

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MAWAR MERAH (*Rosa damascena* Mill.) DALAM BENTUK TABLET *EFFERVESCENT* TERHADAP KADAR MDA (MALONDIALDEHID) HATI TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCI₄)

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:

CHOLIFAH APRILIANA

0910710049

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2012

HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MAWAR MERAH (*Rosa damascena*
Mill.) DALAM BENTUK TABLET *EFFERVESCENT* TERHADAP KADAR MDA
(MALONDIALDEHID) HATI TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)
YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCI₄)**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat guna
Meraih Gelar Sarjana Kedokteran Umum

Oleh:

CHOLIFAH APRILIANA

NIM. 0910710049

Menyetujui untuk Diuji pada Tanggal :

17 Desember 2012

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr.dr. Nurdiana, M.Kes
NIP. 19551015 198603 2 001

Drs. Bambang Sidharta, Apt., MS
NIP. 19481216 198002 1 001

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MAWAR MERAH (*Rosa damascena*
Mill.) DALAM BENTUK TABLET *EFFERVESCENT* TERHADAP KADAR MDA
(MALONDIALDEHID) HATI TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*)
YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)**

Oleh:

CHOLIFAH APRILIANA

NIM. 0910710049

Telah diuji pada:

Hari : Senin

Tanggal : 17 Desember 2012

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I,

Dr. I Putu Adi Santosa, SpPK
NIP. 19640902 199603 1 003

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr.dr. Nurdiana, M.Kes
NIP. 19551015 198603 2 001

Drs. Bambang Sidharta, Apt., MS
NIP. 19481216 198002 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Park
NIP. 195204 10 198002 1 001

KATA PENGANTAR

AssalamualaikumWr. Wb.

Allhamdulillah, puja dan puji syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT, yang atas rahmat, taufik serta hidayah-Nya penyusun dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Mawar Merah (*Rosa damascena* mill.) Dalam Bentuk Tablet *Effervescent* Terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) Hati Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl_4)”.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

- 1) Dr. dr. Nurdiana, Mkes dan Drs. Bambang Sidharta, Apt., MS., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penyelesaian tugas akhir ini.
- 2) Dr. I Putu Adi Santosa, SpPK , selaku dosen penguji atas segala masukan dalam penyempurnaan tugas akhir ini.
- 3) Dr. Siswanto, yang telah membantu dalam pemahaman dan pengolahan data statistik.
- 4) Bapak, ibu, serta keluarga besar penulis yang senantiasa memberikan dorongan, semangat, dan do'a dalam menghadapi kendala teknis dan psikologis.
- 5) Pihak laboratorium Farmakologi
- 6) Teman-teman tercinta yang telah berjuang bersama, menemani dan membantu penulis.
- 7) Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini.

Penyusun menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi kita semua, dan semoga Allah SWT membalas dengan imbalan yang setimpal bagi pihak-pihak yang telah membantu berupa apapun, baik materi maupun do'a.

Wassalamualaikum. wr. Wb.

Malang, 17 Desember 2012

Penulis



ABSTRAK

Apriliansa, C. 2012. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.) Dalam Bentuk Tablet *Effervescent* Terhadap Kadar MDA (Malondialdehid) Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Karbon tetraklorida (CCl₄).** Tugas akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Pembimbing: (1) Dr.dr. Nurdiana, M.Kes. (2) Drs. Bambang Sidharta Apt., MS

Radikal bebas terbentuk sebagai hasil normal dari metabolisme aerobik, tetapi dapat meningkat saat kondisi patologis, di mana terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan alami tubuh. Pada prinsipnya kerusakan jaringan akibat radikal bebas akan menyebabkan peroksidasi lipid dan penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan. Adanya kerusakan jaringan tersebut dapat ditandai dengan meningkatnya kadar MDA (Malondialdehid) organ. Bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) diketahui mampu berperan sebagai antioksidan karena memiliki senyawa khusus dari golongan polifenol, tepatnya antosianin (19,43 mg/100ml/35 gr). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap kadar MDA hati tikus Wistar dalam menurunkan efek radikal bebas. Pada penelitian ini hewan coba dibagi menjadi 5 kelompok ($r=5$), yaitu kontrol negatif (K-) kontrol positif (K+), dan 3 kelompok perlakuan mendapat terapi tablet *effervescent* pigmen mawar merah dengan dosis 1,25 gr (P1), 2,5 gr (P2), dan 5 gr (P3). Untuk menginduksi toksisitas, hewan coba pada kontrol negatif diberi diet normal sedangkan pada kontrol positif diberi diet normal dan injeksi CCl₄ sebanyak 2 kali seminggu selama 14 hari. Pengukuran kadar MDA hati menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS). Dari hasil penelitian didapatkan bahwa kadar MDA hati meningkat secara bermakna ($p=0,00$, uji LSD) pada kelompok kontrol positif ($K+ = 0,50 \pm 0,02$ ng/200 mg) dibanding pada kelompok kontrol negatif ($K- = 0,19 \pm 0,02$ ng/200 mg). Selain itu, juga didapatkan penurunan kadar MDA secara bermakna pada kelompok P1 = $0,43 \pm 0,02$ ng/200 mg; P2 = $0,30 \pm 0,02$ ng/200 mg; dan P3 = $0,25 \pm 0,01$ ng/200 mg dengan nilai $p=0,00$ dibandingkan kelompok kontrol positif. Kesimpulan penelitian ini adalah tablet *effervescent* ekstrak mawar merah mampu menurunkan kadar MDA hati. Potensi tersebut diduga karena mawar merah mengandung antioksidan antosianin yang mampu menangkap anion radikal dan memutus rantai peroksidasi lipid.

Kata kunci: antioksidan, tablet *effervescent*, mawar merah, MDA hati, CCl₄

ABSTRACT

Apriliansa, C. 2012. **The Effect of Red Rose Extract (*Rosa damascena* Mill.) Effervescent Tablets On Liver MDA (Malondialdehyde) Levels of White Rat (*Rattus norvegicus*) Which Induced by Carbon Tetrachloride (CCl₄).** Final Assignment, Medical Faculty of Brawijaya University, Malang. Supervisors: (1) Dr.dr. Nurdiana, M.Kes. (2) Drs. Bambang Sidharta, Apt., MS

Free radicals are formed as a result of normal aerobic metabolism and may increase during pathological conditions, which there is an imbalance between free radicals and the body's natural antioxidant. In principle, tissue damage caused by free radicals leads to a lipid peroxidation and decreased activity of antioxidant enzymes. Tissue damage can be identified by increased levels of MDA (Malondialdehyde) organ. Red rose (*Rosa damascena* Mill.) are known to act as an antioxidant because it has a special compound from a class of polyphenols, specifically anthocyanins (mg/100ml/35 19.43 g). The purpose of this study was to determine the effect of red rose extract effervescent tablets on levels of liver malondialdehyde (MDA) in the Wistar rat which induced by Carbon Tetrachloride (CCl₄). In this study, experimental animals were divided into 5 groups (r = 5), the negative control (C-) positive control (K +), and the 3 treatment groups received therapy effervescent tablet pigment of red roses with a dose of 1.25 g (P1), 2, 5 g (P2), and 5 g (P3). To induce toxicity, the negative control group was given a normal diet while the positive control was given normal diet and CCl₄ injection 2 times a week for 14 days. Measurement of liver MDA are using Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) methods. The result showed that liver MDA levels increased significantly (p = 0.00, LSD test) in the positive control group (K + = 0.50 ± 0.02 ng/200 mg) than in the negative control group (K = 0, 19 ± 0.02 ng/200 mg). It also found decreased levels of MDA significantly in the P1 = 0.43 ± 0.02 ng/200 mg; P2 = 0.30 ± 0.02 ng/200 mg, and P3 = 0.25 ± 0.01 ng/200 mg with p = 0.00 compared to positive control group. The conclusion of this study is the red rose extract effervescent tablets can reduce liver MDA levels. Potential red roses, presumably due to its anthocyanins antioxidants that can capture the anion radicals and breakdown lipid peroxidation chain.

Keywords: antioxidant, *effervescent* tablet, red rose, liver MDA, CCl₄

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Skema.....	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penulisan	5



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Radikal Bebas.....	6
2.1.1 Definisi Radikal Bebas	6
2.1.2 Jenis-Jenis Radikal Bebas	6
2.1.3 Reaksi Terbentuknya Radikal Bebas	7
2.2 Karbon Tetraklorida (CCl ₄).....	8
2.2.1 Definisi Karbon Tetraklorida	8
2.2.2 Mekanisme Kerusakan Hati Oleh CCl ₄	9
2.3 Malondialdehid (MDA).....	10
2.3.1 Struktur dan Sintesis MDA	10
2.3.2 Reaksi Terbentuknya MDA.....	11
2.3.3 Patologi MDA.....	13
2.4 Antioksidan	14
2.4.1 Definisi Antioksidan.....	14
2.4.2 Reaksi Antioksidan Terhadap Radikal Bebas.....	15
2.5 Bunga Mawar (<i>Rosa Sp</i>).....	17
2.5.1 Morfologi Bunga Mawar (<i>Rosa Sp</i>).....	17
2.5.2 Kandungan dan Manfaat Bunga Mawar (<i>Rosa Sp</i>)	18
2.6 Antosianin	20
2.6.1 Struktur dan Sifat Kimia Antosianin	20
2.6.2 Fungsi Fisiologis Antosianin	21

2.6.3 Mekanisme Kerja Antosianin Sebagai Antioksidan	22
2.7 Tablet <i>Effervescent</i>	24
2.7.1 Tablet <i>Effervescent</i>	24
2.7.2 Kelebihan dan Kekurangan Tablet <i>Effervescent</i>	25
2.7.3 Pengujian Antioksidan dari Tablet <i>Effervescent</i>	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	27
3.1 Kerangka Konsep	27
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	28
3.2 Hipotesa Penelitian	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	30
4.1 Desain Penelitian	30
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	31
4.2.1 Waktu.....	31
4.2.2 Tempat.....	31
4.3 Sampel dan Pengulangan.....	31
4.4 Variabel Penelitian	31
4.4.1 Variabel Bebas.....	31
4.4.2 Variabel Tergantung.....	32
4.5 Definisi Operasional.....	32
4.6 Dasar Penentuan Dosis	33
4.6.1 Dosis Tablet <i>Effervescent</i> Ekstrak Mawar Merah	33
4.6.2 Dosis Toksis CCl ₄	34
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	35



4.7.1 Alat dan Bahan Perawatan Tikus	35
4.7.2 Alat dan Bahan Pengambilan Sampel	35
4.7.3 Alat dan Bahan Pengukuran MDA Hati.....	35
4.8 Prosedur Penelitian.....	35
4.8.1 Pengelolahan dan Pemeliharaan Tikus Putih	35
4.8.2 Pemberian Tablet <i>Effervescent</i> Mawar Merah	36
4.8.3 Pemaparan Karbon Tetrakloride (CCl ₄) Pada Tikus	37
4.8.4 Pemeriksaan MDA Hati	37
4.9 Prosedur Pengumpulan dan Analisis Data	39
4.9.1 Pengumpulan Data	39
4.9.2 Analisis Data	39
4.9.3 Jadwal Kegiatan Program	40
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	41
5.1 Hasil Penelitian	41
5.2 Analisa Data	42
BAB 6 PEMBAHASAN.....	45
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	57
LAMPIRAN	58

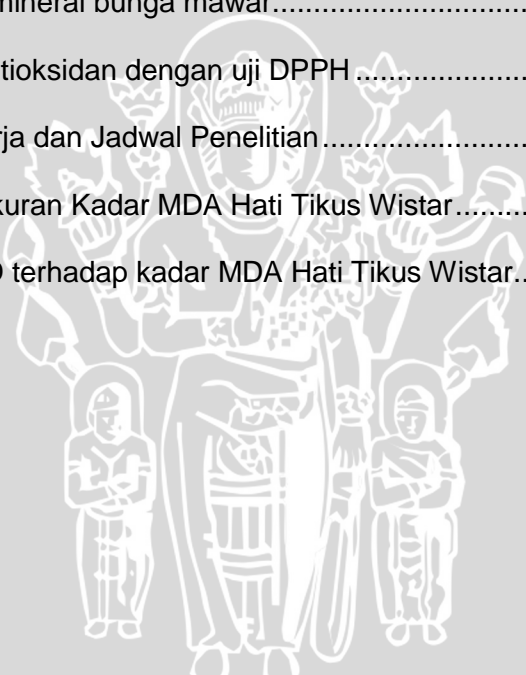
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Reaksi enzimatik CCl_4 oleh sitokrom P450	10
Gambar 2.2 Proses Pembentukan MDA	12
Gambar 2.3 Mekanisme kerja antioksidan enzimatik	16
Gambar 2.4 Struktur utama antosianidin.....	20
Gambar 2.5 Mekanisme Penangkapan ONOO^- Oleh Pelargonidin	22
Gambar 2.6 Mekanisme stabilisasi sianidin semikuinon.....	24
Gambar 2.7 Tablet <i>Effervecent</i> Pigmen Mawar Merah.....	24
Gambar 5.1 Diagram Rerata Kadar MDA Hati Tikus Wistar.....	42
Gambar 6.1 Reaksi antara radikal bebas dan antioksidan.....	47



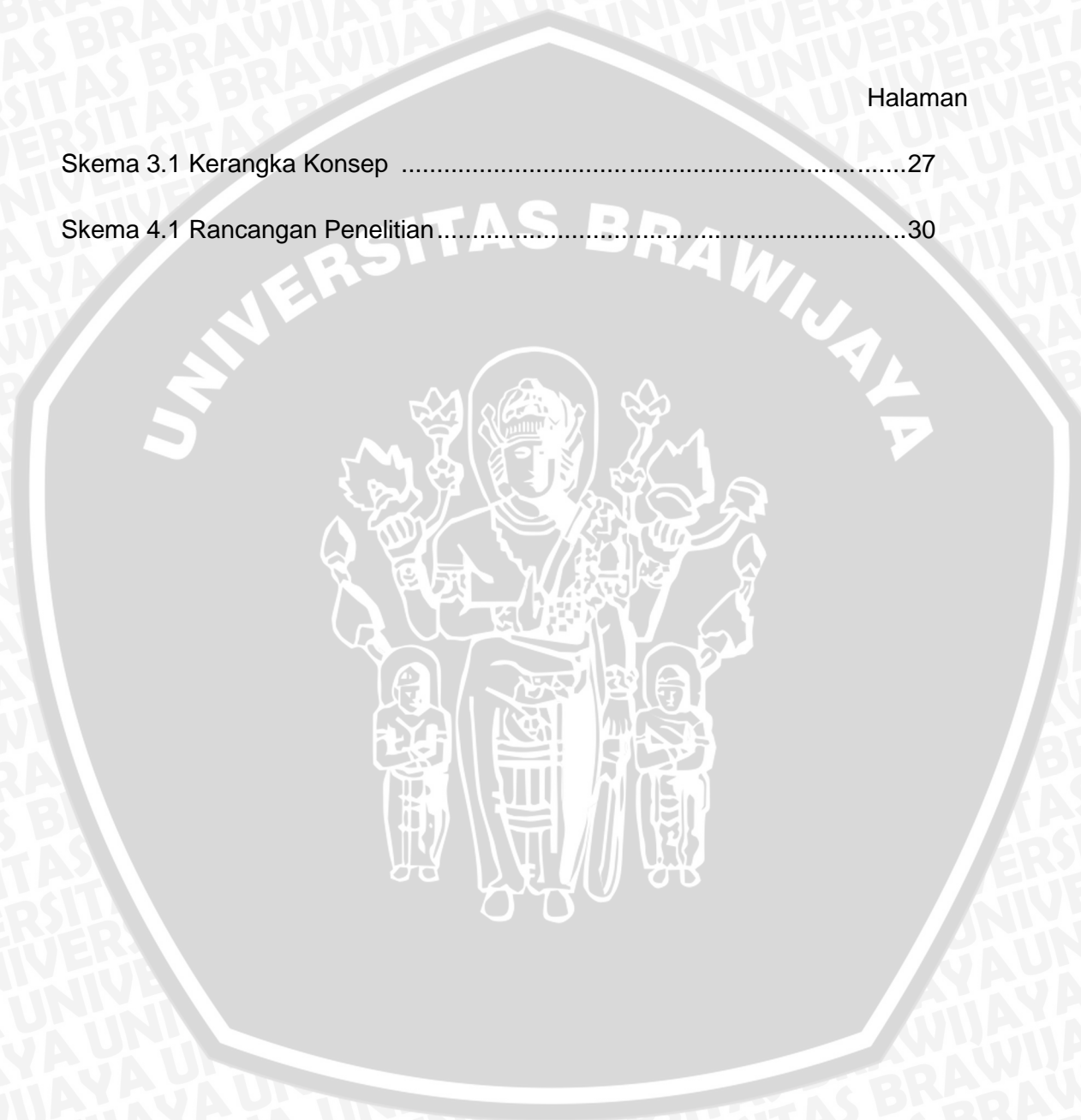
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Tahap Reaksi Perokidasi Lipid.....	11
Tabel 2.2 Jenis Dan Sumber Antioksidan	15
Tabel 2.3 Perbandingan Kualitas Ekstrak Mawar Merah.....	19
Tabel 2.4 Kandungan mineral bunga mawar.....	19
Tabel 2.5 Nilai/daya antioksidan dengan uji DPPH	26
Tabel 2.6 Rencana Kerja dan Jadwal Penelitian.....	40
Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Kadar MDA Hati Tikus Wistar.....	41
Tabel 5.2 Hasil Uji LSD terhadap kadar MDA Hati Tikus Wistar.....	43



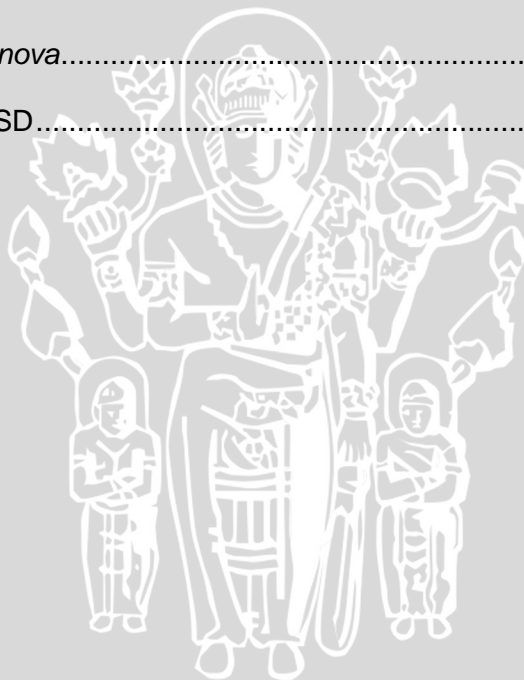
DAFTAR SKEMA

	Halaman
Skema 3.1 Kerangka Konsep	27
Skema 4.1 Rancangan Penelitian	30



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Pembuatan Tablet <i>Effervescent</i> Ekstrak Mawar Merah.....	58
Lampiran 2 Instrumen Penelitian	59
Lampiran 3 Sonde Larutan Tablet <i>Effervescent</i> dan Injeksi CCl ₄	60
Lampiran 4 Hasil Pemeriksaan MDA Hati Tikus.....	61
Lampiran 5 Hasil Uji <i>Anova</i>	62
Lampiran 6 Hasil Uji LSD.....	64



DAFTAR SINGKATAN

4-HNE	4-Hydroxynonenal
ALE	Advanced lipid peroxidation end products
ALP	alkaline phosphatase
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
BB	berat badan
Ca ²⁺	ion kalsium
CCl ₃ [·]	radikal triklorometil
CCl ₃ OO [·]	radikal peroksitriklorometil
CCl ₄	karbon tetraklorida
CO ₂	karbon dioksida
DNA	deoxyribo nucleic acid
DPPH	2,2-Diphrnyl-2- picrylhydrazyl
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor
GSH	glutation tereduksi/glutation peroksida
GSSG	glutation teroksidasi/glutation reduktase
H ₂ O ₂	hidrogen peroksida
Ha	hektar are
HCl	asam klorida
HNO ₂	asam nitrat
HOCl	asam hipoklorat
KCl	kaliun klorida

LDL	low-density lipoprotein
LSD	Least Significant Defference
MDA	malondialdehyde
N ₂ O ₄	Nitrogen tetraoxide
NADPH	nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate
NO	nitrit oxide
NO ₂ ⁻	ion nitrit
O ₂ ⁻	radikal superoksida
O ₃	ozone
OH ⁻	radikal hidroksil
ONOO ⁻	radikal peroksinitrit
P450, (CYP)2E1, (CYP)2B1, (CYP)2B2, (CYP)3A	enzim yang mengkatalis oksidasi senyawa organik
PBS	Phospat Buffer Solution
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
RCC	Reactive Carbonyl Compound
RNS	Reactive Nitrogen Species
RO ⁻	radikal alkoksil
RO ₂ ⁻	radikal peroksil
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	superoxide dismutase
TBA/TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances
TCA	Trichloro Acetic Acid
UV	ultraviolet
v/v	volume per volume

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sel tubuh manusia yang selama kehidupannya bermetabolisme untuk membentuk energi, selalu menghasilkan senyawa oksigen reaktif yang selanjutnya menghasilkan senyawa radikal bebas (Droge, 2002). Radikal bebas merupakan komposisi kimia efektif dengan efek negatif tinggi yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Keadaan ini menyebabkan molekul tersebut bersifat reaktif dan tidak stabil sehingga cenderung untuk berikatan dengan senyawa lain untuk membentuk molekul yang stabil. Sebagai akibatnya akan terjadi kerusakan terhadap sel dan jaringan karena interaksi antara oksigen bebas dengan bagian yang paling penting dari sebuah sel yakni DNA (Reda, 2001). Radikal bebas ini terbentuk sebagai hasil normal dari metabolisme aerobik tetapi dapat meningkat saat kondisi patologis (Sies, 1997). Selain dari hasil metabolisme makanan, radikal bebas juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan luar. Misalnya terpapar asap rokok, bahan kimia toksik, polusi udara, dan radiasi. Salah satu sumber radikal bebas yang berasal dari senyawa toksik adalah karbon tetraklorida (CCl_4) (Simanjutak, 2007).

Penggunaan CCl_4 sudah tersebar luas di dunia, mulai dari penggunaan pelarut pembersih kering, refrigerator, dan lampu lava. Akan tetapi, penggunaan CCl_4 juga menstimuli efek negatif terhadap tubuh sehingga pada tahun 1970 mulai dilarang produksinya. Oleh karena CCl_4 merupakan hepatotoksin yang

paling poten sehingga hanya digunakan oleh para peneliti untuk mengevaluasi agen hepatoprotektif (Seifert, 1994). Pada prinsipnya kerusakan jaringan akibat radikal bebas akan menyebabkan suatu keadaan stres oksidatif (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Efek stres oksidatif ini bisa berupa kerusakan sel atau peroksidasi lipid yang ditandai dengan peningkatan beberapa marker kerusakan jaringan (Ulicna *et al.*, 2003).

Marker kerusakan jaringan yang dapat digunakan untuk menandai proses stres oksidatif adalah formaldehid, asetaldehid, akrolein, pentanal, 4-hidroksinonenal (4-HNE), dan malondialdehid (MDA) (Salvayre *et al.*, 2008). Malondialdehid termasuk golongan aldehid yang paling besar jumlahnya dan cukup stabil. Malondialdehid dihasilkan dari proses peroksidasi lipid asam arakhidonat, eikosapentanoat, dan dokosaheksanoat (Esterbauer *et al.*, 1991). Peroksidasi lipid merupakan reaksi biokimia kompleks yang melibatkan radikal bebas, oksigen, ion metal, dan faktor tubuh dalam sistem biologis. Hal ini yang menyebabkan peroksidasi lipid menjadi fokus intens dalam munculnya suatu penyakit (Halliwell, 1991). Gupta *et al* menyatakan bahwa sel hati yang rusak memproduksi sejumlah substansi peroksidasi hidrogen dan metabolit oksigen reaktif yang akan dilepaskan ke dalam sirkulasi (Gupta *et al.*, 2005). Oleh karena itu, untuk mengetahui adanya kerusakan seluler hati akibat radikal bebas dapat diketahui dengan mengukur kadar salah satu hasil metabolit peroksidasi lipid tersebut (Singh, 2009).

Kerusakan oksidatif terhadap struktur biologi yang disebabkan oleh radikal bebas dapat dibatasi dengan adanya antioksidan yang berfungsi sebagai penangkap (*scavenger*) dan pemutus reaksi berantai radikal bebas (Ji, 1999). Antioksidan merupakan agen yang efisien dalam mencegah peroksidasi lipid dan

melindungi sel melawan stres oksidatif yang dimediasi oleh *Reactive Oxygen Species* (Petersen and Doorn, 2004). Dalam jumlah kecil, radikal bebas masih bisa dinetralkan oleh hati. Namun, jika jumlah radikal bebas sudah melebihi batas kemampuan hati untuk menetralkan maka dibutuhkan tambahan suplemen antioksidan dari luar (Yoshikawa, 1997). Sebagian besar tanaman buah dan sayuran yang berwarna memiliki kandungan antioksidan. Salah satunya adalah tanaman mawar merah (*Rosa damascena* Mill.), tanaman yang sangat dikenal masyarakat dan mempunyai khasiat dan manfaat yang banyak. Bunga mawar telah dilaporkan sebagai salah satu antioksidan terkuat dari 30 tanaman obat yang diuji (VanderJagt *et al.*, 2002). Aktivitas antioksidan tersebut dikarenakan dalam bunga mawar terdapat kandungan senyawa fenolik yang berhubungan dengan aktivitas *radical-scavenging* (Cho *et al.*, 2003), yaitu antosianin.

Tanaman mawar merah terutama bagian bunganya mengandung 19,43 mg/100ml/35 gr senyawa antosianin (Saati dkk., 2007). Antosianin merupakan pigmen vakuolar larut air yang memberi warna merah, ungu, atau biru tergantung pada pH. Sifat mudah larut terhadap air menjadikan antosianin sebagai senyawa kimia yang banyak digunakan untuk dikonsumsi karena mudah diserap oleh tubuh. Baru-baru ini, antosianin direkomendasikan sebagai zat penambah makanan dan mendapat persetujuan di negara Australia dan New Zealand (Australia New Zealand Food Standards Code, 2011). Hasil penelitian lainnya, menunjukkan bahwa antosianin bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, hiperlipidemias dan penyakit kronis lainnya, seperti penyakit diabetes dan stroke (Garzon *et al.*, 2009).

Dari karakter zat tersebut, maka ekstrak bunga mawar dapat dimanfaatkan untuk diolah menjadi tablet *effervescent*, yang akhir-akhir ini

dirispond baik oleh kalangan konsumen di Indonesia. Keuntungan tablet *effervescent* adalah kemungkinan penyiapan larutan dalam waktu seketika. Selain itu tablet *effervescent* mempunyai kemampuan menghasilkan gas karbondioksida yang memberikan rasa seperti pada air soda. Adanya gas tersebut akan memberikan efek segar dan dapat menutupi beberapa rasa obat tertentu yang tidak diinginkan serta mempermudah proses pelarutan tanpa melibatkan proses pengadukan secara manual (Saati, 2007).

Namun, dalam proses pembuatan tablet *effervescent*, tentu terjadi beberapa reaksi kimia yang akan mempengaruhi kadar antosianin ekstrak mawar merah sebelumnya. Sehingga dimungkinkan akan berpengaruh pada efektivitasnya sebagai antioksidan. Berdasarkan penjelasan tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas antioksidan tablet *effervescent* ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* mill.) dalam menurunkan aktivitas radikal bebas terhadap tikus yang dipapar Karbon Tetraklorida (CCl_4). Parameter yang digunakan pada penelitian ini adalah pengukuran kadar MDA hati tikus tikus putih (*Rattus novergicus*).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* mampu menurunkan kadar MDA (Malondialdehid) hati tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)?

1.3 Tujuan

Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* mampu menurunkan kadar MDA (Malondialdehid) hati tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Manfaat Akademis

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi bahwa antosianin yang terkandung dalam mawar merah dapat bermanfaat sebagai salah satu antioksidan yang diperlukan tubuh untuk menetralkan senyawa-senyawa radikal bebas. Selain itu, dapat dijadikan sebagai literatur atau referensi untuk penelitian lebih lanjut maupun untuk upaya pengembangan budidaya tanaman bunga mawar.

1.3.2 Manfaat Praktis

Diharapkan dapat meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomi dari bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) serta memberikan alternatif suplemen alami yang lebih menyehatkan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal Bebas

2.1.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan komposisi kimia efektif dengan efek negatif tinggi yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Keadaan ini menyebabkan molekul tersebut bersifat reaktif dan tidak stabil sehingga cenderung untuk berikatan dengan senyawa lain untuk membentuk molekul yang stabil. Sebagai akibatnya akan terjadi kerusakan terhadap sel dan jaringan karena interaksi antara oksigen bebas dengan bagian yang paling penting dari sebuah sel yakni DNA (Reda, 2001). Dalam jumlah normal, radikal bebas berperan positif dalam berbagai reaksi fisiologis tubuh, diantaranya membunuh bakteri melalui granulosit dan makrofag dan regulasi otot polos *Endothelium-Derived Relaxing Factor* (EDRF) yang dikenal dengan nama radikal NO (Nitrit Oxide) (Saphiro, 1991).

2.1.2 Jenis-Jenis Radikal Bebas

Jenis-jenis radikal bebas yang merusak sel terdiri dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). *Reactive Oxygen Species* (ROS), yaitu senyawa reaktif turunan oksigen misalnya radikal superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH \cdot), radikal alkoksil (RO \cdot), radikal peroksil (RO $_2^-$) serta senyawa bukan radikal yang berfungsi sebagai pengoksidasian atau senyawa yang mudah mengalami perubahan menjadi radikal bebas seperti hidrogen

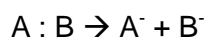
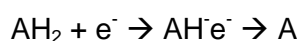
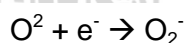
peroksida (H_2O_2), ozon (O_3) dan HOCl. *Reactive Nitrogen Species* (RNS), misalnya nitrogen dioksida (NO_2^-), dan peroksinitrit (ONOO^-) dan bukan radikal seperti HN_2 dan N_2O_4 (Setiati S, 2003). Radikal bebas dapat dihasilkan dari dalam tubuh (endogen) dan juga dari luar tubuh (eksogen). Radikal bebas endogen adalah radikal yang dihasilkan dari dalam tubuh misalnya radikal dari mitokondria, xantin oksidase, NADPH oksidase, mikrosom, membran inti sel dan peroksisom. Radikal bebas eksogen adalah radikal yang dihasilkan dari lingkungan luar seperti, asap rokok, radiasi UV, dan bahan kimia toksik misalnya klorotetrafluorida (CCl_4) (Simanjutak, 2007).

2.1.3 Reaksi Terbentuknya Radikal Bebas

Reaksi radikal bebas merupakan reaksi bertahap yang terdiri dari inisiasi, propagasi, dan terminasi.

1. Inisiasi

Tahap inisiasi merupakan pembentukan awal radikal bebas melalui reaksi oksidasi-reduksi dengan reaksi sebagai berikut :



2. Propagasi (reaksi rantai)

Reaksi rantai terjadi melalui abstraksi satu atom hidrogen dari gugus metilen ($-\text{CH}_2-$), dan meninggalkan satu elektron tidak berpasangan pada atom karbonnya ($-\text{C}\cdot\text{H}-$). Kemudian radikal karbon menyusun kembali molekulnya menjadi bentuk yang lebih stabil, yaitu diene terkonjugasi. Senyawa ini kemudian bereaksi dengan molekul oksigen membentuk radikal peroksi ($\text{R}-\text{O}-\text{O}\cdot$), yang akan mengabstraksi atom hidrogen dari molekul asam lemak tak

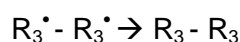
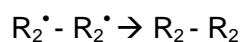
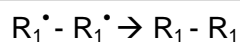
jenuh, sehingga terjadi reaksi berkepanjangan yang menghasilkan peroksida-peroksida lain. Reaksi yang terjadi dalam tahap propagasi sebagai berikut :



3. Terminasi

Daur propagasi terputus oleh reaksi-reaksi terminasi yang memusnahkan radikal bebas atau mengubah radikal bebas menjadi stabil dan tidak reaktif.

Reaksi yang terjadi dalam tahap terminasi sebagai berikut:



Jika radikal bebas bereaksi dengan molekul nonradikal, maka ion radikal akan memberikan elektron tidak berpasangannya atau mengambil elektron dari molekul nonradikal, sehingga dapat mengakibatkan reaksi rantai yang panjang dan menyebabkan efek biologis yang jauh dari tempat pembentukan radikal bebas tersebut (Borg, 1993; Suryohudoyo, 1997).

2.2 Karbontetraklorida (CCl₄)

2.2.1 Definisi Karbontetraklorida (CCl₄)

Karbontetraklorida (CCl₄) merupakan salah satu hepatotoksin yang sering digunakan dalam studi eksperimental penyakit hati. CCl₄ adalah cairan jernih yang mudah menguap. CCl₄ dapat menekan dan merusak hampir semua sel tubuh manusia termasuk sistem saraf, hati, ginjal, dan pembuluh darah, melalui paru-paru jika menghirup udara yang terkontaminasi atau melalui perut dan usus

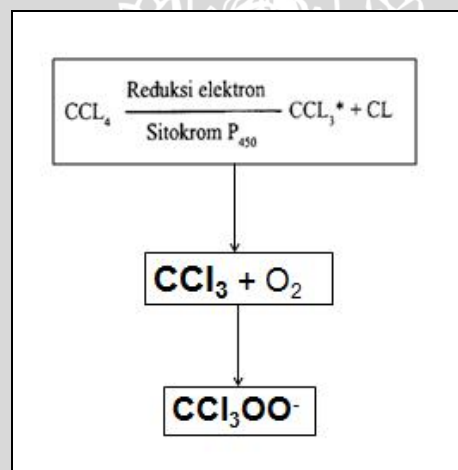
jika menelan makan atau minuman yang mengandung CCl_4 dan juga melalui kulit dengan cara penyuntikan. Toksisitas ini disebabkan oleh terurainya karbon tetraklorida menjadi senyawa yang lebih toksis antara lain epoksida di dalam sel terutama dalam hati dan ginjal (Uma and Rao, 2005).

Karbon tetraklorida yang berperan sebagai pelarut lipid memudahkan senyawa tersebut dapat menyeberangi membrane sel dan terdistribusi ke semua organ. Sifat toksik CCl_4 telah terbukti dari beberapa penelitian bahwa dosis yang kecil sekalipun dapat menimbulkan efek pada berbagai organ tubuh termasuk susunan saraf pusat, hati, ginjal dan peredaran darah. Efek toksik CCl_4 yang paling terlihat adalah pada hati di mana toksisitasnya melebihi kloroform, walaupun keduanya sama-sama merusak organ-organ lain. Kerusakan hati akibat terpapar CCl_4 tergantung pada dosis yang diberikan. CCl_4 sudah mampu merusak jaringan secara signifikan hanya dengan 1,3 kb/BB (dosis 50% v/v subkutan (Yamamoto,1996). Pada prinsipnya kerusakan sel hati akibat pemberian CCl_4 disebabkan oleh pembentukan radikal bebas, peroksidasi lemak dan penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan (Gene DL, et ai,1999).

2.2.2 Mekanisme Kerusakan Hati Oleh CCl_4

Efek hepatotoksik dari Karbontetraklorida (CCl_4) disebabkan oleh metabolit aktif radikal triklorometil dan peroksitriklorometil. Mulanya CCl_4 diaktivasi oleh enzim sitokrom P450 tipe (CYP)2E1, CYP2B1 or CYP2B2, dan CYP3A membentuk radikal triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$). Radikal ini dapat berikatan dengan molekul seluler terutama lipid dan akan mengganggu proses metabolismenya sehingga menyebabkan terbentuknya degenerasi lemak (steatosis). Radikal ini juga bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksitriklorometil ($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$), spesies paling reaktif (Gambar 2.1). Radikal

peroksitriklorometil mengawali reaksi rantai peroksidasi lipid, di mana target utamanya adalah membran fosfolipid yang terdiri dari komponen *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) (Weber, 2003). Peristiwa ini mempengaruhi permeabilitas membran mitokondrial, retikulum endoplasmik, dan menyebabkan penekanan pada pompa Ca^{2+} mikrosom kemudian mengakibatkan gangguan awal homeostatis Ca^{2+} sel hati yang akan berakhir dengan kematian sel (Lu, 1995). Efek stres oksidatif akibat peroksidasi lipid tersebut akan berakhir dengan terbentuknya dekomposisi produk peroksida lipid yang dapat digunakan sebagai marker kerusakan jaringan (Ulicna et al, 2003).



Gambar 2.1 Reaksi enzimatik CCl_4 oleh sitokrom P450 (Weber, 2003)

2.3 Malondialdehid (MDA)

2.3.1 Struktur dan Sintesis MDA

Malondialdehid merupakan komposisi organik dengan rumus molekul $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Malondialdehid utama berada dalam bentuk enol : $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$ $\text{HOCH}=\text{CH}-\text{CHO}$ (Nair et al, 2008). Malondialdehid merupakan salah satu produk *Reactive carbonyl compounds* (RCC) yang dibentuk selama proses peroksidasi

lipid dan berperan penting dalam sejumlah fungsi biologi (Poli and Schaur, 2000). Aldehid tersebut dapat bereaksi dengan protein seluler membentuk produk akhir ALE (*Advanced lipid peroxidation end products*) yang akan mengakibatkan perubahan fungsi protein (Zarkovic, 2003; Petersen and Doorn, 2004). Misalnya bereaksi dengan residu Lys (lysin) dengan membentuk basa Schiff yang berperan penting dalam modifikasi *low density lipoprotein* (LDL) dan deviasi metabolit menjadi makrofag (Steinberg, 1997). Modifikasi protein oleh aldehid bifungsional juga dapat menyebabkan penyilangan protein intramolekular dan intermolekular. Akumulasi dari produk MDA pada protein terlibat dalam pembentukan fluorosen pigmen lipofusin, yang berakumulasi secara cepat selama proses penuaan (Chowdhury *et al.*, 2004).

2.3.2 Reaksi Terbentuknya MDA

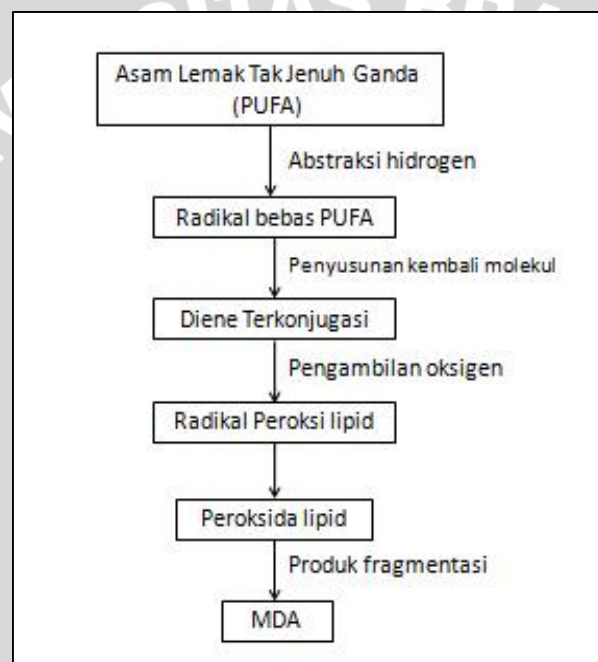
Reaksi peroksidasi lipid dicetuskan oleh cahaya atau ion logam, dan berlangsung dalam tiga tahap, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Murray, 1991). Berikut adalah tahap reaksi peroksidasi lipid:

Tabel 2.1 Tahap Reaksi Peroksidasi Lipid (Murray *et al.*, 1999)

Tahap	Reaksi
INISIASI	$\text{ROOH} + \text{logam}^{(n)+} \rightarrow \text{ROO}^{\cdot} + \text{logam}^{(n-1)} + \text{H}^+$ $\text{X}^{\cdot} + \text{RH} \rightarrow \text{R}^{\cdot} + \text{XH}$
PROPAGASI	$\text{R}^{\cdot} + \text{O}_2 \rightarrow \text{ROO}^{\cdot}$ $\text{ROO}^{\cdot} + \text{RH} \rightarrow \text{ROOH} + \text{R}^{\cdot}$, aldehid dan seterusnya
TERMINASI	$\text{ROO}^{\cdot} + \text{ROO}^{\cdot} \rightarrow \text{ROOR} + \text{O}_2$ $\text{ROO}^{\cdot} + \text{R}^{\cdot} \rightarrow \text{ROOR}$ $\text{R}^{\cdot} + \text{R}^{\cdot} \rightarrow \text{R}$

Pada tahap inisiasi terjadi reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak polineic dari membran fosfolipid (PUFA), sehingga terbentuk radikal bebas asam lemak. Propagasi merupakan reaksi dari radikal peroksil dan PUFA yang lain

menghasilkan hidroperoksida dan radikal lemak yang baru. Lemak hidroperoksida dapat menjadi sejumlah produk toksik lainnya yaitu aldehid (malondialdehid dan hidroperoksineal). Reaksi berantai ini dapat diterminasi dengan adanya kombinasi dari dua radikal untuk menghasilkan produk nonradikal (Maestro, 1991). Urutan terbentuknya MDA dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.2 Proses Pembentukan MDA (Maestro, 1991)

Akhir dari reaksi peroksidasi lipid adalah terputusnya rantai karbon asam lemak yang menghasilkan berbagai senyawa toksik (Murray *et al.*, 1999), diantaranya:

1. Malondialdehid (MDA) yang dibentuk oleh asam-asam lemak dengan tiga atau lebih ikatan rangkap.
2. Etana yang berasal dari gugus terminal 2-karbon pada asam lemak - 3.
3. Pentana yang berasal dari gugus terminal 5-karbon pada asam lemak - 6.

2.3.3 Patologi MDA

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk peroksidasi lipid yang diukur sebagai indikator kerusakan jaringan. Peroksidasi lipid merusak fungsi seluler dengan mengganggu fungsi membran dan membentuk ikatan kovalen dengan bentuk intermediet reaktif selama intoksikasi CCl_4 (Weber, 2003). Gupta *et al* menyatakan bahwa sel hati yang rusak memproduksi sejumlah substansi peroksidasi hidrogen dan metabolit oksigen reaktif yang dilepaskan ke dalam sirkulasi (Gupta *et al.*, 2005). Oleh karena itu, meningkatnya marker serum dan hati terhadap induksi CCl_4 bisa disebabkan oleh produksi metabolit oksigen reaktif selama metabolisme CCl_4 (Singh, 2009). Kecepatan oksidasi dan pembentukan produk sisa aldehid adalah rendah pada kondisi fisiologis, dan dapat meningkat pada proses penuaan serta akibat penurunan pertahanan antioksidan (McEwen *et al.*, 2005). Meskipun peristiwa tersebut berlangsung lambat dan dipengaruhi oleh kecepatan paruh waktu perbaikan protein seluler, tetapi modifikasi protein akan terus berakumulasi di jaringan sejalan dengan bertambahnya umur (Lyons *et al.*, 1991).

Reaksi biokimia kompleks dalam proses peroksidasi lipid melibatkan beberapa komponen seperti radikal bebas, oksigen, ion metal, dan faktor tubuh dalam sistem biologis. Oleh karena itu, peroksidasi lipid menjadi fokus intens yang memiliki hubungan dalam kesehatan dan munculnya suatu penyakit (Halliwell, 1991). Antioksidan dan penangkap radikal bebas telah dikerjakan dalam studi mekanisme toksisitas untuk melindungi sel hati melalui cara pemutusan rantai reaksi peroksidasi lipid. Dengan demikian, penelitian tentang obat moderen dari tanaman menjadi fokus sentral saat ini sebagai hepatoproteksi (Pradeep, 2005).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan sebuah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang menransfer elektron atau hidrogen dari sebuah molekul terhadap agen oksidasi (Sies, 1997). Antioksidan dapat dibedakan menjadi 5 golongan, yaitu antioksidan enzimatik (SOD, glutathion peroksidase, katalase), antioksidan hidrofilik (asam askorbat, GSH, asam urat), antioksidan lipofilik (tokoferol, flavonoid, karotenoid, ubikuinol), antioksidan pereduksi (glutathion reduktase, dehidroaskorbat reduktase, tioredoksin reduktase), dan antioksidan pendukung pereduksi (glukosa 6-fosfat dehidrogenase) (Simanjuntak, 2007). Antioksidan secara luas digunakan sebagai bahan makanan dalam suplemen diet dan telah diinvestigasi sebagai pencegahan penyakit misalnya kanker, penyakit jantung koroner, dan penyakit hipertensi. (Baillie *et al*, 2009; Bjelakovic *et al*, 2007). Komposisi antioksidan tersebut bisa disintesis dalam tubuh yang diperankan oleh hati, dan didapat dari makanan (Vertuani *et al*, 2004).

Hati adalah organ utama untuk membersihkan zat-zat toksin berasal dari bakteri maupun zat kimia seperti indotoksin, oksidan, dan pro-oksidan. Untuk melakukan detoksikasi dari bahan berbahaya tersebut, hati menghasilkan antioksidan dengan berat molekul rendah diantaranya glutathion tereduksi (GSH), vitamin C, vitamin E, superoksid dismutase (SOD), glutathion peroksidase, dan katalase untuk merusak kelompok *Reactive Oxygen Species* (ROS). Sedangkan yang berasal dari makanan diperoleh dari buah dan tanaman (Inoue, 2001).

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Bashandy dan Alwasel (2011) juga membuktikan adanya efek protektif sebuah antioksidan terhadap fungsi hati dan

ginjal tikus yang dipapar CCl_4 . Dalam penelitian yang menggunakan vitamin C dan CCl_4 sebagai variabel bebas dan kadar MDA hati sebagai variabel dependen tersebut, didapatkan hasil bahwa kadar MDA pada perlakuan CCl_4 + vit C menurun secara bermakna lebih rendah dibanding kelompok kontrol positif. Hal ini membuktikan bahwa antioksidan mempunyai peran penting dalam melindungi fungsi hati dan ginjal tikus dari efek radikal karbon tertriklorida berdasarkan penurunan kadar MDA jaringan (Bashandy dan Alwasel, 2011).

Jenis dan sumber antioksidan dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

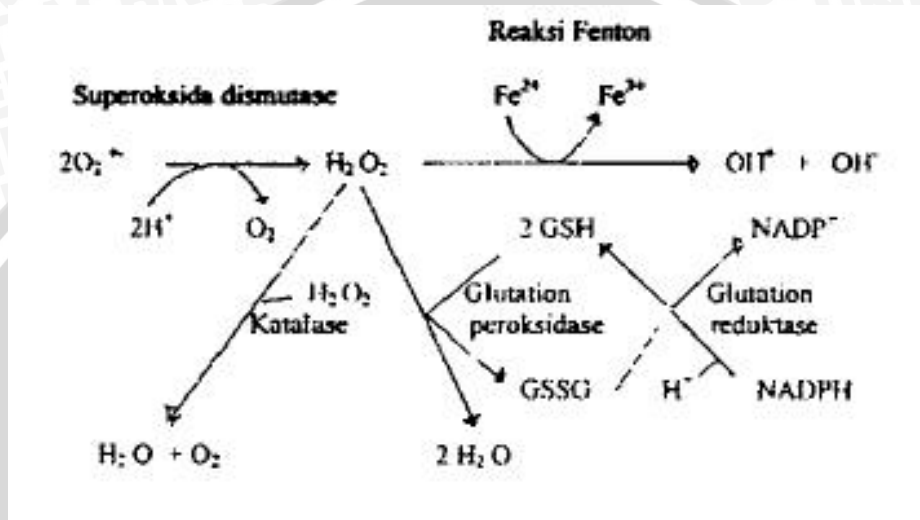
Tabel 2.2 Jenis Dan Sumber Antioksidan (Olivia *dkk*, 2004)

No.	Bentuk antioksidan	Sumber
1	Enzim	Glutation peroksida (GSH), koenzim Q10, melatonin, Superoksida dismutase (SOD), katalase
2	Nutrisi	Vitamin C, E, beta karoten, xantofil (sayur hijau), flavonoid (likopen pada tomat)
3	Herba	Silimarín dari milk thistle (<i>Silybum arianum</i>), katekin (<i>Acacia catechu</i> dan <i>unacaria gambier</i>), prosianidin (antosianin dan proantosianidin), hawthorn berry, ginkgo flavonoglikosid, antosianidin dari blueberry, piknogenol dari kulit biji anggur dan kulit pohon pinus.

2.4.2 Reaksi Antioksidan Terhadap Radikal Bebas

Tubuh mempunyai mekanisme yang dapat menetralkan bahaya radikal bebas dengan sistem antioksidan, namun timbulnya penyakit disebabkan karena jumlah radikal bebas melebihi jumlah sistem antioksidan. Antioksidan berperan dalam melawan radikal bebas melalui tiga cara yaitu mengkatalisis radikal bebas oleh enzim SOD, katalase dan peroksidase; mengikat pro-oksidan (ion Fe, Cu, dan hem), contohnya transferin, haptoglobin, hemopeksin dan seruloplasmin

dan membersihkan ROS oleh antioksidan dari senyawa dengan berat molekul kecil seperti glutathion tereduksi (GSH), asam askorbat, bilirubin, a tokoferol dan asam urat (Valko M, et al, 2006). Mekanisme kerja antioksidan endogen terhadap radikal bebas dalam tubuh dapat diamati pada gambar di bawah ini.



Gambar 2.3 Mekanisme kerja antioksidan enzimatik terhadap radikal bebas (Halliwell B, Gutteridge JMC, 1999)

Gambar 2.3. Kecepatan kerusakan spontan meningkat bermakna oleh kerja superoksida dismutase (SOD) yang ditemukan pada banyak tipe sel (mengatalisis reaksi $2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Glutation (GSH) peroksidase juga melindungi sel agar tidak mengalami jejas dengan mengatalisis perusakan radikal bebas ($2OH^{\bullet} + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$ (glutation homodimer)). Rasio intrasel glutation teroksidase (GSSG) menjadi glutation tereduksi (GSH) merupakan refleksi status oksidasi sel dan aspek penting kemampuan sel untuk mengatabolisme radikal bebas. Katalase berada dalam peroksisom, langsung mendegradasi hidrogen peroksida ($2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2 H_2O$) (Robbins dan Kumar, 2003).

2.5 Bunga Mawar (*Rosa Sp.*)

2.5.1 Morfologi Bunga Mawar (*Rosa Sp.*)

Mawar merupakan salah satu hasil pertanian dalam industri tanaman bunga (Senapati & Rout 2008) yang telah digunakan sebagai hiasan bunga potong, bunga pot, bahkan tanaman kebun (Guterman *et al.*, 2002). Mawar juga telah digunakan dalam industri makanan, parfum, dan kosmetik selama beberapa tahun (Kaur *et al.* 2007). Mawar merah merupakan spesies *Rosa damascena* Mill, *Rosamultiflora* Thunb, termasuk ke dalam genus *Rosa*, famili *Rosaceae*, ordo *Rosales*, kelas *Dicotyledonea*, sub-divisi *Angiospermae*, divisi *Spermatophyta*, dan kingdom *Plantae*. Genus mawar terdiri dari 100 lebih spesies yang terdistribusi luas di Eropa, Asia, Timur Tengah, dan Amerika Utara (Nilsson 1997).

Di Indonesia banyak dikembangkan jenis mawar hibrida, terutama jenis dan varietas mawar yang berasal dari Belanda. Sedangkan daerah di Jawa Timur yang dapat dijumpai tanaman jenis ini adalah Kabupaten Malang, Lumajang, Pasuruan, Probolinggo, Mojokerto, Magetan, dan Kota Batu. Petani mawar khususnya di wilayah Batu banyak yang mengusahakan bunga mawar potong hasil introduksi sejak tahun 1990 terutama di daerah Gunungsari, Puntan dan Pujon serta luasannya kurang lebih 30 Ha. Kelompok mawar yang banyak peminatnya adalah tipe hibrida dan lokal Batu. Kelebihan kedua varietas ini adalah memiliki variasi bunga mawar yang cukup banyak, antara lain warna putih, merah muda, merah tua dan kuning. Mawar tipe hibrida *tea* memiliki tangkai bunga sepanjang 80-120 cm, sedangkan tipe lokal Batu antara 40-60 cm. Selain itu tingkat produktifitas mawar tersebut termasuk tinggi, berkisar antara 120-280 kuntum/m²/tahun (Rukmana, 1995).

2.5.2 Kandungan dan Manfaat Bunga Mawar (*Rosa Sp.*)

Bunga dari spesies mawar diperkirakan memiliki kemanfaatan bagi kesehatan manusia karena mengandung senyawa organik dan anorganik yang diketahui dalam jumlah dan kualitasnya. (Ercisli *et al.* 2007). Berdasarkan investigasi pada *R. Damascena*, teridentifikasi komponen minyak utama diantaranya *citronellol* (14,4 - 47,5 %), *nonadecane* (10,5 - 40,5 %), *geraniol* (5,5 - 18 %), dan *henocosane* (7 - 14 %). Komponen minyak tersebut memberikan efek anti-mikrobal melawan bakteri, virus, maupun jamur (Soliman dan Badaea, 2002).

Bunga mawar juga telah dilaporkan sebagai salah satu antioksidan terkuat dari 30 tanaman obat yang diuji (VanderJagt *et al.*, 2002). Aktivitas antioksidan tersebut dikarenakan dalam bunga mawar terdapat kandungan senyawa fenolik yang berhubungan dengan aktivitas *radical-scavenging* (Cho *et al.* 2003), yaitu antosianin (Saati, 2007). Selain itu, bunga mawar juga tidak mengandung kafein seperti pada teh hitam dan teh hijau (Ashihara dan Suzuki, 2004), sehingga akan aman dikonsumsi oleh individu dengan riwayat hipertensi (Vinokur *et al.*, 2006). Berikut adalah perbedaan kualitas mawar merah dengan bunga lain:

Tabel 2.3 Perbandingan Kualitas Ekstrak Mawar Merah dengan bunga lain (Wardatul, 2008)

No	Karakter pigmen	Bunga mawar	Bunga kana	Bunga pacar air
1	Puncak absorbansi ()	510 – 525 nm	480 – 524 nm	498 - 514
2	Jenis antosianidin	Sianidin dan Pelargonidin glikosida	Pelargonidin glikosida	Pelargonidin glikosida
3	Kadar gula total	10,1%	3,2%	0,75%
4	Nilai Rf	0,205	0,293	0,23
5	Nilai pH	1,46 – 1,50	2,71 – 3,30	1,03 – 1,56
6	Kadar antosianin	19,43 mg/ 100 ml/35 gr kelopak bunga	4,2 – 9,9 mg/ 100 ml/35 gr kelopak bunga	4,3 – 5,4 mg/100 ml/35 gr kelopak bunga
7	Rendemen pigmen	10,80 mg/ 100 ml	6,2 – 17, 2 mg/ 100 ml (%)	17,07 – 25,43 mg/ 100 ml (%)
8	Kesesuaian produk	Makanan, minuman	Makanan, minuman	Kosmetik, kerajinan

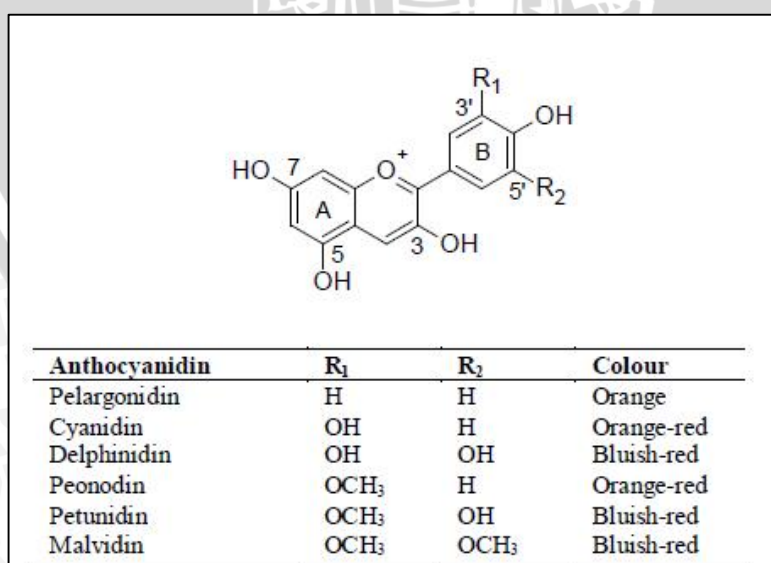
Tabel 2.4 Kandungan mineral bunga mawar (Kazaz *et al.*, 2009)

Minerals	<i>Rosa damascena</i>			<i>Rosa canina</i>		
	fruit	fruit flesh	seed	fruit	fruit flesh	feed
Phosphorus (P)	1224.0 ± 29.3	1459.0 ± 28.1	720.0 ± 10.4	1010.0 ± 28.2	673.0 ± 12.8	1282.0 ± 39.0
Potassium (K)	10256.0 ± 84.2	12454.0 ± 141.0	2243.0 ± 66.3	9140.0 ± 143.6	14545.0 ± 164.6	3231.0 ± 73.4
Calcium (Ca)	9440.0 ± 214.6	11162.0 ± 153.5	3885.0 ± 136.6	6301.0 ± 123.3	8442.0 ± 158.8	3800.0 ± 100.5
Magnesium (Mg)	1226.0 ± 27.6	1501.0 ± 24.0	441.0 ± 12.3	1652.0 ± 53.5	2175 ± 18.2	965.0 ± 23.5
Sodium (Na)	158.0 ± 3.2	163.0 ± 3.1	98.0 ± 3.4	149.0 ± 5.3	110.0 ± 0.7	98.0 ± 3.1
Iron (Fe)	11.0 ± 2.7	118.0 ± 2.2	110.0 ± 0.3	27.0 ± 0.9	25.0 ± 0.6	15.0 ± 0.2
Copper (Cu)	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.1	3.0 ± 0.1	6.0 ± 0.2
Manganese (Mn)	59.0 ± 1.2	73.0 ± 1.1	24.0 ± 0.6	32.0 ± 0.1	43.0 ± 0.6	19.0 ± 0.5
Zinc (Zn)	13.0 ± 0.3	13.0 ± 0.6	10.0 ± 0.2	10.0 ± 0.3	7.0 ± 0.3	14.0 ± 0.3
Boron (B)	3.0 ± 0.5	5.0 ± 0.4	1.0 ± 0.1	13.0 ± 0.6	21.0 ± 0.9	2.0 ± 0.3

2.6 Antosianin

2.6.1 Struktur dan Sifat Kimia Antosianin

Antosianin merupakan pigmen vakuolar larut air yang memberi warna merah, ungu, atau biru tergantung pada pH. Antosianin termasuk ke dalam molekul kelas utama yang disebut flavonoid dan disintesis melalui jalur fenilpropanoid. Antosianin terdapat dalam seluruh jaringan tanaman tingkat tinggi, termasuk daun, batang, akar, bunga, dan buah. Ada sekitar tujuh belas antosianin yang ditemukan di alam, tetapi hanya enam (cyanidin, delphinidin, petunidin, peonidin, pelargonidin, and malvidin) yang tersebar luas dan berperan penting dalam diet manusia (Jaganath and Crozier, 2010) (Gbr. 2.2). Antosianin yang terkandung dalam mawar merah sebesar 19,43 mg/100ml/35 gr, khususnya dalam bentuk sianidin dan pelargonidin (Saati dkk, 2007). Antosianin utama dikarakteristikan sebagai sianidin 3,5-diglucoside dan komposisi yang teridentifikasi diantaranya sejumlah *kaempferol* dan *quercetin glicosides*, *galactosida*, *arabinosides*, serta *rhamnosides* (Velioglu dan Mazza, 1991).



Gambar 2.4 Struktur utama antosianidin (Jing, 2006)

Perbedaan struktur yang terjadi dikarenakan respon akibat perubahan pH yang menyebabkan berubahnya warna merah dalam asam menjadi biru dalam basah, sehingga sering digunakan sebagai indikator pH. Stabilitas antosianin diperkirakan menjadi subyek degradasi fisiokimia *in vivo* dan *in vitro*. Demonstrasi percobaan yang dilakukan oleh Gary (2009) menyatakan bahwa status hidroksilasi B-ring dan pH memerantarai degradasi antosianin menjadi asam fenol dan unsur aldehid (Gary, 2009).

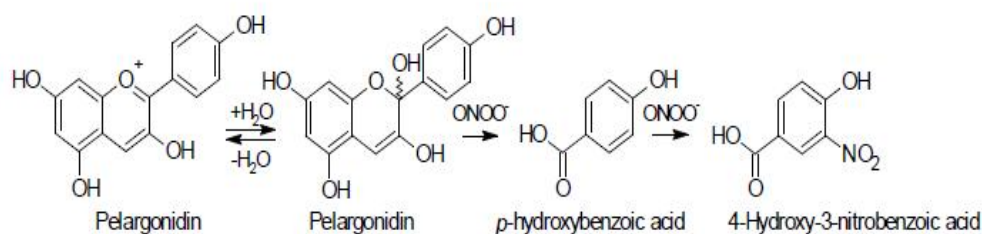
2.6.2 Fungsi Fisiologis Antosianin

Senyawa potensial yang dikandung mahkota bunga mawar merupakan jenis flavonoid, tepatnya antosianin (mawar merah), dimana tergolong senyawa polifenol. Dinyatakan Dewanti (2006), bahwa antioksidan polifenol mempunyai daya antioksidan berkekuatan 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kalinya dibandingkan vitamin E. Bahkan beberapa penelitian menyatakan bahwa antosianin memiliki fungsi fisiologi disamping sebagai antioksidan, juga sebagai antikanker, antitumor dan perlindungan terhadap kerusakan hati (Dewanti, 2006).

Sifat mudah larut terhadap air menjadikan antosianin sebagai senyawa kimia yang banyak digunakan untuk dikonsumsi karena mudah diserap oleh tubuh. Antosianin dipertimbangkan sebagai zat penambah makanan yang disetujui di negara Australia dan New Zealand (Australia New Zealand Food Standards Code, 2011). Hasil penelitian lainnya, menunjukkan bahwa antosianin bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, hiperlipidemia dan penyakit kronis lainnya, seperti penyakit diabetes dan stroke (Garz'on *et al.*, 2009).

2.6.3 Mekanisme Kerja Antosianin Sebagai Antioksidan

Salah satu mekanisme yang dinyatakan oleh Tsuda *et al* (2000) dalam aktivitas penangkapan anion peroksinitrit (ONOO^-) oleh pelargonidin (anthocyanidin) meliputi dua peristiwa. Yang pertama, pemutusan pigmen oleh radikal dengan membentuk *p*-hydroxybenzoic dan yang kedua, reaksi asamnya dengan ONOO^- menghasilkan pembentukan 4-hydroxy-3-nitrobenzoic acid (Ga. 2.5).



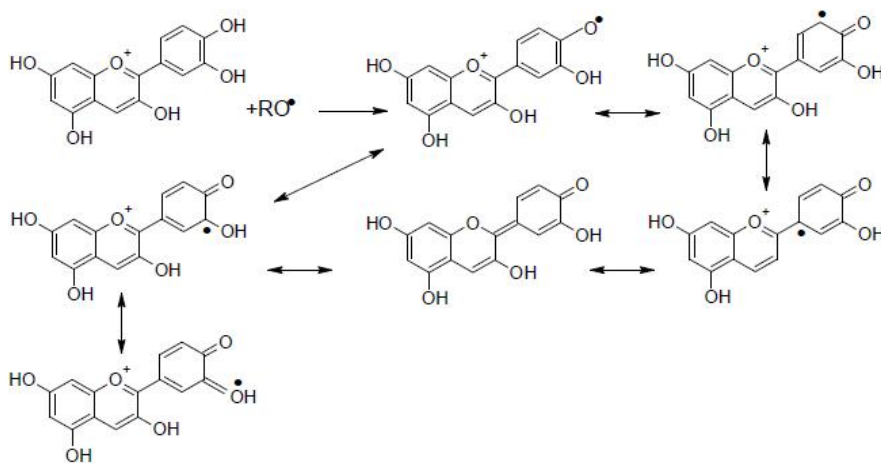
Gambar 2.5 Mekanisme Penangkapan ONOO^- Oleh Pelargonidin (Tsuda *et al.*, 2000)

Dengan adanya ketergantungan pada pH, proporsi relatif dari protonasi, deprotonasi, hidrasi, dan isomerik membentuk wujud antosianin. Bentuk ini memainkan peran penting dalam aktivitas antioksidan. Selain itu, proporsi relatif dari anion peroksinitrit (ONOO^-) dan asam konjugasinya (HOONO) sangat tergantung pada pH. Aktivitas penangkapan peroksinitrit oleh antosianin terjadi pada pH 7,4 (setara dengan 80% peroksinitrit dalam bentuk anion) berturut-turut menurun cyanidin-3-rutinoside > malvidin-3- monoglucoside delphinidin-3- mono-glucoside > petunidin-3-monoglucoside (Muselík *et al.*, 2007).

Tidak semua struktur kimia antosianin memiliki kegiatan serupa untuk penangkapan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Kemampuan antioksidan antosianin tergantung pada struktur dasar orientasi senyawa karena orientasi cincin akan menentukan jalan dengan atom hidrogen dari kelompok hidroksil dapat didonorkan ke radikal bebas seperti

kemampuan antosianin untuk mendukung sebuah elektron tidak berpasangan (Kay, 2004). Selain itu, efikasi penangkapan ROS yang beragam berbeda dari satu antosianin dengan yang lain, misalnya, delphinidine adalah yang paling aktif terhadap anion superoksida (yang diikuti oleh cyanidin dan pelargonidin) dan pelargonidin adalah yang paling efisien melawan radikal hidroksil (Antal *et al.*, 2003). Umumnya aktivitas antioksidan antosianin terkait dengan jumlah hidroksil bebas di sekitar cincin pyrone. Semakin besar jumlah hidroksil akan semakin besar pula aktivitas antioksidannya. Antosianin dengan kelompok 3', 4'-dihidroksi dapat dengan cepat memecah ion logam menjadi bentuk logam kompleks - antosianin stabil (Sarma *et al.*, 1997).

Antosianin pada pH 2-4 sebagian besar berada dalam bentuk flavylum kation dan karena distribusi muatannya, menjadi rentan terhadap serangan nukleofilik pada posisi 2 dan 4. Antosianin dengan kelompok orto-dihydroxyl memiliki potensi penangkapan radikal hidroksil melalui hambatan HO^- yang digerakkan oleh kelating besi (B kowska-Barczak, 2005). Selain derajat dan posisi gugus hidroksil dalam cincin B pada aktivitas antioksidan antosianin, derajat dan posisi kelompok methoxyl juga mempengaruhi stabilitas dan reaktivitas dari pigmen, terutama aktivitas antioksidannya (Muselík *et al.*, 2007). Sebagai contoh dan sesuai dengan hasil dari penelitian, juga dikuatkan oleh (Kähkönen dan Heinonen, 2003), antosianin malvidin-3-glukosida dan petunidin-3-glukosida menunjukkan efisiensi yang lebih rendah dibandingkan dengan cyanidin-3-rutinoside dan delphinidin-3-glukosida. Gambar 2.6 menggambarkan mekanisme radikal bebas terhadap stabilisasi semiquinone terbentuk dari oksidasi cyanidin yang diusulkan oleh (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009).



Gambar 2.6 Mekanisme stabilisasi sianidin semikuinon (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009).

2.7 Tablet Effervescent

2.7.1 Tablet Effervescent

Dasar formula minuman bubuk dan tablet *effervescent* adalah reaksi antara senyawa asam (asidulan) dengan karbonat atau bikarbonat menghasilkan karbondioksida. Bila tablet dimasukkan ke dalam air, maka akan terjadi reaksi kimia secara spontan antara asam dan natrium membentuk garam natrium, CO₂, serta air (Pulungan, Suprayogi dan Yudha., 2004).



Gambar 2.7 Tablet Effervecent Pigmen Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.)

Formula garam *effervescent* resmi yang ada unsur pembentuk *effervescent* terdiri dari 53% sodium bikarbonat, 28% asam tartrat dan 19% asam sitrat. Berikut adalah reaksi antara asam sitrat dengan sodium bikarbonat pada produk *effervescent* (Ansel, 1989):



2.7.2 Kelebihan dan Kekurangan Tablet *Effervescent*

Kelebihan tablet *effervescent* adalah kemungkinan penyiapan larutan dalam waktu seketika. Selain itu tablet *effervescent* mempunyai kemampuan menghasilkan gas karbondioksida yang memberikan rasa seperti pada air soda. Adanya gas tersebut akan dapat menutupi beberapa rasa obat tertentu yang tidak diinginkan serta mempermudah proses pelarutan tanpa melibatkan proses pengadukan secara manual. Sedangkan kekurangan tablet *effervescent* adalah kesukaran untuk menghasilkan produk yang stabil secara kimia. Sediaan *effervescent* mempunyai sifat tidak stabil terhadap kelembaban udara. Bahkan selama reaksi berlangsung, air yang dibebaskan dari bikarbonat menyebabkan autokatalisis dari reaksi. Hal ini terutama dipengaruhi oleh unsur-unsur pembentuk *effervescent* yang terdiri dari sodium bikarbonat dan asam organik seperti asam sitrat sehingga menghasilkan garam natrium, karbondioksida serta air (Ansel, 1989).

2.7.3 Pengujian Antioksidan dari Tablet *Effervescent*

Untuk mengetahui kemampuan zat antioksidan untuk menangkap radikal bebas dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphrnyl-2-picrylhydrazyl*). Radikal DPPH adalah radikal bebas stabil yang menerima sebuah elektron atau hidrogen untuk diubah menjadi molekul diamagnetik. DPPH banyak digunakan pada sistem penelitian aktivitas penangkapan radikal pada senyawa alami tumbuhan. Aktivitas antiradikal ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning bening dengan penurunan absorbansi pada

panjang gelombang 517 nm (Saati, 2011). Berikut adalah hasil uji antioksidan ekstrak pigmen, bubuk pigmen, dan tablet *effervescent* dari pigmen bunga mawar merah dengan uji DPPH:

Tabel 2.5 Nilai/daya antioksidan dengan uji DPPH (Saati, 2011)

Produk pigmen	Daya antioksidan (%)	Notasi	Penurunan daya antioksidan (%)
Pigmen pekat	79,07	C	
Bubuk pigmen	28,6	B	63,83
Tablet <i>effervescent</i>	17,2	A	78,25

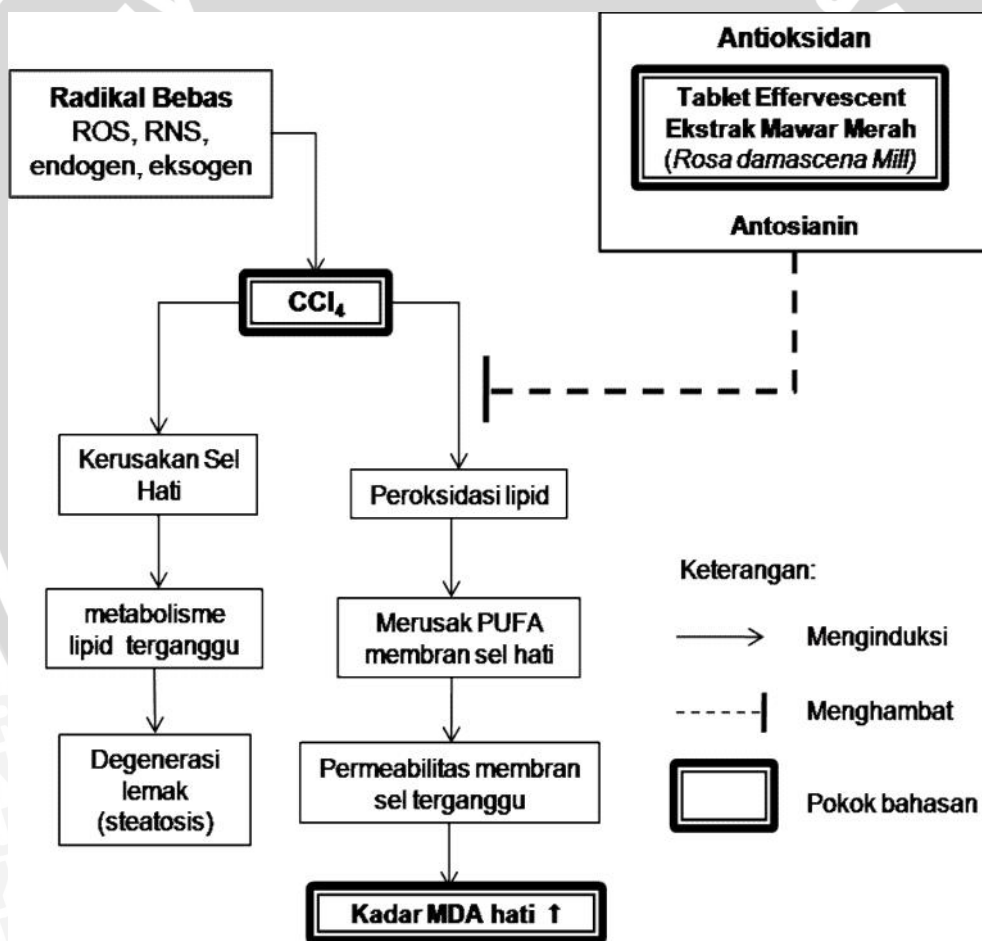
Uji daya antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak pigmen bunga mawar merah mempunyai nilai tertinggi yaitu 79,07%, sedangkan makin panjang tahapan pengolahannya maka akan menurun daya antioksidannya, seperti setelah menjadi bubuk pigmen turun 63,83% menjadi 28,6 (%) dan makin menurun lagi (78,25%) setelah menjadi *tablet efferevescent* menjadi hanya 17,2 (%) daya antioksidannya (Saati, 2011). Hal ini membuktikan bahwa stabilitas antosianin dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti: struktur dan konsentrasi antosianin, derajat keasaman (pH), oksidator, cahaya, suhu, dan sebagainya. Proses pengolahan yang melibatkan faktor suhu (pemanasan) saat ekstraksi, penguapan (*rotary evaporator vacuum*), maupun saat berinteraksi dengan komponen bahan kimia, menyebabkan pigmen hasil ekstraksi bunga mawar merah mengalami degradasi (Saati, 2011). Oleh sebab itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antioksidan antosianin bunga mawar merah secara *in vivo*.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

Skema 3.1 Kerangka Konsep



3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Radikal bebas terbentuk sebagai hasil normal dari metabolisme aerobik, tetapi dapat meningkat saat kondisi patologis. Radikal bebas dapat dihasilkan dari dalam tubuh (endogen) dan juga dari luar tubuh (eksogen) misalnya karbon tetraklorida (CCl_4) (Simanjatak, 2007). Selain itu, radikal bebas dapat dikelompokkan ke dalam dua jenis yaitu, *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan *Reactive Nitrogen Species (RNS)* (Setiati S, 2003). Pada prinsipnya kerusakan jaringan akibat radikal bebas akan menyebabkan suatu keadaan yang disebut dengan stres oksidatif, di mana terjadi ketidakseimbangan antara radikal dan antioksidan dalam tubuh (Halliwell dan Gutteridge, 1999).

Efek hepatotoksik dari CCl_4 disebabkan oleh metabolit aktif radikal triklorometil dan peroksitriklorometil. Mulanya Karbon CCl_4 diaktivasi oleh enzim sitokrom P450 di hati membentuk radikal triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$). Radikal ini dapat berikatan dengan molekul seluler misalnya lipid sehingga mengganggu proses metabolisme lipid yang berakhir dengan terbentuknya degenerasi lemak (steatosis). Radikal ini juga bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksitriklorometil ($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$), spesies paling reaktif. Radikal peroksitriklorometil mengawali reaksi rantai peroksidasi lipid yang akan menyerang dan merusak *Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)* (Weber, 2003). Peristiwa ini mempengaruhi permeabilitas membran mitokondrial dan retikulum endoplasmik, sehingga menyebabkan peningkatan kadar MDA hati sebagai marker kerusakan jaringan (Ulicna et al 2003). Jika proses ini terus berlangsung tanpa ada terapi maka akan berakhir dengan kematian sel (Lu,1995).

Pengaruh senyawa antioksidan antosianin dalam tablet *effervescent ekstrak* mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) mencegah dan memperlambat

terjadinya peroksidasi lipid dengan cara penangkapan ion radikal triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) dan peroksitriklorometil ($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$). Penangkapan ion radikal tersebut akan melindungi protein dan lipid tak jenuh dari pengikatan secara kovalen oleh radikal triklorometil dan peroksitriklorometil. Dengan demikian, diharapkan proses kerusakan sel dan penurunan fungsi metabolisme hati dapat terhindarkan, serta kadar MDA hati menjadi menurun. Sehingga terjadilah keseimbangan kembali antara radikal radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang, tinjauan pustaka, dan kerangka konsep di atas, maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

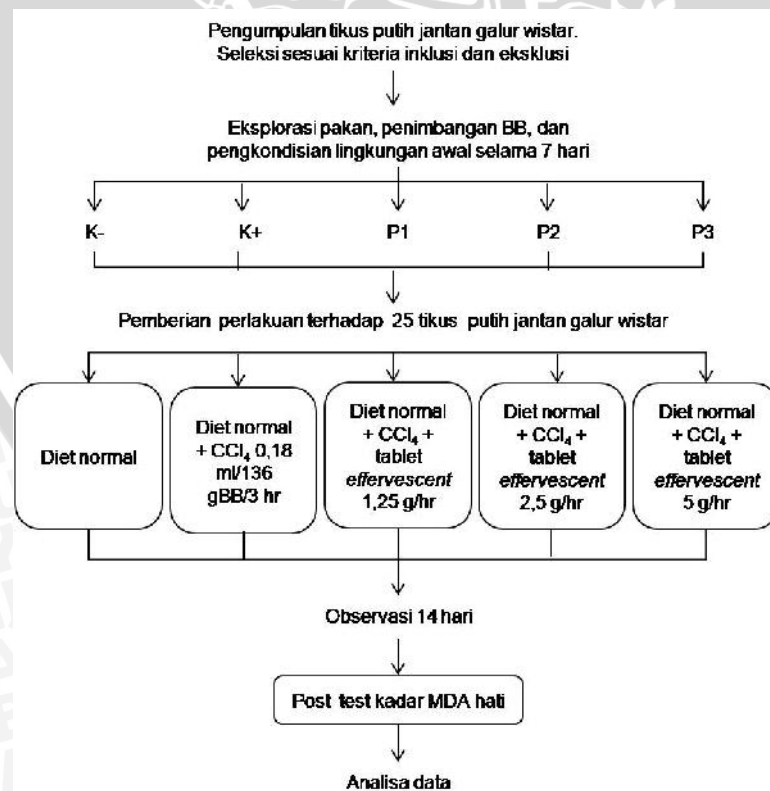
“Ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* mampu menurunkan kadar MDA (Malondialdehid) hati tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4).”

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus wistar (*Rattus novergicus*). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design*, di mana setiap hewan coba memiliki probabilitas yang sama mendapat perlakuan, sehingga dapat menjaga validitas internal.

Skema 4.1. Rancangan Penelitian



4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu

Penelitian dilaksanakan selama kurang lebih satu bulan, dimulai pada bulan September sampai Oktober 2011.

4.2.2 Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Sampel dan Pengulangan

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar yang sehat berumur 3 bulan. Perhitungan besarnya pengulangan pemeriksaan pada sampel adalah mengikuti rumus sebagai berikut (Anshory, 2008).

$$(t - 1)(r - 1) = 15$$

$$(5 - 1)(r - 1) = 15$$

$$r - 1 = 15 : 4$$

$$r = 3,75 + 1$$

$$r = 4,75$$

Bila t : jumlah perlakuan, r : jumlah ulangan, maka penelitian ini jumlah pengulangan yang sesuai adalah 4,75, sehingga jumlah sampel hewan coba yang digunakan untuk tiap kelompok perlakuan sebanyak 5.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah:

- a. Tablet *effervescent* dari ekstrak bunga mawar yaitu 1,25 gr, 2,5 gr, dan 5 gr.
- b. Induksi Karbontetraklorida (CCl_4)

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar MDA (Malondialdehyde) hati tikus.

4.5 Definisi Operasional

1. Tablet *effervescent* ekstrak mawar merah:
Ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* ini diperoleh dan dibuat oleh peneliti Saati dkk (2007) dari Universitas Muhammadiyah Malang. Tablet *effervescent* dilarutkan dan diberikan secara sonde pada tikus dengan dosis 1,22 mg(1/4 tablet), 2,43 mg(1/2 tablet), dan 4,85 mg(1 tablet) setiap hari selama dua minggu.
2. Induksi karbon tetraklorida (CCl_4):
Pemberian CCl_4 dilakukan sebanyak dua kali dalam seminggu dengan dosis 0,18 ml/136gBB/3hari atau 0,06 ml/136gBB/hari secara injeksi subkutan pada 4 group, selain tikus kontrol.
3. Kadar MDA hati tikus galur Wistar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang ditentukan dengan metode *Thioabarbitoric acid reactive substances* (TBARS) yang dikerjakan di laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya. MDA digunakan sebagai indikator jumlah lemak peroksida yang terbentuk akibat pengaruh asam dan panas dengan satuan ng/200mg massa (Flower *et al*, 1973).

4.6 Dasar Penentuan Dosis

4.6.1 Dosis Tablet *Effervescent* Ekstrak Mawar Merah

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Lin-Hua Wu *et al* (2010), didapatkan bahwa pada penggunaan dosis ekstrak antosianin dari *blueberry* sebesar 10, 20 dan 40mg/kgBB mampu memberikan efek perlindungan tikus yang diinduksi *inflammatory bowel disease*. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa pada dosis 40 mg/kgBB ekstrak antosianin memberikan perlindungan terhadap induksi *inflammatory bowel disease*. Penelitian lain menjelaskan bahwa mawar merah sebanyak 35 g menghasilkan 19,43 mg antosianin (Sa'ati, 2007). Bila rata-rata berat tikus 136 g maka batas aman pemberian antosianin pada tikus adalah sebagai berikut:

$$10 \text{ mg/kg BB.}136 \text{ g} = X \text{ mg/}136 \text{ gBB.}1000 \text{ g}$$

$$X = 1,36 \text{ mg/}136 \text{ gBB}$$

$$40 \text{ mg/kg BB.}136 \text{ g} = X \text{ mg/}136 \text{ gBB.}1000\text{g}$$

$$X = 5,44 \text{ mg/}136 \text{ gBB}$$

Dari perhitungan di atas, maka batas aman penggunaan antosianin pada tikus adalah 1,36 - 5,44 mg/136 gBB/ hari. Tablet *effervecent* mawar (*Rosa damascena* Mill.) dibuat dari 100 ml pelarut, 35 gr mawar, dan bahan tambahan pangan lain. Setelah diolah sedemikian rupa menghasilkan 4 tablet dan berat total 5 gr/tablet (Azmi, 2010).

Berdasarkan pertimbangan tersebut dosis yang dipilih adalah dosis I 1,22 mg, dosis II 2,43 mg, dan dosis III 4,85 mg. Penelitian sebelumnya tingkatan dosis yang ada belum menimbulkan efek toksik dan kematian bagi tikus, sehingga membuka peluang untuk peningkatan dosisnya karena sensitivitas tikus sangat rendah dibanding dengan sensitivitas manusia, maka kebutuhan dosis tikus yang terlalu sedikit dapat dikalikan 10 kali (Ganiswara, 1995), juga

bentuk sediaan yang berupa tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg, maka dosis yang digunakan ialah :

1. Dosis I \rightarrow 1,22 mg/136 gBB. Mengingat berat total tablet sebesar 5 g/tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg/ tablet. Maka dosis I menggunakan 1/4 tablet atau 1,25 g.
2. Dosis II \rightarrow 2,43 mg/136 gBB. Mengingat berat total tablet sebesar 5 g/tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg/ tablet. Maka dosis II menggunakan 1/2 tablet atau 2,5 g.
3. Dosis III \rightarrow 4,85 mg/136 gBB. Mengingat berat total tablet sebesar 5 g/tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg/ tablet. Maka dosis III menggunakan 1 tablet atau 5 g.

4.6.2 Dosis Toksik CCl_4

Dalam literatur disebutkan bahwa dosis toksik CCl_4 konsentrasi 50 % pada binatang percobaan adalah 1,3 ml/kg/3hari (Yamamoto *et al*, 1996). Pada penelitian ini rata-rata berat tikus adalah 136 gr. Sehingga dosis toksik tiap ekor adalah:

$$1,3 \text{ ml} \times 136 \text{ gr} = X \text{ ml} \times 1000 \text{ gr}$$

$$X = 0,18 \text{ ml}$$

Sehingga dalam penelitian ini dosis toksik yang dibutuhkan adalah 0,18 ml/ekor/2x seminggu. Karena sifat CCl_4 yang tidak larut dalam air maka perlu diencerkan dengan minyak jagung dengan perbandingan 1:1 (Yamamoto *et al*,1996). Sehingga setiap pemberian 0,18 ml CCl_4 disertai dengan minyak jagung 0,18 ml.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Perawatan Tikus

Alat: bak plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan tutup kandang terbuat dari kawat, alat sonde, botol air, sekam, dan penimbangan berat badan dengan neraca Sartorius.

Bahan: air, sekam, dan pakan tikus

4.7.2 Alat dan Bahan Pengambilan Sampel

Alat: tabung anastesi, benang woll, gunting, spuit, botol plastik.

Bahan: eter, PBS pH 7,4, dan HCl 10%.

4.7.3 Alat dan Bahan Pengukuran MDA Hati

Alat: *Teflon Potter-Elvehjem Homogenizer*, neraca statistik, kertas tissue, gunting, mortal, transfer pipet, tabung reaksi, vortex tipe 16700, *water bath*, sentrifuge MLW T5, *blue tip* yang dipotong ujungnya, kertas saring, UV-visible spektrofotometer Shimadzu 1601, botol plastik kecil.

Bahan: 200 mg jaringan hati basah, buffer tris KCl pH 7,4/ PBS pH 7,4, Triton X 100 μ L 0,1%, ml larutan TCA 100%, HCl 1 N, asam Na-thio barbiturat, dan aquabidest.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pengelolaan dan Pemeliharaan Tikus Putih

- 1 Menimbang berat badan tikus,.
- 2 Memasukkan tikus ke dalam kandang yang dibuat dari bak plastik dengan penutup kawat ram yang dibingkai dengan kayu.dan mengadaptasian tikus putih jantan selama 1 minggu.
- 3 Memberi alas pada kandang berupa sekam dengan ketebalan secukupnya dan melakukan penggantian sekam setiap 3 hari sekali.

- 4 Memberi minum dengan aquades setiap hari yang ditempatkan pada botol minum ukuran 100 ml dan terdapat pipa dengan bola katup tempat keluarnya air minum. Tempat ini diletakkan di atas kawat penutup kandang.
- 5 Memberi pakan yang berupa BR1 sebanyak 10% dari berat badan tikus untuk setiap harinya.
- 6 Mengelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok. Lalu memberi tanda pada ekor menggunakan spidol. Juga memberi label pada kandang tikus sesuai perlakuan yaitu label kontrol, CCl_4 , Dosis I, Dosis II, dan Dosis III.
- 7 Memberikan larutan tablet *effervescent* ekstrak mawar merah secara sonde dan CCl_4 secara injeksi subkutan sesuai dengan perlakuan selama 14 hari (Kusumawati, 2004).

4.8.2 Pemberian Tablet *Effervescent* Mawar Merah

- 1 Mengambil sediaan tablet *effervescent* sesuai dengan perlakuan masing-masing kelompok.
- 2 Melarutkan tablet dalam air 15 ml perkelompok
- 3 Setiap tikus akan diberi 3 ml larutan tablet dengan dosis 1,22 mg (P1), 2,43 mg (P2), dan 4,85 mg (P3) dengan menggunakan sonde.
- 4 Memegang tikus dengan tangan kiri dengan menggunakan kain pelindung.
- 5 Memegang sonde dengan tangan kanan kemudian memasukkan sonde ke mulut tikus dengan hati-hati.
- 6 Menekan sonde sehingga keluar cairan ke dalam mulut tikus lalu menarik sonde dari mulut tikus perlahan-lahan.

4.8.3 Pemaparan Karbon tetrakloride (CCl_4) Pada Tikus

1. Mengambil CCl_4 dengan pipet ukur sebanyak 5 ml/hari
2. Melarutkan CCl_4 dengan minyak jagung senyak 1:1 di dalam beaker glass, yaitu untuk CCl_4 sebanyak 5 ml dan minyak jagung 5ml dengan konsentrasi 50 %, kemudian mengaduk hingga tercampur rata.
3. Mengambil larutan CCl_4 dengan dosis 0,180 ml/136gBB/3 hari.
4. Penyuntikan dilakukan secara subkutan menggunakan spet.

4.8.4 Pemeriksaan MDA Hati

Pada awal minggu keempat, semua kelompok tikus dianestesi dengan eter inhalasi kemudian dilakukan pembedahan. Kemudian hati tikus diperfusi dengan PBS pH 7,4 melalui vena porta tikus untuk membersihkan darah dari hati tikus. Setelah itu, hati diambil dan dimasukkan botol plastik. Sebaiknya botol plastik dibersihkan terlebih dahulu sebelum digunakan dengan larutan HCl 10% lalu dibilas dengan air untuk mencuci sisa larutan HCl. Sampel bisa langsung diproses atau disimpan dalam refrigerator pada suhu 4° C maksimal tujuh hari setelah pengambilan sampel. Berikut langkah-langkah pengukuran MDA hati:

1. Hati tikus ditimbang dengan neraca statistik sebesar 200 mg kemudian dipotong dan digerus dalam mortal sampai homogen.
2. Tambahkan buffer Tris KCl pH 7,4/ PBS pH 7,4 sebanyak 2 cc ke dalam mortal lalu bagi homogenat ke dalam tabung reaksi masing-masing 1 cc, di mana tabung I sebagai tes dan tabung II sebagai kontrol.
3. Tambahkan Triton X 100 μL 0,1% ke dalam kedua tabung lalu vortex hingga homogen. Triton X berfungsi untuk memecah protein.
4. Tambahkan TCA 100% sebanyak 100 μL ke dalam kedua tabung lalu vortex hingga homogen. TCA berfungsi untuk mengendapkan protein.

5. Tambahkan HCl 0,1 N sebanyak 200 μ L ke dalam kedua tabung lalu vortex hingga homogen. HCl berfungsi untuk menjaga keasaman pH.
6. Tambahkan asam Na-thio barbiturat 10% sebanyak 100 μ L dan aquades 0,5 cc lalu vortex hingga homogen. Na-thio barbiturat berfungsi sebagai katalis pembentukan warna, sedangkan aquades untuk menjaga larutan supaya tidak kering.
7. Panaskan kedua tabung dalam *water bath* dengan suhu 105° C selama 30 menit, kemudian angkat dan biarkan pada suhu kamar.
8. Selanjutnya kedua tabung disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit.
9. Ambil supernatan dalam tabung kemudian saring dengan kertas saring yang diletakkan pada *blue tip* dan telah dipotong ujungnya. Pisahkan antara tes dan kontrol.
10. Tambahkan aquades pada supernatan yang telah disaring hingga mencapai volume 3 cc lalu absorbannya dibaca dengan spektrofotometer 532 nm.

Prinsip metode *Thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) dari Flower *et al* (1973), yang telah dikembangkan oleh Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya adalah sebagai berikut:

1. Pengaruh asam dan panas mempercepat dekomposisi lemak peroksida untuk membentuk MDA.
2. MDA merupakan produk sekunder dari peroksidasi lipid jika direaksikan dengan *Thiobarbituric acid* (TBA) pada suasana asam (pH 2-3) dan suhu 97° – 100° C akan memberikan warna merah muda. Perubahan warna

- tersebut mengindikasikan adanya perubahan kadar MDA, semakin gelap warnanya berarti semakin besar terjadinya kerusakan sel.

Alat yang digunakan untuk mengukur perubahan warna MDA adalah *spektrofotometer* 532 nm melalui langkah sebagai berikut:

- Menentukan panjang gelombang () maksimum (nm).
- Pembuatan kurva baku.
- Mengukur kadar MDA pada sampel dengan satuan ng/200 mg massa.

4.9 Prosedur Pengumpulan dan Analisis Data

4.9.1 Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Diberikan sonde larutan tablet *effervescent* ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dengan dosis berbeda-beda tiap kelompoknya yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) yang keseluruhannya selama 14 hari.
- Setelah perlakuan selesai selama 14 hari, kemudian dibedah, dan diambil organ hati tikus.

4.9.2 Analisa Data

Untuk mengetahui kadar MDA hati tikus kontrol dengan perlakuan digunakan uji statistik *Oneway Anova* dengan program *SPSS 16.0 Windows 7*. Jika ada perbedaan dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui pasangan data yang berbeda (untuk melihat perbedaan dari tiap kelompok). Penelitian ini bermakna bila nilai $p < 0.05$ dan hipotesis yang menyatakan bahwa tablet *effervescent* ekstrak mawar merah bisa menurunkan kadar MDA hati pada tikus galur wistar yang diinduksi karbon tetraklorida. Namun, apabila $p > 0.05$ berarti hipotesis tersebut ditolak.

4.9.3 Jadwal Kegiatan Program

Tabel 2.6 Rencana Kerja dan Jadwal Penelitian

Kegiatan	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	Minggu ke-5
Pemilihan dan pengacakan sampel					
Adaptasi					
Pemberian larutan tablet <i>effervescent</i> mawar merah + diinduksi karbon tetraklorida(CCl_4)					
Monitoring					
Pengukuran kadar MDA hati					
Analisis data					

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian

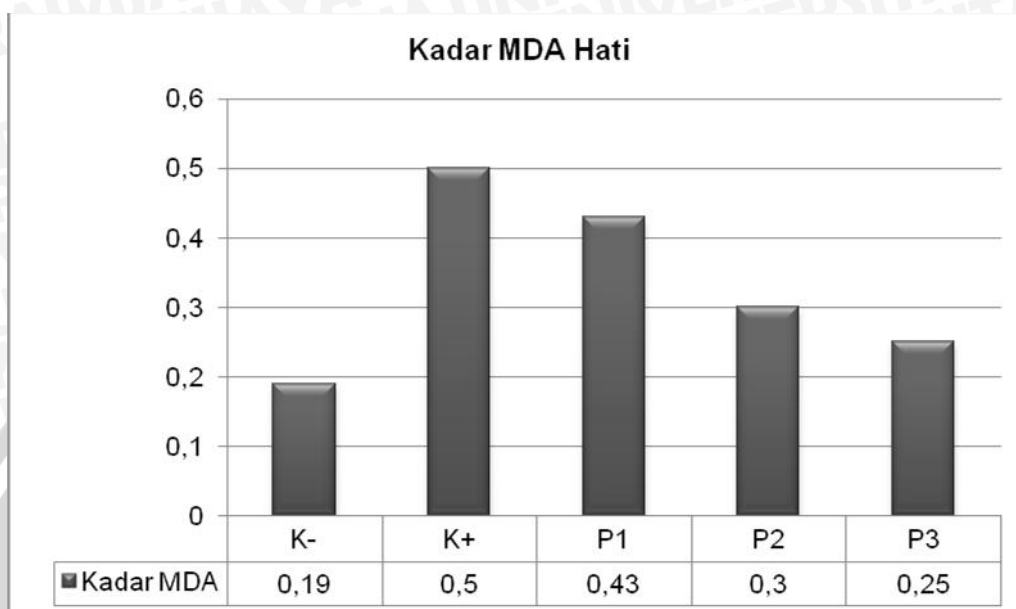
Pada penelitian ini diberikan perlakuan berupa pemaparan Karbon Tetraklorida (CCl_4) dan pemberian tablet *effervescent* ekstrak bunga mawar merah pada kelompok-kelompok perlakuan, yang merupakan langkah awal dalam serangkaian proses perhitungan MDA (Malondialdehid). Hasil pengukuran kadar MDA hati tikus Wistar (lampiran 4) kontrol dan perlakuan dengan membaca spektrofotometer adalah sebagai berikut:

Tabel 5-1. Hasil Pengukuran Kadar MDA Hati Tikus Wistar

	Kelompok	Mean	Standar Deviasi
K(-)	Kontrol negatif	0.19	0.02
K(+)	Kontrol positif CCl_4	0.50	0.02
P1	Perlakuan 1 CCl_4 + tablet <i>effervescent</i> mawar 1,25 g/hr	0.43	0.02
P2	Perlakuan 2 CCl_4 + tablet <i>effervescent</i> mawar 2,5 g/hr	0.30	0.02
P3	Perlakuan 3 CCl_4 + tablet <i>effervescent</i> mawar 5 g/hr	0.25	0.01

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan membaca spektrofotometer pada panjang gelombang 531,6 nm. Untuk penyajian data hasil pengukuran kadar MDA hati tikus Wistar ditulis dengan cara mean \pm standar deviasi. Cara

penulisan tersebut dipilih karena pada hasil uji normalitas data (lampiran 8), dihasilkan data dengan sebaran normal ($p > 0,05$).



Gambar 5-1. Diagram Rerata Kadar MDA Hati Tikus Wistar

Keterangan:

Kadar MDA hati tikus Wistar dalam satuan ng/200mg

Kelompok:

K- = Kontrol negatif

K+ = Kontrol positif

P1 = Perlakuan 1 = CCl_4 + tablet *effervescent* mawar 1,25 g/hr

P2 = Perlakuan 2 = CCl_4 + tablet *effervescent* mawar 2,5 g/hr

P3 = Perlakuan 3 = CCl_4 + tablet *effervescent* mawar 5 g/hr

5.2 Analisa Data

Sebelum melakukan analisa data dengan uji anova, maka harus dipenuhi dua syarat dalam melakukan uji One-way anova untuk lebih dari dua kelompok data tidak berpasangan. Syarat uji One-way anova adalah sebaran data harus normal dan varian data Harus sama. Sebaran data yang normal diketahui dengan uji normalitas data (uji Shapiro-Wilk). Sedangkan varian data yang sama, diketahui dengan uji homogenitas varian. Adapun hasil dari uji normalitas data

(lampiran 8), didapatkan bahwa data untuk semua kelompok mempunyai sebaran normal (uji Shapiro-Wilk, $p > 0,05$). Sedangkan hasil dari uji homogenitas varian (lampiran 8), didapatkan bahwa data belum mempunyai varian yang sama, yakni $p = 0,012$ sehingga dilakukan transformasi data terlebih dahulu sehingga didapatkan hasil varian data yang sama. Setelah dilakukan transformasi data, didapatkan hasil $p = 0,496$ ($p > 0,05$). Dengan demikian, analisa data dapat dilakukan dengan menggunakan uji One-way anova.

Dengan uji One-way anova (lampiran 8) diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Dengan demikian dapat ditarik kesimpulan bahwa “paling tidak terdapat perbedaan kadar MDA hati tikus wistar antara dua kelompok yang berbeda.” Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dilakukan analisa *post hoc* dari uji One-way anova, yaitu uji *Least Significant Difference* (LSD) (lampiran 9). Hasil uji LSD adalah:

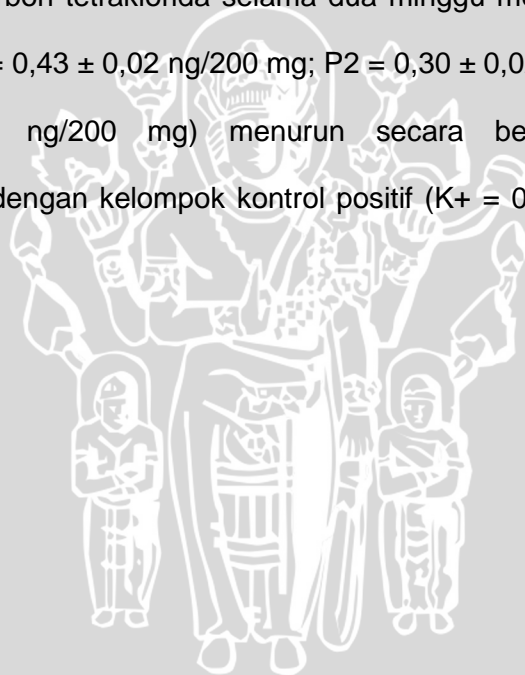
Tabel 5-2. Hasil Uji LSD terhadap kadar MDA Hati Tikus Wistar

Nilai p	K-	K+	P1	P2	P3
K-	-	0.000	0.000	0.000	0.000
K+	0.000	-	0.000	0.000	0.000
P1	0.000	0.000	-	0.000	0.000
P2	0.000	0.000	0.000	-	0.001
P3	0.000	0.000	0.000	0.001	-

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

Dari uji LSD dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemaparan Karbon Tetraklorida (CCl_4) pada tikus Wistar selama dua minggu menyebabkan kadar MDA hati kelompok yang dipapar Karbon Tetraklorida (CCl_4) saja ($K^+ = 0,50 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$) meningkat secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol negatif ($K^- = 0,19 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$).
2. Pemberian tablet *effervescent* ekstrak bunga mawar merah dengan dosis 1,25 g/hr, 2,5 g/hr, dan 5 g/r pada tikus Wistar bersamaan dengan pemaparan karbon tetraklorida selama dua minggu menyebabkan kadar MDA hati ($P1 = 0,43 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$; $P2 = 0,30 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$; $P3 = 0,25 \pm 0,01 \text{ ng/200 mg}$) menurun secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($K^+ = 0,50 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$).



BAB 6

PEMBAHASAN

Peristiwa kerusakan sel dan jaringan oleh radikal bebas mengakibatkan sejumlah organ menghasilkan beberapa produk metabolisme yang dapat berfungsi sebagai tanda kerusakan jaringan. Salah satunya adalah Malondialdehid (MDA) hati yang dihasilkan dari proses peroksidasi lipid akibat induksi dari radikal bebas berupa karbon tetraklorida (CCl_4) yang diberikan pada percobaan ini. Hal ini terbukti dari hasil pemeriksaan MDA pada kelompok kontrol positif ($K^+ = 0,50 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$) mengalami peningkatan secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol negatif ($K^- = 0,19 \pm 0,02 \text{ ng/200 mg}$).

Meningkatnya kadar MDA tersebut dapat dijelaskan berdasarkan patomekanisme kerusakan hati oleh CCl_4 di mana Karbontetraklorida (CCl_4) diaktivasi oleh enzim sitokrom P450 membentuk radikal triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) dan peroksitriklorometil ($\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$), spesies paling reaktif. Peroksitriklorometil mengawali reaksi rantai peroksidasi lipid, di mana menyerang dan merusak *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) terutama yang berhubungan dengan fosfolipid (Weber, 2003). Reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak polineic dari membran fosfolipid ini disebut dengan tahap inisiasi. Kemudian pada tahap propagasi, reaksi radikal peroksil dan PUFA menghasilkan hidroperoksida dan radikal lemak yang baru (Maestro, 1991). Akhir dari reaksi peroksidasi lipid adalah terputusnya rantai karbon asam lemak yang menghasilkan senyawa

toksik MDA (Murray *et al*, 1999), yang akan dilepaskan ke dalam sirkulasi maupun dalam jaringan. Dengan demikian, peningkatan proses peroksidasi lipid akan mengakibatkan meningkatnya kadar MDA dalam jaringan hati (Ulicna *et al.*, 2003).

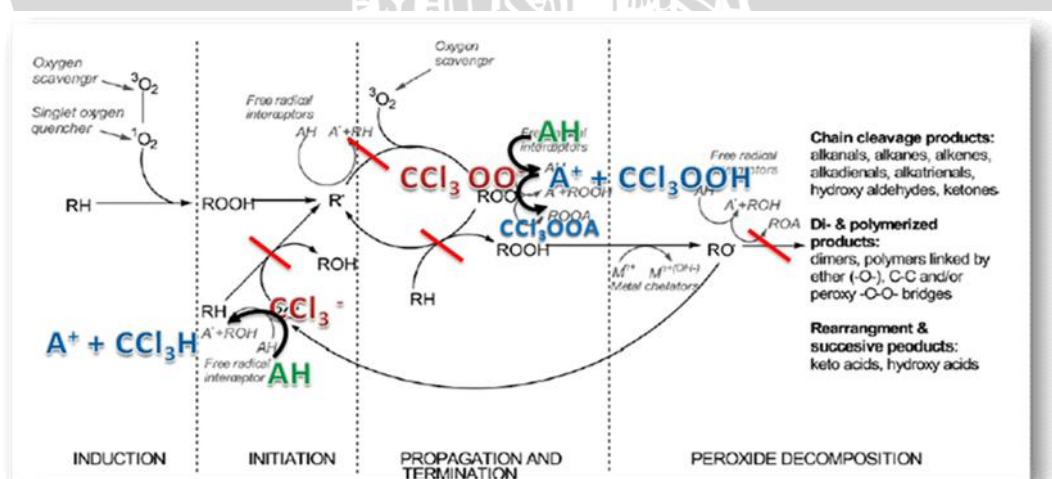
Jika proses peroksidasi lemak ini berlangsung lama, sel akan kehilangan sejumlah molekul PUFA yang akan berpengaruh pada permeabilitas membran sehingga menyebabkan kerusakan struktur biologis membran dan kematian sel. Tubuh akan berusaha menetralkan efek radikal bebas endogen tersebut dengan antioksidan endogen seperti glutathione tereduksi (GSH). Akan tetapi, jika jumlah radikal tersebut berlebihan, maka tubuh tidak mampu mengatasi dan dibutuhkan antioksidan dari luar untuk melindungi organ dari kerusakan jaringan akibat radikal bebas. Pada penelitian ini, dapat dibuktikan bahwa pemberian antioksidan dari luar berupa tablet *effervescent* ekstrak mawar merah mampu menurunkan kadar MDA hati tikus yang dipapar CCl_4 secara signifikan.

Pemberian tablet *effervescent* ekstrak bunga mawar merah dengan dosis 1,22 mg/hr, 2,43 mg/hr pada tikus Wistar bersamaan dengan pemaparan karbon tetraklorida selama dua minggu menyebabkan kadar MDA hati ($P_1 = 0,43 \pm 0,02$ ng/200 mg; $P_2 = 0,30 \pm 0,02$ ng/200 mg) menurun secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif ($K^+ = 0,50 \pm 0,02$ ng/200 mg). Bahkan pada pemberian dosis 4,85 mg/hr ($P_3 = 0,25 \pm 0,01$ ng/200 mg) mampu menurunkan kadar MDA sebesar dua kali lipat dari hasil kelompok kontrol positif, namun masih belum mencapai kadar setara dengan kelompok kontrol negatif.

Aktivitas antioksidan pada mawar merah diduga karena adanya kandungan senyawa polifenol yang berhubungan dengan aktivitas *radical-scavenging* (Cho *et al*, 2003), yaitu antosianin (Saati, 2007). Dinyatakan Dewanti (2006), bahwa

antioksidan polifenol mempunyai daya antioksidan berkekutaan 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kalinya dibandingkan vitamin E. Hasil penelitian lainnya, menunjukkan bahwa antosianin bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, hiperlipidemia dan penyakit kronis lainnya, seperti penyakit diabetes dan stroke (Garz'on *et al.*, 2009).

Salah satu mekanisme yang dapat menjelaskan bagaimana antosianin sebagai *radical scavenging* adalah melalui penangkapan anion peroksinitrit (ONOO^-) oleh pelargonidin yang meliputi dua peristiwa. Pertama, diawali dengan pemutusan pigmen oleh radikal radikal dengan membentuk *p*-hydroxybenzoic dan yang kedua, reaksi asamnya dengan ONOO^- menghasilkan pembentukan 4-hydroxy-3-nitrobenzoic acid (Tsuda *et al.*, 2000). Mekanisme inilah yang mungkin menyerupai potensi antosianin mawar merah dalam menangkap anion radikal yang dihasilkan oleh CCl_4 , yakni triklorometil dan peroksitriklorometil. Gambar berikut adalah reaksi yang mungkin terjadi antara radikal bebas dan antioksidan:



Gambar 6.1. Reaksi antara radikal bebas dan antioksidan (Wanasundara dan Shahidi F, 2005)

Gambar 6.1. Antioksidan (AH) dapat bekerja baik pada tahap inisiasi, propagasi, terminasi, maupun pada tahap sebelum terjadi dekomposisi peroksida lipid. Pada

tahap inisiasi, antioksidan akan berikatan dengan radikal $\text{CCl}_3\cdot$ membentuk ion A^+ dan CCl_3H . Sedangkan pada tahap propagasi dan terminasi, antioksidan akan berikatan dengan radikal $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ membentuk ion A^+ dan CCl_3OOH . Ion A^+ yang dihasilkan juga dapat berikatan dengan $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$ membentuk CCl_3OOA . Inilah yang disebut sebagai tahap terminasi di mana produk radikal dan antioksidan saling berikatan membentuk senyawa netral. Dengan adanya reaksi tersebut, anion radikal tidak akan bereaksi terhadap sel-sel dalam tubuh dan rantai peroksidasi lipid dapat dihambat, sehingga diharapkan terjadi penurunan kadar MDA.

Antosianin memiliki sifat mudah larut dalam air, mampu menyerap *gastric mucosa* (Passamonti et al, 2003), diabsorpsi secara efisien dan cepat oleh usus halus, serta dimetabolisme dan diekskresi melalui urin dan empedu (Talavera et al, 2004). Sehingga menjadikan senyawa antosianin banyak digunakan untuk dikonsumsi. Pengemasan ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent*, dapat mempengaruhi efek antioksidan di mana pada proses pengolahannya melibatkan faktor suhu, cahaya, derajat keasaman, kelembapan, dan sebagainya. Pada uji DPPH yang dilakukan oleh Saati (2011), daya antioksidan yang mulanya 79,07% dalam bentuk pigmen pekat, menjadi 17,2% setelah dikemas dalam bentuk tablet *effervescent* (Saati, 2011). Dan pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa pemberian tablet *effervescent* dosis 4,85 mg/hr masih memberikan daya antioksidan sebesar 50%. Nilai ini didapatkan dari perbandingan rerata penurunan kadar MDA kelompok perlakuan 3 ($P_3 = 0,25 \pm 0,01$ ng/200 mg) dengan kelompok kontrol positif ($K^+ = 0,50 \pm 0,02$ ng/200 mg). Tetapi, bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif di mana tidak ada paparan oleh karbon tetraklorida, kadar MDA dapat turun hingga 80%. Hal ini

masih memungkinkan terjadi penurunan kadar MDA hingga 100% jika dilakukan penambahan dosis antosianin hingga mencapai dosis maksimal sebesar 5,44 mg/hr, sehingga kadar MDA diharapkan dapat mencapai nilai seperti pada Kelompok kontrol negatif.

Pada penelitian ini dapat membuktikan bahwa pengaruh radikal bebas karbon tetraklorida meningkatkan kadar MDA hati tikus secara bermakna dan pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* dapat menurunkan kadar MDA hati tikus Wistar pada dosis optimum 4,85 mg/hr (5 g/hr tablet *effervescent*). Karena pada dosis tersebut, kadar MDA mencapai nilai yang hampir mendekati nilai kadar MDA dari kelompok kontrol negatif. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa antioksidan antosianin dalam tablet *effervescent* ekstrak mawar merah berpengaruh dalam menurunkan kadar MDA hati tikus yang dipapar karbon tetraklorida.

BAB 7**KESIMPULAN DAN SARAN****7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap kadar MDA (Malondialdehid) hati tikus Wistar yang diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl_4), maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Induksi CCl_4 dapat meningkatkan kadar MDA hati tikus.
2. Pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* mampu menurunkan kadar MDA hati tikus.
3. Kemampuan tablet *effervescent* ekstrak mawar merah dalam menurunkan kadar MDA hati tikus diduga karena mawar merah mengandung antioksidan antosianin yang mampu menangkap anion radikal dan memutus rantai peroksidasi lipid.

7.2 Saran

Guna pengembangan keilmuan, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Toksikologi kronis/subkronis penggunaan tablet *effervescent* ekstrak mawar merah.
2. Isolasi kandungan ekstrak mawar merah.
3. Farmakokinetik dan farmakodinamik tablet *effervescent* ekstrak mawar merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H.1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, edisi ke-4. UI Press, Jakarta, hal. 56-60.
- Anshory, M. 2008. *Efek Pemberian Cornmeal dan Cornmeal-soy terhadap Ketebalan Aorta Tikus Putih (Rattus norvegicus) strain wistar yang Diberi Diet Aterogenik*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, FKUB, Malang.
- Antal D.S., Gârban G., Gârban Z. The anthocyanins: biologically active substances of food and pharmaceutical interest. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati, Food Technol.* 2003; 6: 106-115.
- Ashihara H, Suzuki T. 2004. Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. *Front Biosci* 9(2):1864–76.
- Australia New Zealand Food Standards Code "Standard 1.2.4 - Labelling of ingredients". Retrieved at 2011.
- Azmi, U. 2010. *Uji Stabilitas Warna Tablet Effervescent Dari Ekstrak Pigmen Mawar Merah (Rosa sp.) (Kajian Varietas dan Kopigmentasi)*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, FPUM Malang.
- Baillie, J.K., et al. Oral antioxidant supplementation does not prevent acute mountain sickness: double blind, randomized placebo-controlled trial. *QJM*, 2009, 102 (5): 341–8.
- B kowska-Barczak A. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants-a review. *Pol. J. Food Sci*, 2005; 14: 107-116.
- Bashandy dan Alwasel. 2011. *Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats: Protective Role of Vitamin C*. *Journal of Pharmacology and Toxicology* 6(3): 283-292.
- Bjelakovic G., et al. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 297, 2007, (8): 842–57.
- Borg, Donald C. 1993. Oxygen free radical and tissue injury. In: oxygen free radical in tissue damage. *Birkhauser*, Boston.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández M.L., Páez- Hernández M.E., Rodríguez J.A., Galán-Vidal C. Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chem.* 2009; 113: 859-871.
- Cho EJ, Yokozawa T, Rhyu DY, Kim SC, Shibahara N, Park JC. Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds

- on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine*, 2003, 10(6/7):544–51.
- Chowdhury, PK., *et al.* Generation of fluorescent adducts of malondialdehyde and amino acids: toward an understanding of lipofuscin. *Photochem Photobiol*, 2004, 79: 21–25.
- Dewanti. 2006. Pangan Fungsional. Diktat Jurusan THP-FTP Universitas Brawijaya Malang.
- Droge, W. Free Radicals in the Physiological Control of cell function, *Physiol Rev*, 2002, 82: 47-95.
- Ercisli S. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa spp.*) species. *Food Chemistry*, 2007, 104:1379–1384.
- Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*, 1991; 11: 81–128.
- Flower RJ, *et al.* Quantitative Determination of Prostaglandin and Malodial-dehyd Formed by Arakhidonat Oxygenase (Prostaglandin Synthetase) System of Bovine Seminal Vesicle. *Prostaglandin*, 1973; 4: 325-340.
- Ganiswara, S.G. 1995. Farmakologi dan Terapi. UI press, Jakarta, hal. 243-244.
- Gary Woodward, Paul Kroon, Aedin Cassidy and Colin Kay. Anthocyanin Stability and Recovery: Implications for the Analysis of Clinical and Experimental Samples. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, 57 (12), pp 5271–5278.
- Garz'on, G.A. K.M. Riedi, and S.J. Schwartz. 2009. Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth). *J. Food Sci.* pp :227-232.
- Gene DL, *et al.* Acute carbon tetrachloride feeding induces damage of large. *J. Med. G*, 1999, 1289-301.
- Gupta M, *et al.* Antioxidant defense system induced by a methanol extract of *Caesalpinia bonducella* in rat liver. *Pharmaceuti Biol*, 2005; 43:411–9.
- Guterman I, *et al.* Rose scent: Genomics approach to discovering novel floral fragrance-related genes. *The Plant Cell*, 2002; 2325–2338.
- Halliwell B. 1991. Free radical and food additives. In: Aruoma OI, Halliwell B in Taylor and Francis (ed), *London*, (14):37–42.
- Halliwell, B. And Gutteridge, J. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford. Oxford Science Publication.

- Inoue M. Protective mechanisms against reactive oxygen species. In: Arias IM The liver biology and pathobiology Lippincott Williams and Wilkins 4th-ed. Philadelphia. 2001:281-90.
- Jaganath I.B., Crozier A. 2010. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In Plant Phenolics and Human Health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology (edited by Cesar G. Fraga). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Ji LL. 1999. Antioxidants and oxidative stress in exercise. Proceeding of the society for experimental biology and medicine 222:289-292.
- Jing P. Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemopreventive activity and structure/function relationships. PhD thesis, 2006; The Ohio State University, U.S.A. p: 5-90.
- Kähkönen M.P., Heinonen M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycons. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51: 628-633.
- Kaur N., *et al.* Molecular evaluation and micropropagation of field selected elites of *R. damascena*. *General and Applied Plant Physiology*, 2007; 33: 171–186.
- Kay C. Analysis of the bioactivity, metabolism, and pharmacokinetics of anthocyanins in humans. PhD thesis. 2004; University of Guelph, Ontario, Canada, pp. 1-9.
- Kazaz S., Baydar H., Erbas S. 2009. Variations in Chemical Compositions of *Rosa damascena* Mill. and *Rosa canina* L. Fruits. *Czech J. Food Sci.*,27(3): 178–184
- Lin-Hua Wu *et al.* 2010. Protective Effect of Anthocyanins Extract from Blueberry on TNBS-Induced IBD Model of Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2011, Article ID 525462.
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar*. Penerbit: UI Press.Jakarta. pp 90-91.
- Lyons TJ, Silvestri G, Dunn JA, Dyer DG, Baynes JW. Role of glycation in modification of lens crystallins in diabetic and nondiabetic senile cataracts. *Diabetes*, 1991; 40: 1010–1015.
- Maestro, RD. 1991. Free Radical As Mediators Of Tissue Injury. In Droesti. I.E. ed. Trace Element. *Micronutrients And Free Radical*. New Jersey. Human press. p. 25-54.
- McEwen JE, Zimniak P, Mehta JL, Reis RJ. Molecular pathology of aging and its implications for senescent coronary atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol*, 2005; 20: 399–406.
- Murray, RK., Granner DK., Mayes PA., Rodwell VW. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi 24. Jakarta. EGC. Diterjemahkan oleh A. Hartono.

- Muselík J., García-Alonso M., Martín-López M.P., Žemlika M., Rivas-Gonzalo J.C. Measurement of antioxidant activity of wine catechins, procyanidins, anthocyanins and pyranoanthocyanins. *Int. J. Mol. Sci.* 2007; 8: 797-809.
- Nair V., C. L. O'Neil, P. G. Wang. 2008. Malondialdehyde Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York. Article Online Posting Date: March 14, 2008
- Nilsson O. Rosa. Flora of Turkey and the East Aegean Islands in Davis P.H. (ed.). *Edinburgh University Press, Edinburgh*, 1997; 4: 106-128.
- Olivia, Femi dkk. 2004. Seluk Beluk Suplemen. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Hal. 47-52.
- Passamonti S., Vrhovsek U., Vanzo A., Mattivi F. 2003. The stomach as a site for anthocyanins absorption from food. *FEBS Lett.* 2003; 544: 210-213.
- Petersen DR, Doorn JA. Reactions of 4-hydroxynonenal with proteins and cellular targets. *Free Radic Biol Med*, 2004; 37: 937-945.
- Poli G, Schaur RJ. 4-Hydroxynonenal in the pathomechanisms of oxidative stress. *IUBMB Life*, 2000; 50: 315-321.
- Pradeep K, Mohan CVR, Anand KG, Karthikeyan S. Effect of pretreatment of *Cassia fistula* Linn. leaf extract against subacute CCl₄-induced hepatotoxicity in rats. *Indian J Exp Biol* 2005; 43:526-30.
- Pulungan, M.Hindun., Suprayogi dan Beni Yudha. 2004. *Membuat Effervescent Tanaman Obat*. Trubus Agrisarana. Surabaya
- Reda, I. 2001. *The Effect Of sports Training with All of Environment High & Low Pollution on The Free Radicals Level and The Efficiency Of The Physical Work at The Football Players*. PhD, Dissertation. Faucal Physic Educ, El-Menia Univ.
- Robbins, S.L., Kumar, V., Cotran, R.S. 2003. *Robbins Basic Pathology 7th ed.* Terjemahan oleh Awal Prasetyo et al. 2007. Jakarta: EGC.
- Rukmana, R., 1995. *Mawar. Seri Bunga Potong*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta, hal 65-70.
- Saati, E.A., Ragil. 2007. Uji Stabilitas Antioksidan Pigmen Bunga Kana Merah dan Kuning (*Canna coccinea*). *Makalah dimuat dalam Proseding Semnas Pigmen "Back to Nature dengan Pigmen Alami"* di Salatiga 24 Agustus 2007.
- Saati, E.S., Sukardi, Zaenab S. 2011. Formulasi Tablet *Effervescent* Kaya Antioksidan dari Ekstrak Pigmen Tiga Varietas Bunga Mawar Merah. Perolehan Dana Hibah Dikti 2011.

- Salvayre AN, *et al.*. 2008. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in disease and therapeutic prospects for the inhibitors. *British Journal of Pharmacology* 153:6–20.
- Saphiro, B.M. 1991. The Control Of Oxidant Stress Of Fertilization. *Science* 252: 533-536.
- Sarma A.D., Sreelakshimi Y., Sharma R. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxydation. *Phytochem.*, 1997; 45: 671–674.
- Seifert WF, Bosma A, Brouwer A, *et al.*. Vitamin A deficiency potentiates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats". *Hepatology*, 1994;19 (1): 193–201.
- Senapati S.K., Rout G.R. Study of culture conditions for improved micropropagation of hybrid rose. *Horticultural Science*, 2008; 35: 27–34.
- Setiati S., 2003, *Radikal bebas, antioksidan dan proses menua*, Majalah Medika; Jakarta, edisi 6 (19); hal. 366-368.
- Sies, H.. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*, 1997; 82 (2): 291–5.
- Simanjutak, K. Radikal bebas dari senyawa toksik Karbon tetraklorida (CCl₄). *Bina Widya*, 2007; 18(01): 25-31.
- Singh *et al.* Effects of Embelin on Lipid Peroxidation and Free Radical Scavenging Activity against Liver Damage in Rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2009; 105, 243–248.
- Soliman KM, Badeaa RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol.* 2002; 40: 1669-1675.
- Steinberg, D.. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*, 1997; 272: 20963–20966.
- Suryohudono. 1997. Oksigen dan antioksidan pada diabetes mellitus. In Tjokroprawiro, A., *et al.* Proceeding of the third Surabaya Diabetes Update. Surabaya: 27-39.
- Talavéra *et al.* 2004. Anthocyanins are efficiently absorbed from the small intestine in rats. *J. Nutr.* 2004; 134: 2275-2279.
- Tsuda, T. Shiga, K. Ohshima, K. Kawakishi, S. Osawa, T. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris*. *Biochem. Pharmacol*, 2000; 52:1033–1039.

- Ulicna O, Greskshek M, Vancovao O, Zlator I, Bocek P. Hepatoprotective effect of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) on CCl₄ induced liver damage. *Physiol Res*, 2003; 52: 461-466.
- Uma M.M, Rao P.G.M. Antihepatotoxic effects of Cotton seed oil in Rats. *Ind J Pharmaco* 37:180.
- Valko M, et al, 2006, *Free radical, metal and antioxidant in oxidative stress induced cancer*, J.Chem-Biol, Rusia, edisi 160, p. 1-40.
- VanderJagt TJ, Ghattas R, VanderJagt DJ, Crossey M, Glew RH. 2002. Comparison of the total antioxidant content of 30 widely used medicinal plants of New Mexico. *Life Sci* 70(9):1035-40.
- Velioglu Y.S, Mazza G. Characterization of flavonoids in petals of *Rosa damascena* by HPLC and Spectral Analysis. *J. Agric. Food. Chem.*1991; 39: 463-467.
- Vertuani, et al. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 2004; 10 (14): 1677-94
- Vinokur et al. 2006. Rose petal tea as an antioxidant rich Beverage: cultivar effects. *Journal of food science*, 71(1): 42-47.
- Wanasundara and Shahidi F. ANTIOXIDANTS: SCIENCE, TECHNOLOGY, AND APPLICATIONS. 2005. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6th Edition, 6 Volume Set.
- Wardatul,N.2008. Uji Keamanan Konsumsi Ekstrak Bunga Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.) Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Dengan Metode LD₅₀. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, FP UM Malang.
- Weber LWD, Bull M, Stamsfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkans: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33:105-36.
- Yamamoto. Y, Nagata, Katsurada. 1996. Charger In Rat Plasma Free Fatty Acid Composition Underoxidative Stress Induced By Increase Of Palmitoleic Acid In Redox Report Communication In Free Radical Research.Vol 2. Churchill Livingstone, Tokyo, Japan.
- Yoshikawa T. 1997. Free Radical and Disease, In: Food and Free Radical, *Plenum Press*, New York.
- Zarkovic N. 4-Hydroxynonenal As A Bioactive Marker Of Pathophysiological Processes. *Mol Aspects Med*, 2003; 24: 281-291.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cholifah Apriliana

NIM : 0910710049

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tugas akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 17 Desember 2012

Yang membuat pernyataan,

Cholifah Apriliana

NIM. 0910710049

LAMPIRAN

Lampiran 1

Pembuatan Tablet *Effervescent* Ekstrak Mawar Merah

1. Alat dan Bahan

Alat: kotak plastik beserta tutup, kain saring, kertas *whatman* no 41, gelas ukur, sarung tangan karet, timbangan, blender kering, loyang, pengering vakum, ayakan 60 mesh, *press hydrolic*, cetakan tablet (terdiri : landasan dari baja berlapis *chrom stainlees steel* (ukuran panjang = 9cm, lebar = 7cm), cincin / ring dari *logam stainlees steel* (ukuran diameter dalam = 2,7cm, tinggi = :2cm), dan as penumbuk dari baja berlapis *chrom stainlees steel*.

Bahan: bunga mawar dengan varietas lokal Batu dan varietas hibrida Belanda segar. Bahan teknis antara lain kitosan, alginat, asam tartrat, aquades, maltodekstrin, asam sitrat, sodium bikarbonat dan sukrosa.

2. Prosedur Pembuatan

Pembuatan ekstrak dan bubuk dari bunga mawar:

1. Bahan utama yakni mahkota bunga mawar merah disiapkan terlebih dahulu, dipilih dua varietas bunga mawar yang banyak tersedia di masyarakat khususnya daerah Batu Malang yaitu lokal dan hibrida Belanda
2. Selanjutnya mahkota bunga ditimbang sebanyak 35 g, dan dimasukkan ke dalam blender dan ditambahkan pelarut yaitu aquades 95 ml, dan asam sitrat 5 gram, setelah itu dihancurkan
3. Hancuran disimpan dalam lemari pendingin selama 30 menit pada suhu 10°C-12° C supaya pigmen antosianin yang terekstrak lebih maksimal
4. Dipisahkan filtrat dan ampas mawar dengan penyaringan menggunakan kain saring dan pemerasan. Disaring menggunakan penyaringan vakum (kertas Whatman 41) dan ditambahkan 1-2% petroleum eter untuk dipisahkan senyawa non antosianin
5. Ditambahkan bahan *filler* maltodekstrin sebanyak 40%
6. Dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C, kurang lebih selama 12 jam
7. Setelah dikeringkan kemudian dihancurkan dengan blender.
8. Kemudian diayak dengan menggunakan 60 mesh.

Pembuatan tablet effervescent mawar (tahap II):

1. Dilakukan pencampuran 100 g bubuk ekstrak mawar kering dengan 15 gram (15%) asam sitrat, 30 gram (30%) sodium bikarbonat dan kopigmentasi (kitosan, alginat dan asam tartrat) sebesar 5 gram (5%), dengan menggunakan blender agar dihasilkan granula inti yang homogen
2. Setelah didapatkan granula inti, kemudian dilakukan pencampuran kedua yaitu pencampuran masing-masing granula inti dengan gula sebesar 70 gr (70%)
3. Selanjutnya dilakukan proses pengayakan dengan ukuran 60 mesh untuk menghasilkan ukuran yang sama
4. Kemudian dilakukan pengepresan menjadi bentuk tablet dengan tebal \pm 0,8 cm, diameter \pm 2,7 cm, dan bobot \pm 5 gram
5. Tablet *effervescent* mawar dikemas dengan pengemas Aluminium foil.

(Saati dan Sukardi, 2011.)

Lampiran 2

Instrumen Penelitian



Lampiran 3

Sonde Tablet Effervescent dan Injeksi CCl₄ pada tikus

Alat dan bahan:



Sonde Tablet Effervescent



Injeksi CCl₄



Lampiran 4

Hasil pemeriksaan MDA hati

Perlakuan CCl_4 dan tablet *effervescent* ekstrak mawar merah

No.	Kode sampel	Abs	Hasil konsentrasi (ng/200mg)
Kontrol/normal			
1	K-1	0,039	0,0325
2	K-2	0,047	0,049
3	K-3	0,039	0,0327
4	K-4	0,041	0,0374
5	K-5	0,042	0,0396
CCl_4			
6	K+1	0,159	0,2743
7	K+2	0,127	0,2301
8	K+3	0,132	0,2407
9	K+4	0,122	0,2205
10	K+5	0,156	0,2683
CCl_4 + tablet <i>effervescent</i> 1,25 g/hr			
11	P1 1	0,095	0,1789
12	P1 2	0,092	0,1729
13	P1 3	0,098	0,1851
14	P1 4	0,097	0,1833
15	P1 5	0,117	0,2101
CCl_4 + tablet <i>effervescent</i> 2,5 g/hr			
16	P2 1	0,062	0,0854
7	P2 2	0,064	0,0894
8	P2 3	0,07	0,1016
19	P2 4	0,057	0,0756
20	P2 5	0,069	0,0993
CCl_4 + tablet <i>effervescent</i> 5 g/hr			
21	P3 1	0,055	0,0711
22	P3 2	0,053	0,0622
23	P3 3	0,049	0,0585
24	P3 4	0,055	0,0713
25	P3 5	0,051	0,0594

Lampiran 5

Hasil Uji Normalitas Data, Uji Homogenitas Varian, Dan Uji Anova

Tests of Normality

Perlu an	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
MDA K-	.220	5	.200 [*]	.877	5	.295
K+	.219	5	.200 [*]	.909	5	.460
P1	.327	5	.086	.848	5	.188
P2	.203	5	.200 [*]	.947	5	.717
P3	.254	5	.200 [*]	.817	5	.111

Test of Homogeneity of Variances ke-1 (sebelum dilakukan transformasi data)

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.223	4	20	.012

ANOVA

MDA	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.155	4	.039	202.261	.000
Within Groups	.004	20	.000		
Total	.159	24			



Test of Homogeneity of Variances ke-2 (setelah dilakukan transformasi data)

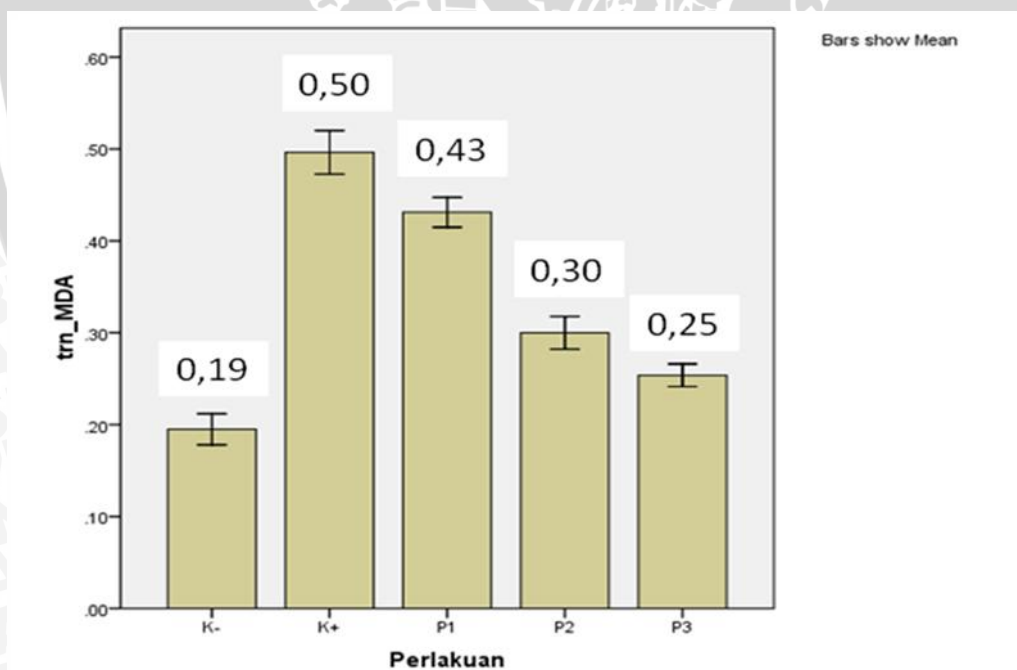
trn_MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.875	4	20	.496

ANOVA

trn_MDA	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.313	4	.078	248.761	.000
Within Groups	.006	20	.000		
Total	.320	24			

Diagram rerata dan standard deviasi kadar MDA hati



Lampiran 6

Hasil Uji LSD

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

trn_MDA

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K-	K+	-.30135*	.01123	.000	-.3248	-.2779
	P1	-.23613*	.01123	.000	-.2595	-.2127
	P2	-.10504*	.01123	.000	-.1285	-.0816
	P3	-.05876*	.01123	.000	-.0822	-.0353
K+	K-	.30135*	.01123	.000	.2779	.3248
	P1	.06521*	.01123	.000	.0418	.0886
	P2	.19631*	.01123	.000	.1729	.2197
	P3	.24259*	.01123	.000	.2192	.2660
P1	K-	.23613*	.01123	.000	.2127	.2595
	K+	-.06521*	.01123	.000	-.0886	-.0418
	P2	.13109*	.01123	.000	.1077	.1545
	P3	.17737*	.01123	.000	.1540	.2008
P2	K-	.10504*	.01123	.000	.0816	.1285
	K+	-.19631*	.01123	.000	-.2197	-.1729
	P1	-.13109*	.01123	.000	-.1545	-.1077
	P3	.04628*	.01123	.001	.0229	.0697
P3	K-	.05876*	.01123	.000	.0353	.0822
	K+	-.24259*	.01123	.000	-.2660	-.2192
	P1	-.17737*	.01123	.000	-.2008	-.1540
	P2	-.04628*	.01123	.001	-.0697	-.0229

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

