji

Tabel 2 memperlihatkan data karakteristik kadar serum hs-SRP hewan uji tikus penelitian yang diperoleh dari dua waktu hasil pengukuran, yakni setelah pemberian pakan tinggi lemak sebelum pemberian intervensi madu hutan (*pre test*)

dan setelah pemberian intervensi madu hutan *Apis dorsata* (*post test*). Setelah pemberian pakan tinggi lemak, kelompok perlakuan memiliki kadar serum hs-CRP yang tertinggi sedangkan kadar serum hs-CRP yang terendah pada kelompok kontrol negatif. Setelah pemberian madu hutan *Apis dorsata*, kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar serum hs-CRP paling besar, yakni 19,25%.

Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan kadar serum hs-CRP yang signifikan sebelum dan setelah pemberian intervensi madu hutan *Apis dorsata* pada kelompok perlakuan ($p=0,009$), sedangkan pada kelompok kontrol negatif ($p=0,107$) dan kontrol positif ($p=0,660$) tidak didapatkan perbedaan kadar serum hs-CRP yang signifikan sebelum dan setelah pemberian intervensi madu hutan *Apis dorsata* (Tabel 2).

Tabel 1. Data Karakteristik Berat Badan Hewan Uji

Kelompok	Rerata konsumsi pakan /hari (g)	Mean BB (g) \pm SD			Δ Rerata BB %		Nilai p^{\dagger}
		Hari ke-0	Hari ke-31	Hari ke-38	Hari ke-0 & ke-31	Hari ke-31 & ke-38	
Kontrol (-)	24,8	172,60 \pm 22,0 ^a	163,56 \pm 15,7 ^a	170,06 \pm 15,5 ^a	\downarrow 5,2%	\uparrow 3,9	0,221
Kontrol (+)	26,7	181,44 \pm 18,7 ^b	226,56 \pm 38,9 ^b	233,76 \pm 44,5 ^b	\uparrow 24,8%	\uparrow 3,17%	0,153
Perlakuan	27,8	187,02 \pm 16,8 ^a	219,76 \pm 13,4 ^b	207,76 \pm 12,3 ^b	\uparrow 17,5%	\downarrow 5,4%	0,029

Ket : $p < 0,05$ berbeda secara signifikan

^{a,b,c} Notasi yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna pada uji *post hoc pair wise comparison*

*Metode Uji Repeated Anova

Sumber : Data primer, 2021

Tabel 2. Data Karakteristik Kadar Serum hs-CRP Hewan Uji

Kelompok	Mean Kadar serum hs-CRP (ng/ml) \pm SD		Δ Rerata hs-CRP %	Nilai p^*
	Sebelum Pemberian Madu hutan <i>Apis dorsata</i> (H-31)	Setelah Pemberian Madu hutan <i>Apis dorsata</i> (H-38)		
Kontrol (-)	0,423 \pm 0,119 ^a	0,417 \pm 0,168 ^a	↓1,4%	0,107
Kontrol (+)	0,578 \pm 0,012 ^b	0,564 \pm 0,042 ^b	↓2,4%	0,660
Perlakuan	0,566 \pm 0,051 ^b	0,457 \pm 0,014 ^a	↓19,25%	0,009
Nilai p^{**}	0,001	0,000	-	-

Ket : $p < 0,05$ berbeda secara signifikan

^{a,b} Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang bermakna pada uji *post hoc Tukey*

*Metode Uji *Paired T Test*

**Metode Uji *One Way Anova*

Sumber : Data primer, 2021

PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Pakan Tinggi Lemak terhadap Berat Badan Tikus

Pemberian pakan tinggi lemak dapat memengaruhi berat badan tikus. Kenaikan berat badan yang signifikan pada seluruh kelompok kontrol positif dan perlakuan disebabkan oleh kandungan pakan tinggi lemak yaitu susu sapi mengandung 3,17% lemak total dan margarin mengandung 30,5% lemak total yang mengakibatkan terjadinya hiperplasia dan hipertrofi jaringan lemak sehingga menyebabkan peningkatan berat badan [16].

Pengaruh Pemberian Pakan Tinggi Lemak terhadap Kadar Serum hs-CRP Tikus

Pemberian pakan tinggi lemak dapat memengaruhi kadar serum hs-CRP tikus. Hal ini dapat dibuktikan dengan hasil penelitian dimana kadar serum hs-CRP tikus pada kelompok kontrol positif dan perlakuan mengalami peningkatan yang lebih besar setelah pemberian pakan tinggi lemak selama 30 hari dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang tidak diberi pakan tinggi lemak. Hasil serupa juga didapatkan pada penelitian oleh Puspitadewi (2018) yaitu pemberian pakan tinggi lemak selama 36 hari dapat meningkatkan kadar serum *hs-CRP* tikus

kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan [17].

Makanan tinggi lemak mengakibatkan hiperplasia dan hipertrofi pada jaringan adiposa serta memicu produksi asam lemak bebas yang tinggi. Kandungan lemak sebesar 66,51% pada formula PTL yang cukup tinggi memicu peningkatan produksi asam lemak bebas yang mengakibatkan adanya aktivasi jalur NF-kB yang mentranskripsi gen *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan protein *inducible nitric oxide* (iNOS). Transkripsi COX-2 dan iNOS mengakibatkan munculnya sitokin pro-inflamasi seperti sitokin (TNF- α , IL-6 dan IL-1 β), lalu karena sintesis IL-6 yang tinggi akan merangsang produksi CRP di hepar [13].

Pengaruh Pemberian Madu Hutan *Apis dorsata* Dosis Optimal 0,5 ml/200grBB terhadap Berat Badan Tikus

Pemberian madu hutan *Apis dorsata* dosis optimal 0,5 ml/200 g BB dapat menurunkan berat badan tikus kelompok perlakuan. Penelitian yang dilakukan oleh Nemoseck, *et al* (2011) juga menunjukkan penurunan berat badan sebesar 14,7% pada tikus yang diberi madu [18].

Madu disebut sebagai salah satu terapi yang paling baik dalam menurunkan berat badan. Senyawa

bioaktif tannin dan fenolik pada madu dapat mengganggu enzim pencernaan dan mengurangi absorpsi karbohidrat, lemak dan protein di usus yang menyebabkan penurunan berat badan [19].

Pengaruh Pemberian Madu Hutan Apis dorsata Dosis Optimal 0,5 ml/200grBB terhadap Kadar Serum hs-CRP Tikus

Pemberian madu hutan *Apis dorsata* dengan dosis optimal 0,5ml/ 200 g BB dapat mengurangi kadar serum hs-CRP pada kelompok perlakuan. Hasil penelitian yang sama ditunjukkan oleh Yaghoobi dimana terjadi penurunan kadar serum CRP sebesar 3,3% pada subjek yang telah diberi madu alami [11].

Madu mengandung berbagai macam senyawa bioaktif, diantaranya polifenol dan flavonoid. Kandungan polifenol pada madu hutan *Apis dorsata* adalah sebesar 384,71 ppm dan flavonoid sebesar 34,66 ppm [20]. Kandungan senyawa ini dinilai cukup tinggi. Senyawa ini menghambat ekspresi gen spesifik yang terlibat dalam banyak proses inflamasi. Gen-gen tersebut ditranskripsi oleh *nuclear factor-kB* (NF-kB) yang berperan dalam mentranskripsi beberapa sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , Il-6 sehingga akan menekan produksi *hs-CRP* di hepar [21].

SIMPULAN

Madu hutan *Apis dorsata* dosis 0,5 ml/200 g BB mampu menurunkan kadar serum hs-CRP tikus *Sprague dawley* jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak.

DAFTAR RUJUKAN

1. Dalal D, Robbins JA. Management of Hyperlipidemia in The Elderly Population: An Evidence-based Approach. *South Med J*. 2002; 95 (11): 1255-1262.
2. Bae JM, Yang YJ, Li ZM, Ahn YO. Low Cholesterol is Associated with Mortality from Cardiovascular Diseases: A Dynamic Cohort Study in Korean Adults. *J Korean Med Sci*. 2012; 27 (1): 58-63. doi:10.3346/jkms.2012.27.1.58.
3. World Health Organization. Cardiovascular Diseases (CVDs). Published 2018. Accessed June 30, 2021. [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). WHO. Geneva: 2018.
4. Kemenkes RI. Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. Vol 53. Kemenkes. Jakarta; 2018.
5. Coelho DF, Pereira-Lancha LO, Chaves DS, D. Diwan, R. Ferraz, P.L. Campos-Ferraz, et al. Effect of High-Fat Diets on Body Composition, Lipid Metabolism and Insulin Sensitivity, and The Role of Exercise on These Parameters. *Brazilian J Med Biol Res*. 2011;44(10):966-972. doi:10.1590/S0100879X2011007500107
6. Peter W.F. Wilson. Obesity and Heart Disease. In: George A. Bray, ed. *Handbook of Obesity Epidemiology, Etiology and Physiopathology*. Vol 1. Third edition. CRC Press; 2014:515-522.
7. Thomas J. Oxidative stress and Oxidant Defense. In: A. Catharine Ross, ed. *Modern Nutrition in Helath and Disease*. Williams & Wilkins; 1999:751-760.
8. Singh T, Newman AB. Inflammatory markers in population studies of aging. *Ageing Res Rev*. 2011;10(3):319-329. doi:10.1016/j.arr.2010.11.002
9. Dewi YP. C-reactive protein (CRP) Vs high-sensitivity CRP (hs-CRP). *ResearchGate*.2018;(September):5-7.
10. Kamath DY, Xavier D, Sigamani A, Pais P. High sensitivity C-reactive protein (hsCRP) & cardiovascular disease: An Indian perspective. *Indian J Med Res*. 2015;142(September):261-268. doi:10.4103/0971-5916.166582
11. Yaghoobi N, Al-Waili N, Ghayour-

- Mobarhan M, S.M.R. Parizadeh, Z. Abasalti, Z. Yaghoobi, et al. Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose. *Sci World J.* 2008;8:463-469.
doi:10.1100/tsw.2008.64
12. Moniruzzaman M, Khalil MI, Sulaiman SA, Gan SH. Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. *BMC Complement Altern Med.* 2013;13(1):1.
doi:10.1186/1472-6882-13-43
13. Getz GS, Reardon CA. Animal models of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(5):1104-1115.
14. A WN, Z WM. Sample Size Calculation in Animal Studies Using Resource Equation Approach. 2017;24 (5):101-105.
doi:10.1161/ATVBAHA.111.237693
15. Rista Y. Efektivitas Madu terhadap Peningkatan Hb pada Tikus Putih. *Jesbio.* 2014;III(5):7-13.
16. Antonioli L, Pellegrini C, Fornai M, et al. Colonic motor dysfunctions in a mouse model of high-fat diet-induced obesity: an involvement of A2B adenosine receptors. *Purinergic Signal.* 2017;13(4):497-510.
doi:10.1007/s11302-017-9577-0
17. Puspitadewi IN, Margawati A, Wijayanti HS. Pengaruh Pemberian Sari Ubi Ungu (*Ipomea batatas L.*) terhadap Kadar High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) pada Tikus Sprague Dawley dengan Pakan Tinggi Lemak. *J Nutr Coll.* 2018;7(4):155-161.
doi:10.1038/184156a0
18. Nemoseck TM, Carmody EG, Furchner-Evanson A, et al. Honey promotes lower weight gain, adiposity, and triglycerides than sucrose in rats. *Nutr Res.* 2011;31(1):55-60.
doi:10.1016/j.nutres.2010.11.002
19. Pai S, Shivappa C, Surendra A. Anti-obesity and Anti-hyperlipidemic activity of Processed Honey - A Randomised, Open labeled, Controlled Clinical Study. *J Res Tradit Med.* 2018;4(2):40.
doi:10.5455/jrtm.2018/816
20. Laboratorium Kimia Makanan Ternak Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan. Uji Analisis Kandungan Antioksidan & Vitamin Madu Hutan *Apis dorsata*. *Universitas Hasanuddin*, Makassar: 2021.
21. Meo SA, Al-Asiri SA, Mahesar AL, Ansari MJ. Role of honey in modern medicine. *Saudi J Biol Sci.* 2017;24(5):975-978.
doi:10.1016/j.sjbs.2016.12.010