

**PENGARUH TERAPI PREVENTIF PERASAN AIR
BAWANG PUTIH (*Alium Sativum*) TERHADAP
KADAR *MALONDIALDEHYDE* (MDA) DAN
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS
(*Rattus Novergicus*) HASIL INDUKSI
RHODAMIN B MELALUI PAKAN**

SKRIPSI

Oleh :

YUSRIZAL DONI FIRMANA

115130100111019



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH TERAPI PERASAN AIR BAWANG
PUTIH (*Alium Sativum*) TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHYDE (MDA) DAN
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS (*Rattus Novergicus*) HASIL
INDUKSI RHODAMIN B
MELALUI PAKAN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :
YUSRIZAL DONI FIRMANA
115130100111019



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTERHEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTARSINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 BatasanMasalah.....	6
1.4 Tujuan.....	7
1.5 Manfaat.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anatomi dan Fisiologi Hepar	8
2.2Rhodamin B	9
2.2.1 Definisi Rhodamin B	9
2.2.2 Kegunaan Rhodain B	10
2.2.3 Dampak Negatif Rhodamin B	10
2.2.4 Patomekanisme Rhodamin B Dalam Tubuh.....	11
2.2.5 Pengaruh RhodaminTerhada pHepar dan MDA.....	14
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konseptual	16
3.2 Hipotesis Penelitian	18
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1Tempat dan Waktu Penelitian	19
4.2 Sampel Penelitian	19
4.3 Rancangan Penelitian	20
4.4 Variabel Penelitian	20
4.5Materi Penelitian	20
4.6Tahapan Penelitian	21
4.6.1 Persiapan Hewan Coba.....	22
4.6.2 Penentuan Dosis Rhodamin B dan Air Bawang.....	23
4.6.3 Pembuatan Pakan Mengandung Rhodamin B.....	23
4.6.4 Uji Konfirmasi Kandungan Rhodamin B.....	24
4.6.5Pembuatan Perasan air bawang	25
4.6.6Pemberian Pakan Rhodamin dan Perasan Air Bawang.....	25
4.7Analisa Data	26
DAFTAR PUSTAKA	28



LAMPIRAN..... 31



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Penelitian.....	16
4.2 Kerangka Operasional	27



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur kimia Rhodamin B.....	9



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Pakan yang Mengandung Rhodamin B.....	29
2 Pembuatan Perasan Bawang.....	30



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Simbol/ Singkatan	Keterangan
ATP	<i>Adenosine triphosphate</i>
BAL	BakteriAsamLaktat
BB	Beratbadan
BPOM	BadanPengawasanObatdanMakanan
CAT	<i>Catalase</i>
cfu	<i>ColiformperUnit</i>
cP	<i>CentiPoise</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
GPX	<i>Glutation peroksidase</i>
H ₂ O	Hidrogendioksida/Air
HCl	HidrogenKlorida
HPx	<i>Hydropheroxidase</i>
KCl	KaliumKlorida
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
ml	Milliliter
PBS	<i>Phoshat Buffer Saline</i>
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
ppm	<i>Part per Million</i>
RAL	RancanganAcakLengkap
RE	ReseptorEsterogen
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	rotasi per menit
SOD	<i>Superoxide dismutase</i>
TBA	<i>Thiobarbituric acid</i>
TCA	<i>tri-chloroacetic acid</i>
USDA	<i>United Stated Departement of Agriculture</i>
UV	Ultraviolet
°C	DerajatCelcius
λ	Lambda



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR

Puji syukur Kehadirat Tuhan Yang Maha Esa penulis aturkan atas segala berkah dan nrahmat-Nya sehingga mampu menyelesaikan tugas sarjana yang berjudul “ Pengaruh Terapi Perasan Air Bawang Putih terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) dan Histopatologi Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Rhodamin melalui Pakan”. Selama penyusunan tugas sarjana ini telah melibatkan banyak pihak sehingga penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS dan drh. Dyah Ayu OAP., M. Biotech, selaku dosen pembimbing yang telah tulus ikhlas membimbing punulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Kepada Ibu Dyah Kinasih Wuragil. Ssi. MP. M.Sc dan drh. Wawid Purwatiningsih. M.Vet selaku penguji.
3. Bapak Bambang Sutrisno, Ibu Jumrotin, dan adikku M. Zulfan Ardiansyah tercinta yang selalumemberikan kasih sayang, motivasi, dan dukungan dalam segala bentuk untuk penulis.
4. Asisten Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya dan Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Malang atas segala bantuan dan waktu yang diluangkan.
5. Sahabatku tercinta yang telah membantu penulis menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Keluarga besar vetasclub (*Veterinary A Student Class University of Brawijaya*) yang selalu memberikan motivasi bagi penulis.
7. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan tugas akhir ini.

Akhir kata, semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat serta menambah wawasan dan pengetahuan bagi penulis juga pembaca.

Malang, 11 Mei 2018

Penulis

**PENGARUH TERAPI PERASAN AIR BAWANG PUTIH (*Alium Sativum*)
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) DAN
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS (*Rattus Novergicus*) HASIL
INDUKSI RHODAMIN B
MELALUI PAKAN**

ABSTRAK

Rhodamin B merupakan zat toksik dan sumber radikal bebas apabila masuk ke dalam tubuh. Zat aktif Rhodamin dapat berikatan dengan lemak tidak jenuh pada membrane sel hepar dan menyebabkan terjadinya peroksidase lipid yang berujung pada kerusakan sel hepar. Hasil akhir dari peroksidase lipid ini adalah *Malondialdehyde*. Untuk menghambat terjadinya kerusakan sel akibat radikal bebas ini diperlukan antioksidan seperti isoflavon yang ada dalam bawang putih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian perasan air bawang putih terhadap kerusakan sel hepar melalui gambaran histopatologi dan pengukuran kadar MDA pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar rhodamin melalui pakan selama 21 hari. Penelitian ini terdiri dari lima kelompok perlakuan yaitu kelompok control negatif (A), kelompok control positif (B), kelompok tikus C, D dan E yang diberikan pakan mengandung Rhodamin B dan diberikan perasan air bawang putih sebanyak 0,5 ml/200gBB, 1 ml/200gBB, dan 1,5 ml/200gBB secara bersamaan. Pengukuran kadar MDA hepar dilakukan menggunakan spektrofotometer UV VIS sedangkan pengamatan histopatologi hepar menggunakan pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* (HE). Analisa data MDA menggunakan *One Way ANOVA* dan uji lanjutan *BNJ* α 5% serta histopatologi hepar secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan air perasan bawang putih memberikan pengaruh nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar MDA histopatologi hepar. Air perasan bawang putih dengan dosis terapi 0,5 ml/200gBB merupakan volume paling efektif dalam menurunkan kadar MDA pada hepar dengan prosentase 40% dan mencegah kerusakan gambaran histopatologi hepar.

Kata Kunci : MDA, Histopatologi, Hepar, Rhodamin B, Perasan air bawang putih

THE EFFECT of WATER GARLIC JUICE(*Allium sativum*)PREVENTIVE THERAPHY on MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVEL AND HEPAR HISTOPATHOLOGY IN RATS (*Rattusnorvegicus*) WITH RHODAMIN B EXPOSURE IN FEED

ABSTRACT

Rhodamin B is a toxic substances and source of the free radicals if enter the body. Rhodamin B in feed that enter the body will be absorbed in the intestinal villi and circulated with blood to the liver for detoxification. Rhodamin B that is a free radicals substances binding with the unsaturated fats in the liver membrane cell and going on lipid peroxidation which lead to liver damage. The end result of lipid peroxidation is Malondialdehyde (MDA). To prevent the occurrence of liver cell damage, can consume food that contain antioxidant. One of the antioxidant compound is isoflavones that can be found in garlic juice . This study was aimed to evaluate the MDA level and histopathology of the liver tissue in rats with rhodamine exposure in feed after giving different volumeswater of juice of garlic. In this study, these animals were devided into five groups, group A was negative control, group B was positive control, and grup C, D, and E treated with borax in feed and received water juice of garlic will different volume (0,5 ml/200gBW 1 ml/200gBW, and 1,5 ml/200gBW) simultaneously. Measurement of MDA level performed using UVspectrophotometer. And the histopathology of liver was observedusingHematoxylen-Eosin (HE) staining. The MDA data will be analisis using One Way ANOVA and BNJ test α 5%, histopathology of liver and hepar histopathology will be analysed descriptivity. The results showed that garlic juice had a real effect ($p < 0.01$) on MDA level of histopathologic hepar. Garlic juice with a dose of 0.5 ml / 200gBB therapy is an effective volume in reducing MDA levels in the liver by 40% and preventing damage to hepatic histopathologic features.

Keyword : MDA level, Histopathology, Liver, Rhodamin B, Juice of garlic water

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Pengaruh Terapi Perasan Air Bawang Putih (*Alium Sativum*)
Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Dan Histopatologi
Hepar Pada Tikus (*Rattus Novergicus*) Hasil nduksi
Rhodamin B Melalui Pakan

Oleh :

YUSRIZAL DONI FIRMANA
115130100111019

Setelah di pertahankan di depan Majelis Penguji
Pada tanggal 08 Agustus 2018
Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Menyetujui,

Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Chanif Ma'idi, MS
NIP. 19520412 198002 1 001

Pembimbing II

Drh. Dyah Ayu OAP., MBIotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 196009031988022001



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Yusrizal Doni Firmana
NIM : 115130100111019
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Terapi Perasan Air Bawang Putih (*Alium Sativum*) Terhadap Kadar
Malondialdehyde (MDA) Dan Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattus*
Novergicus) Hasil Induksi Rhodamin B
Melalui Pakan

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 10 Februari 2018
Yang menyatakan,



Yusrizal Doni Firmana
NIM. 115130100111019

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Menurut beberapa survey dan penelitian yang telah dilakukan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia menunjukkan bahwa makanan yang beredar di masyarakat masih banyak yang menggunakan bahan-bahan berbahaya dan tidak memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Keselamatan dan kesehatan masyarakat terhadap makanan dan minuman yang tidak memenuhi syarat harus dilindungi. Cara produksi dan pendistribusian makanan dan minuman yang tidak benar dapat membahayakan kesehatan masyarakat. Penjaminan mutu makanan merupakan tanggung jawab dari pemerintah, produsen makanan, dan konsumen itu sendiri (Cahyadi, 2008).

Keamanan pangan adalah suatu kondisi atau upaya yang dilakukan untuk mencegah adanya kemungkinan cemaran biologis, fisik, dan kimia pada makanan yang dapat mengganggu dan membahayakan kesehatan manusia. Produk pangan yang aman mempunyai nilai gizi dan mutu yang sehingga berguna untuk pertumbuhan, perkembangan, dan pemeliharaan kesehatan masyarakat serta dapat meningkatkan kecerdasan. Oleh karena itu makanan dan minuman yang aman sangat diperlukan untuk kesejahteraan masyarakat (Saparinto dan Hidayati, 2006).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 033 tahun 2012 tentang Bahan Tambah Pangan (BTP), pengawet merupakan bahan tambahan pangan yang digunakan untuk menghambat

fermentasi, pengasaman atau peruraian lain terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Sedangkan bahan pengawet yang diijinkan digunakan pada makanan adalah asam benzoate, garam Natrium benzoat, Kalium benzoat, asam propinoat, dan asam sorbat. Untuk dosis yang diperbolehkan bervariasi tergantung dari sifat produk tersebut. Kenyataan saat ini masih banyak produk pangan yang beredar di masyarakat mengandung bahan pengawet yang melebihi dosis batas yang ditetapkan dan menggunakan bahan pengawet yang dilarang keberadaannya pada produk pangan (Wariyah, 2013).

Salah satu diantara banyak bahan tambahan yang dilarang adalah Rhodamin B. Rhodamin B merupakan pewarna sintetis berbentuk serbuk kristal, berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau dan dalam larutan akan berwarna merah terang berpendar/berfluorosensi. Rhodamin B merupakan zat warna golongan *xanthenes dyes* yang digunakan pada industri tekstil dan kertas, sebagai pewarna kain, kosmetika, produk pembersih mulut dan sabun Menurut WHO, rhodamin B berbahaya bagi kesehatan manusia karena sifat kimia dan kandungan logam beratnya. Rhodamin B mengandung senyawa klorin (Cl). Senyawa klorin merupakan senyawa halogen yang berbahaya dan reaktif. Jika tertelan, maka senyawa ini akan berusaha mencapai kestabilan dalam tubuh dengan cara mengikat senyawa lain dalam tubuh, hal inilah yang bersifat racun bagi tubuh. Selain itu, rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak dan DNA dalam tubuh.

Data yang didapatkan dari BPOM tahun 2007 menunjukkan bahwa pangan jajanan anak sekolah (PJAS) dari 478 sampel Sekolah Dasar di 26 Provinsi terdeteksi 49,43% tidak memenuhi persyaratan. PJAS tersebut terindikasi menggunakan beberapa bahan berbahaya yang tidak boleh berada pada produk pangan diantaranya adalah pewarna rhodamin B dan pengawet yang menggunakan formalin dan boraks. Sedangkan menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1168/MenKes/Per/X/1999 menyebutkan ada 10 bahan berbahaya dan dilarang penggunaannya dalam makanan diantaranya adalah boraks dan senyawanya serta formalin atau formaldehid.

Rhodamin yang tertelan dalam tubuh akan masuk dalam lambung dan bereaksi dengan asam klorida (HCL) yang diproduksi oleh lambung dan terbentuk asam borat. Selanjutnya asam borat yang telah terbentuk masuk ke dalam system pencernaan dan diabsorpsi oleh vili usus (Elyizad dkk., 2013). Rhodamin yang terabsorpsi masuk ke dalam sistem sirkulasi dan kemudian dibawa ke hepar untuk dilakukan detoksifikasi. Dikarenakan rhodamin bersifat toxic dan merupakan senyawa radikal bebas eksogen, ini berarti besar kemungkinan hati juga akan mengalami stres oksidatif dan kerusakan sel hepar. Kerusakan sel hepar dapat diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Sedangkan stres oksidatif pada hepar dapat diamati dengan pengukuran kadar *Malondialdehyde* (MDA).

MDA (*Malondialdehyde*) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, yang digunakan sebagai biomarker biologis untuk menggambarkan

derajat stress oksidatif (Hendromartono, 2000). Perubahan struktur molekuler pada hepar akibat cemaran Rhodamin B mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan endogen dan peningkatan radikal bebas yang berakibat pada kerusakan oksidatif pada sel. Oleh karena itu untuk membantu sel melawan radikal bebas dan menyeimbangkan antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh perlu diberikan antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melawan dampak negatif dari oksidan. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua macam yaitu antioksidan eksogen dan antioksidan endogen. Antioksidan endogen berasal dari dalam tubuh yang terdiri dari *Super Oksida Dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* dan *katalase*. Antioksidan eksogen diperoleh dari luar tubuh diperoleh melalui konsumsi bahan pangan asal tumbuhan ataupun hewan. Antioksidan eksogen sangat dibutuhkan untuk membantu melawan kelebihan radikal bebas dalam tubuh. Pemberian antioksidan tambahan akan membantu perbaikan kerusakan sel (Setiawan *dkk.*, 2005).

Sumber antioksidan eksogen (berasal dari luar tubuh) diperoleh melalui konsumsi bahan pangan asal tumbuhan maupun hewan. Sumber antioksidan eksogen alternatif yang sering kita jumpai adalah bawang putih (*Allium sativum*). Kandungan allicin pada bawang putih telah diketahui memiliki efek antioksidan.

Ekstak *allium sativum* mengandung antioksidan tinggi seperti SAC, S-allylmercaptocysteine, allyl sulphides. Zat aktif tersebut diduga bersinergi dan meningkatkan aktivitas antioksidan dengan meningkatkan enzim

antioksidan seluler seperti superoxidase dismutase (Liu, *et al.*, 2005). Perasan bawang putih dipilih karena memiliki kandungan antioksidan yang sangat tinggi sehingga diharapkan dapat menjadi alternatif obat herbal.

Sampai saat ini, belum ada penelitian yang menjelaskan tentang pengaruh perasan air bawang putih terhadap perbaikan kerusakan sel hepar akibat makanan yang tercemar Rhodamin B serta pengaruhnya terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*). Maka dalam penelitian ini akan diuji pengaruh pemberian perasan bawang putih terhadap kerusakan sel hepar akibat paparan rhodamin B melalui gambaran histopatologis hepar dan kadar MDA pada organ hepar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah penelitian yaitu untuk membuktikan bahwa perasan air bawang putih (*Alium Sativum*) dapat menurunkan kadar MDA hepar dan perbaikan sel hepar akibat paparan rhodamin B pada tikus putih (*Rattus norvegicus*), maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut :

1. Apakah perasan air bawang putih (*Alium Sativum*) dapat menurunkan kadar MDA hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah dipapar rhodamin B melalui makanan?
2. Apakah perasan air bawang putih (*Alium Sativum*) dapat memperbaiki kerusakan jaringan hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang telah dipapar rhodamin B melalui makanan?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

- 1) Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar yang didapatkan dari Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Kimia Universitas Islam Negeri Malang dengan umur 8-12 minggu dan berat badan rata-rata 200 gram. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini sudah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya NO: 626-KEP-UB.
- 2) Hewan model diberikan paparan Rhodamin B yang dicampur melalui makanan dengan konsentrasi 600 ppm selama 14 hari. Rhodamin B didapat dari Panadia Laboratory Malang dalam bentuk serbuk teknis.
- 3) Air perasan bawang putih dibuat dengan cara bawang di tumbuk dan diperas airnya dengan kain peras.
- 4) Volume pemberian air perasan bawang putih yaitu sebanyak 0,5 ml/ 200gram BB, 1 ml/ 200gram BB, dan 1,5 ml/ 200gram BB selama 21 hari secara per oral.
- 5) Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada hepar yang diukur menggunakan sprktofotometer UV-Vis dan gambaran histopatologi hepar diamati menggunakan mikroskop Olympus BX51.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian air perasan bawang putih terhadap kadar *Malondialdehyde* (MDA) tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Rhodamin B melalui pakan.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian air perasan bawang putih terhadap gambaran histopatologis hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Rhodamin B melalui pakan.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui peran perasan air bawang putih sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan sel pada hepar melalui gambaran histopatologis hepar dan pengukuran kadar *Malondialdehyde* (MDA) tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Rhodamin B melalui pakan dan sebagai sumber informasi untuk meningkatkan pengetahuan mengenai efektivitas air perasan bawang putih sebagai antioksidan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anatomi dan Fisiologi Hepar

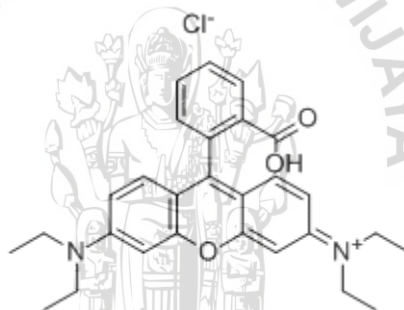
Hepar merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh manusia. Hepar memegang peranan penting dalam metabolisme dan memiliki beberapa fungsi dalam tubuh diantaranya penyimpanan glikogen, pemecahan sel darah merah, sintesis protein plasma, produksi hormon, dan detoksifikasi (Adinugroho, 2013). Hepar terletak pada region hipokondrika dekstra, epogastrika dan sebagian kecil di hipokondrika sinistra. Hepar mempunyai warna coklat kemerahan dengan konsistensi yang padat kenyal. Hepar mempunyai dua lobus yaitu lobus dexter (kanan) dan sinister (kiri). Lobus dexter dibagi menjadi segmen anterior dan posterior oleh fisura segmentalis dekstra sedangkan lobus sinister dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum falsiformis. Lobus dexter mempunyai tambahan dua lobus kecil yaitu lobus quadrates dan lobus kaudatus (Guyton dan Hall, 2008).

Hepar terdiri dari berbagai macam sel. Sel hepatosit memenuhi hati sekitar 60%, sedangkan sisanya terdiri atas sel-sel epitelial sistem empedu dan sel-sel non parenkimal yang termasuk didalamnya terdapat endothelium, sel kupffer dan stellate yang berbentuk seperti bintang. Sel hepatosit sendiri dipisahkan oleh sinusoid yang tersusun melingkari eferen vena hepatica dan duktus hepatica (Guyton dan Hall, 2008).

2.2 Rhodamin B

2.2.1 Definisi Rhodamin B

Rhodamine B merupakan zat pewarna sintetis berbentuk serbuk kristal berwarna kehijauan, dalam bentuk larutan pada konsentrasi berwarna merah keunguan dan konsentrasi rendah berwarna merah terang, termasuk golongan pewarna *xanthenes basa*, dan terbuat dari *metadietilaminofenol* dan *ftalik anhidrid* suatu bahan yang tidak bisa dimakan serta sangat berfluoresensi (Utami dan Andi, 2009).



Gambar 2.1 Struktur kimia Rhodamine B (EPA, 2008)

Rhodamine B memiliki berbagai nama lain, yaitu: tetra ethyl rhodamin, Rheonine B, D & C Red No. 19, C.I. Basic Violet 10, C.I. No 45179, Food Red 15, ADC Rhodamine B, Aizan Rodhamone dan Brilliant Pink B. Sedangkan nama kimianya adalah N - [9-(carboxyphenyl) - 6 - (diethylamino) - 3H - xanten - 3 - ylidene] - N-ethylethanaminium clorida. Rumus molekul dari Rhodamine B adalah $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ dengan berat molekul sebesar 479 g/mol. Mudah larut dalam air yang akan menghasilkan warna merah kebiru- biruan dan berfluorensi kuat (Xiong, 2001).

2.2.2 Kegunaan Rhodamin B

Menurut Kirana (2009), fungsi utama Rhodamin B merupakan zat warna golongan *xanthenes dyes* yang digunakan pada industri tekstil dan kertas, sebagai pewarna kain, kosmetika, produk pembersih mulut dan sabun. Nama lain Rhodamin B adalah *D and C Red no 19, Food Red 15, ADC Rodhamine B, Aizen Rhodamine dan Brilliant Pink*.

2.2.3 Dampak Negatif Rhodamin B

Rhodamine B juga dimasukkan dalam daftar toxin yang berefek genotoxin dan karsinogenik, sehingga dalam penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan kanker ditandai dengan gejala adanya pembesaran hati, ginjal dan limfa diikuti perubahan anatomi berupa pembesaran organnya (Mayori, 2013). Penggunaan rhodamine B pada makanan dan minuman dalam waktu yang lama dapat menyebabkan gangguan fungsi hepar kronik, yang akan berujung pada kanker. Selain efek kronik, paparan Rhodamine B dengan dosis yang teramat besar juga bisa menyebabkan gejala keracunan akut. (Xiong, 2001)

Menurut WHO, rhodamin B berbahaya bagi kesehatan manusia karena sifat kimia. Rhodamin B mengandung senyawa klorin (Cl). Senyawa klorin merupakan senyawa halogen yang berbahaya dan reaktif. Jika tertelan, maka senyawa ini akan

berusaha mencapai kestabilan dalam tubuh dengan cara mengikat senyawa lain dalam tubuh, hal inilah yang bersifat racun bagi tubuh. Selain itu, rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak dan DNA dalam tubuh. Diketahui pula bahwa rhodamin B juga dapat menimbulkan efek akut jika tertelan sebanyak 500 mg/kg BB, yang merupakan dosis toksiknya. Efek toksik yang mungkin terjadi adalah iritasi saluran cerna. (Jonqueira and Carneiro 2005; Samuelson 2007).

2.2.4 Patomekanisme Rhodamin B Dalam Tubuh

Rhodamine B merupakan senyawa radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif atau *reactive oxygen species* (ROS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan oksidan yang sangat reaktif dan mempunyai aktivitas yang berbedaa. Dampak negatif senyawa tersebut timbul karena aktivitasnya, sehingga dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh ROS yang lain atau sistem antioksidannya. Secara cepat, molekul radikal bebas akan menarik elektron makromolekul biologis yang berada di sekitarnya seperti protein, asam nukleat, dan asam deoksiribonukleat (DNA) untuk memenuhi keganjilan

elektronnya. Jika makromolekul yang teroksidasi dan terdegradasi tersebut merupakan bagian dari sel atau organel, maka dapat mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut (Astuti, 2008).

Secara fisiologis, sel memproduksi radikal bebas (endogen) sebagai konsekuensi logis pada reaksi biokimia dalam kehidupan aerobik. Organisme aerobik membutuhkan oksigen untuk menghasilkan ATP, yaitu senyawa yang merupakan sumber energi bagi makhluk hidup melalui fosforilasi oksidatif yang terjadi dalam mitokondria. Pada proses tersebut terjadi reduksi O_2 menjadi H_2O yang membutuhkan pengalihan 4 elektron. Pada kondisi tertentu, pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga dapat terbentuk radikal bebas yang dapat merusak sel jika tidak diredam (Suryohudoyo, 2007). Pembentukan radikal bebas akan dinetralisir oleh antioksidan yang diproduksi oleh tubuh dalam jumlah yang berimbang. Antioksidan yang dimaksud berupa enzim, diantaranya adalah enzim *superoxide dismutase* (SOD) yang terdapat di mitokondria dan sitosol, *glutathione peroxidase* (GPX), *glutathione reductase* dan katalase (Astuti, 2008).

Berdasarkan konsep radikal bebas, efek negatif dari radikal bebas akan timbul jika jumlah radikal bebas melebihi kemampuan detoksifikasi sistem pertahanan antioksidan endogen sehingga menimbulkan kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu kondisi yang berhubungan dengan peningkatan laju kerusakan sel

akibat induksi oksigen dan turunannya (senyawa spesies oksigen reaktif/ROS). Stres oksidatif yang terjadi secara terus menerus dan dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif (*oxydative damage*), yaitu terjadinya kerusakan dan kematian sel, jaringan hingga organ tubuh (Mahdi, 2010). Kerusakan sel terjadi akibat ketidakseimbangan antara pembentukan ROS dan aktivitas pertahanan enzim antioksidan (Fuji, *et al.*, 2003 ; Lee, *et al.*, 2004).

Sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa radikal dibedakan menjadi sistem pertahanan preventif dan sistem pertahanan melalui mekanisme pemutusan reaksi rantai radikal bebas. Sistem pertahanan preventif dilakukan oleh antioksidan sekunder, sedangkan pemutusan reaksi berantai radikal bebas dilakukan oleh antioksidan primer (Astuti, 2008). Menurut Gordon dalam Astuti (2008), antioksidan primer merupakan substansi yang berperan sebagai akseptor radikal bebas sehingga dapat menghambat mekanisme radikal bebas pada proses oksidasi. Antioksidan ini juga disebut sebagai antioksidan pemecah rantai yang dapat bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil, seperti tokoferol dan asam askorbat. Antioksidan sekunder atau antioksidan pelindung berperan dalam mereduksi kecepatan rantai inisiasi melalui berbagai mekanisme. Mekanisme antioksidannya dapat terjadi

melalui pengikatan ion-ion logam, *scavenger* oksigen, dekomposisi hidroperoksida menjadi bentuk-bentuk non radikal, menyerap radiasi sinar ultra violet atau deaktivasi singlet oksigen. Contoh antioksidan sekunder antara lain asam sitrat dan turunan asam fosfat, karoten, enzim superoksida dismutase, katalase dan *glutation peroxidase*.

2.2.5 Pengaruh Rhodamin B Terhadap Hepar dan MDA

Masuknya Rhodamin B dalam tubuh manusia akan diabsorpsi sempurna pada waktu 24- 96 jam. Paparan rodhamin dalam jangka waktu yang lama akan menimbulkan disfungsi hati dan ginjal (Edwards, 2009). Rhodamin yang diketahui merupakan radikal bebas dapat memicu berbagai macam penyakit didalam tubuh. Radikal bebas sangat reaktif menyerang molekulmolekul tubuh yang terletak disekitarnya. Proses biologis radikal bebas didalam tubuh secara konstan diproduksi dan dieliminasi dengan syarat apabila tubuh memiliki pertahanan endogen yang cukup (Rush, *et al.*, 2005). Rhodamin yang masuk dalam tubuh dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid sehingga fungsi membran sel dapat terganggu. Gangguan yang ditimbulkan pada membran sel menimbulkan kerusakan *irreversibel* terhadap fluiditas dan elastisitas membran yang dapat mengakibatkan ruptur membran sel (Szocs, 2004). Pada penelitian Tatukude (2004), menunjukkan

bahwa pemberian Rhodamin B secara oral dapat menyebabkan kelainan pada organ hati dilihat dari gambaran makroskopis dan mikroskopis. Sedangkan peningkatan kadar MDA pada tubuh merupakan sinyal atau pertanda adanya akumulasi radikal bebas di dalam tubuh (Yustika, dkk., 2013).

2.3 Perasan air Bawang Putih

2.3.1 Bawang Putih

Bawang putih merupakan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis. Tanaman ini tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak sampai setinggi 30- 75 cm. Batang yang tampak di atas permukaan tanah adalah batang semu yang 16 terdiri dari pelepah-pelepah daun. Sedangkan batang yang sebenarnya berada di dalam tanah. Dari pangkal batang tumbuh akar berbentuk serabut kecil yang banyak dengan panjang kurang dari 10 cm. Akar yang tumbuh pada batang pokok bersifat rudimenter, berfungsi sebagai alat penghisap makanan (Santoso, 2000).

Berikut ini adalah klasifikasi dari tumbuhan bawang putih atau yang dikenal juga sebagai *Allium Sativum*:

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Liliopsida
- Sub Kelas : Liliidae

Ordo	: Liliales
Famili	: Liliaceae
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Alliumsativum L</i> (Santoso, 2000)

Bawang putih (*Allium sativum*) merupakan salah satu jenis tanaman yang telah banyak dimanfaatkan untuk pengobatan sejak ribuan tahun yang lalu. Banyak hasil penelitian menunjukkan berbagai pengaruh farmakologis dari bawang putih, misalnya sebagai antibakteri, antijamur, hipolipidemik, hiperglikemik, antihipertensi dan antikanker. Efek perindungan yang dihasilkan oleh bawang putih berkaitan dengan sifat antioksidannya (Qidway, 2000).

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Bawang Putih dalam 100 gram bahan

Bahan	Jumlah
Air	66,2 – 71,0 g
Kalori	95,0 – 122 kal
Protein	4,5 – 7 g
Lemak	0,2 – 0,3 g
Karbohidrat	23,1 – 24,6 g
Kalsium	26 – 42 mg
Fosfor	15 – 109 mg
Besi	1,4 – 1,5 mg
Kalium	346 – 377 mg

(Sumber : Syamsiah dan Tajudin, 2003).

Menurut Kim *et al* (2002), penggunaan bawang putih yang terbanyak adalah sebagai makanan pelengkap yaitu suatu produk yang mengandung vitamin, mineral, tumbuh-tumbuhan, asam amino, enzim, dan/atau zat lain yang ditujukan untuk melengkapi diet sehari-hari. Bawang putih juga digunakan untuk mencegah beberapa jenis kanker, termasuk kanker lambung dan kolon.

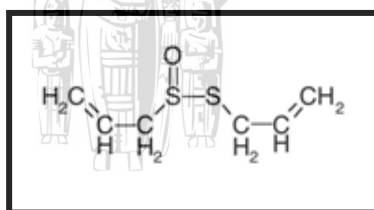
Bawang putih segar mengandung enzim yang disebut allinase dan allin, yang terkandung berbeda dari tanaman itu. Struktur itu berfungsi sebagai mekanisme pertahanan terhadap mikroba patogen tanah. Ketika jamur atau patogen tanah lainnya menyerang bawang putih, membran kompartemennya hancur, dan dalam waktu 10 detik allin akan diubah menjadi senyawa baru yang disebut allisin.

Menurut Kumalaningsih (2006), antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman dan hewan seperti tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid, dan senyawa fenolik. Antioksidan sintetik yang dibuat dari bahan kimia seperti BHA, BHT, TBHQ, PG, dan NDGA yang biasa ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

Senyawa antioksidan utama yang terdapat dalam Bawang putih adalah allisin. Allisin merupakan anti-oksidan utama dalam bawang putih. Senyawa ini mampu menekan produksi nitrat oksida (NO) melalui 2 jalur, yakni pada konsentrasi rendah (10 μ M), menghambat kerja enzim cytokine-induced NO

synthase (iNOS) melalui pengendalian iNOS mRNA, sedangkan pada konsentrasi tinggi HI (40 μ M) menghambat transport arginin melalui mekanisme pengendalian CAT-2 mRNA (cationic amino acid transporter-2 mRNA). Akumulasi NO akan menginduksi pembentukan oksidator kuat, peroksinitrit. (Hernawan dan Setyawan, 2003).

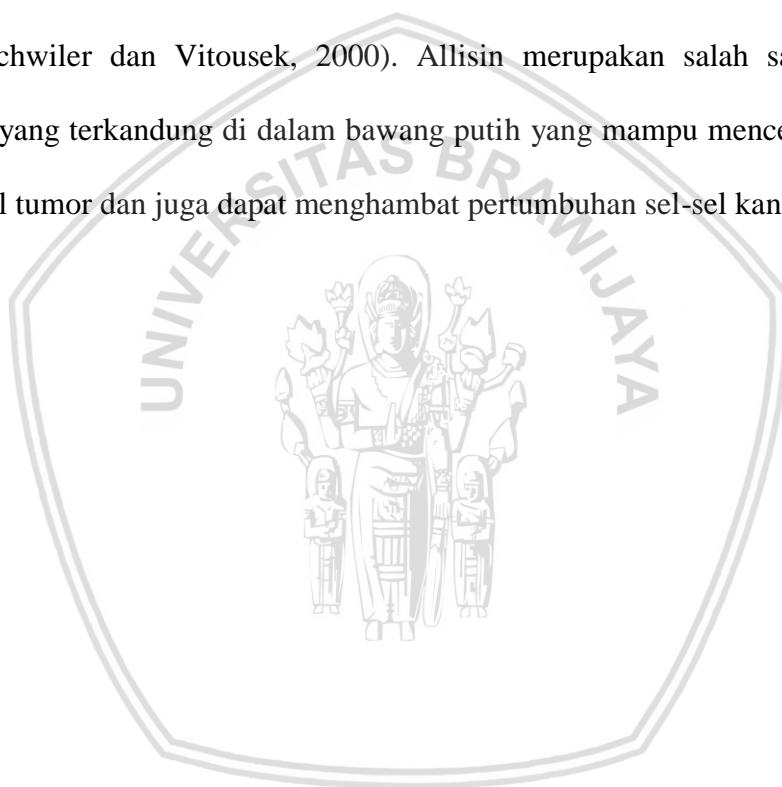
Menurut Lawrence (2011) terdapat empat senyawa utama pada bawang putih yaitu alisin, allin, alil sistein, dan alil disulfide yang berperan sebagai antioksidan dengan aktivitas penghambat reaksi hidrosil dan peroksidasi lipid, serta ditemukan bahwa empat senyawa tersebut aktif terhadap kerusakan radikal bebas. Adapaun struktur molekul dari alisin yang berfungsi sebagai antioksidan alami dapat dilihat pada **Gambar 2.3** berikut :



Gambar 2.3 Struktur Kimia Allisin (Priskila, 2008).

Menurut Yuhua dan Eddy (2001) kandungan kimia dari umbi bawang putih per 100 gram adalah allisin 1,5% yang merupakan komponen penting dengan efek antibiotik dan sebagai antioksidan, protein sebesar 4,5 gram, lemak 0,20 gram, hidrat arang 23,10 gram, vitamin B1 0,22 miligram, vitamin C 15 miligram, kalori sebanyak 95 kalori, fosfor 134 miligram, kalsium 42 miligram, zat besi 1 miligram, dan air 71 gram. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat

menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas, senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dan dipicu oleh bermacam-macam faktor (Winarsi, 2007). Turunan fenol sebagai antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Hattenschwiler dan Vitousek, 2000). Allisin merupakan salah satu senyawa alamiah yang terkandung di dalam bawang putih yang mampu mencegah timbulnya sel-sel tumor dan juga dapat menghambat pertumbuhan sel-sel kanker.



BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

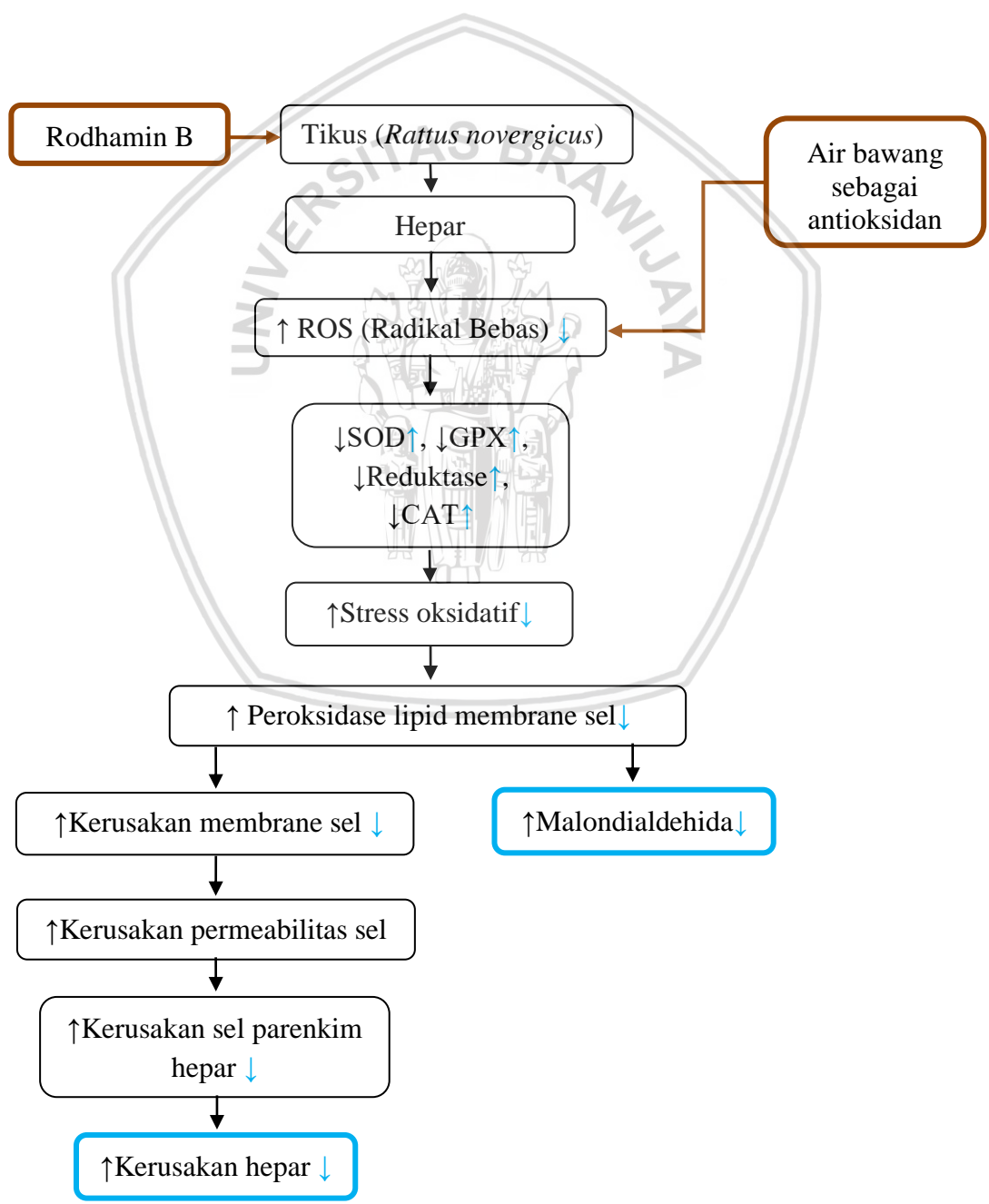
3.1 Kerangka Konseptual

Radikal bebas yang masuk dalam tubuh akibat paparan rhodamin B akan berinteraksi dengan asam lemak tak jenuh (PUFA) yang merupakan penyusun dari membran sel untuk mencapai keseimbangan dengan hasil akhir berupa senyawa *malondialdehid* (MDA). Membran sel hepar banyak tersusun oleh asam lemak tak jenuh *unsaturated fatty acid* (PUFA). Asam lemak tidak jenuh pada membran sel hepar ini akan berikatan dengan radikal bebas dan menyebabkan kerusakan membran sel. Kerusakan membran sel ini akan mengganggu permeabilitas sel dan akibatnya semua zat dapat keluar masuk sel tanpa terkontrol. Keluar masuknya zat ke dalam sel akan menyebabkan rusaknya sel parenkim pada hepar. Semakin tinggi paparan rhodamin B yang diberikan maka akan mempercepat terjadinya peroksidasi lipid dan kerusakan hepar.

Peroksidasi lipid merupakan suatu proses dimana radikal bebas dalam tubuh berikatan dengan asam lemak tak jenuh (PUFA) sehingga membentuk suatu senyawa aldehid yang dinamakan malondialdehida. Peroksidasi lipid yang diperantarai ROS mempunyai tiga komponen utama reaksi, yaitu reaksi inisiasi, propagasi, dan terminasi

Pemberian perasan Bawang putih (*Allium sativum*) pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang mengandung Allisin dan isoflavon diharapkan dapat mencegah terbentuknya radikal bebas karena allisin yang memiliki gugus fenolik dapat mendonorkan ion hidrogen. Dengan adanya donor ion hidrogen,

maka laju metabolisme tubuh berjalan dengan normal dan proses oksidasi lemak serta protein akan terhambat. Sehingga, kerusakan sel akibat stres oksidatif dapat berkurang.



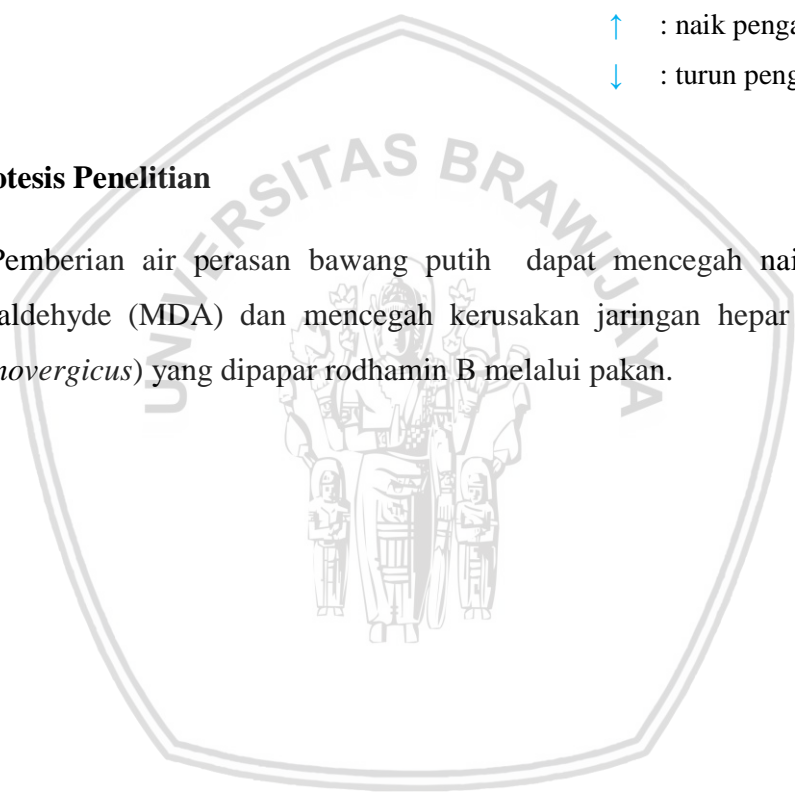
Gambar 3.1 Kerangka konseptual penelitian

Keterangan :

- : patomekanisme
- ⋯ : menghambat
- (orange) : variable bebas
- (blue) : variable tergantung
- ↑ : naik pengaruh induksi
- ↓ : turun pengaruh induksi
- ↑ (blue) : naik pengaruh terapi
- ↓ (blue) : turun pengaruh terapi

1.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian air perasan bawang putih dapat mencegah naiknya kadar malondialdehyde (MDA) dan mencegah kerusakan jaringan hepar tikus putih (*Rattus novergicus*) yang dipapar rodhamin B melalui pakan.



BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama April 2016 - Mei 2016 di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Malang. Pengukuran kadar *Malondyaldehyde* Laboratorium patologi klinik Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya dan pembuatan preparat histopatologi hepar dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

4.2 Sampel Penelitian

Hewan model menggunakan Tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar berumur 8 sampai dengan 12 minggu. Berat badan tikus antara 180-200 gram. Hewan coba ditempatkan pada kandang adaptasi selama 1 minggu agar hewan dapat menyesuaikan dengan lingkungan baru di laboratorium. Menurut Kusriningrum (2008), estimasi besaran sampel dihitung berdasarkan rumus berikut;

$t(n-1) \geq 15$	Keterangan :
$t(n-1) \geq 15$	t = jumlah kelompok perlakuan
$5(n-1) \geq 15$	n = jumlah ulangan yang diperlukan
$5n - 4 \geq 15$	
$5n \geq 19$	
$n \geq 19/5$	
$n \geq 3,8$	
$n = 4$	

Dari perhitungan diatas, maka untuk 5 macam kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan minimal 4 kali dalam setiap kelompok perlakuan sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini sedang dalam proses untuk mendapatkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan eksperimental yang digunakan adalah rancangan eksperimen sederhana dimana subyek dibagi menjadi 5 kelompok secara acak. Setiap kelompok hewan coba terdiri dari masing-masing 4 ekor hewan coba..

4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah

Variabel bebas : Air perasan bawang putih (*Alium Sativum*l),
Rhodamin B

Variabel tergantung : Kadar MDA dan Histopatologi hepar

Variabel kendali : tikus putih (*Rattus norvegicus*), jenis kelamin,
berat badan, umur tikus, kondisi eksperimental.

4.5 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar umur 8-12 minggu dengan berat 180-200 gram, Rhodamin B, akuades, perasan air bawang putih, dan aluminium foil.

Alat yang digunakan adalah gelas ukur 500 ml dan 1000 ml, tabung scotch 1000ml, spatula, saringan, corong, nampan aluminium, bak plastik, timbangan digital, oven, kandang tikus, kandang sekat, spuit 3 ml, sonde, *disecting set*, glove, masker, oven, spektrofotometer UV Vis, plastik, sarung tangan, masker, refrigerator, pot sampel, kertas tisu, mikroskop elektron BX 51.

4.6 Tahapan Penelitian

Sebanyak 20 ekor tikus yang dibagi menjadi lima perlakuan dengan masing-masing 4 ekor tikus pada masing-masing kelompok perlakuan. Hewan coba diaklimatisasi dengan kondisi laboratorium selama 7 hari. Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok tikus, dengan uraian sebagai berikut : kelompok pertama sebagai kontrol negatif, yaitu diberikan pakan standar tanpa perlakuan (A), kelompok kedua sebagai kontrol positif yang diberi pakan mengandung Rhodamine B tanpa pemberian perasan Bawang putih (B), kelompok ketiga, keempat, dan kelima dipapar dengan Rhodamine B melalui pakan dan diberikan perasan Bawang putih berturut-turut sebanyak 0,5ml/200gBB (C), 1,0 ml/200gBB (D), dan 1,5 ml/200gBB perasan Bawang putih (E) selama 3 minggu. Tikus dikandangkan dalam bak plastik berukuran

17,5 X 23,75 X 17,5 cm dengan jumlah sesuai dengan jumlah tikus yang digunakan.

Tabel 4.1 Rancangan penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan			
	1	2	3	4
Aktivitas protease duodenum				
Kelompok A (kontrol negatif)				
Kelompok B (kontrol positif rhodamine B)				
Kelompok C (rhodamine B 600 ppm + 0,5 pengencer + 0,5ml perasan bawang putih/200 g BB)				
Kelompok D (rhodamine B600 ppm+ 1,0 pengencer + 1,0ml perasan bawang putih /200gBB)				
Kelompok E (rhodamine B600 ppm+ 1,5 pengencer + 1,5 ml perasan bawang putih /200gBB)				

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus diadaptasi pada lingkungan laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Malang selama 7 hari, hal ini dikarenakan tikus diperoleh dari daerah yang sama dengan tempat penelitian. Tikus didapatkan dari Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya. Tikus di letakkan pada kandang plastik berbentuk persegi empat yang diberikan sekat. Tujuan pemberian sekat pada masing-masing tikus ini adalah untuk memastikan setiap tikus mengkonsumsi makanan dengan porsi yang sama dan tidak berebut sehingga efek dari paparan rhodamin B pada setiap individu tikus dapat terlihat. Selama 7 hari masa adaptasi, tikus diberikan pakan standart dan air minum *adlibitum*. Tikus yang

digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan berumur 8-12 minggu dengan berat badan antara 180-200 gram. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini masih dalam proses untuk mendapatkan persetujuan dari Komisi Laik Etik Universitas Brawijaya.

4.6.2 Penentuan Dosis Rhodamin dan Perasan Air Bawang Putih

Volume Rhodamin B yang digunakan didasarkan pada hasil penelitian yang sebelumnya yang menyatakan bahwa paparan Rhodamin B pada pakan tikus dengan konsentrasi 600 ppm Rhodamin B menimbulkan efek toksik secara sistemik dan menimbulkan atrophy pada testis. Selain itu juga teramati gejala seperti sesak nafas, bengkak pada kaki dan inflamasi pada mata tikus (Krieger, 2001).

Dosis pemberian Perasan Air Bawang Putih didasarkan pada volume maksimal pemberian terapi secara oral berdasarkan Ernawati (2010) yaitu 5 ml/100 gram BB pada kelompok tikus. Sehingga volume perasan air bawang putih untuk tiga kelompok perlakuan yaitu kelompok perlakuan C,D dan E dipilih 0,5ml/200gramBB, 1ml/200gBB dan 1,5ml/200gBB. (ernawati, 2010)

4.6.3 Pembuatan Pakan Mengandung Rhodamin B

Kebutuhan pakan tikus setiap hari adalah 10 gr/ 200 gr BB, jadi setiap hari satu ekor tikus mendapat makan sebanyak 10 gr pakan induksi rhodamine. Untuk 16 ekor tikus yang diberikan Rhodamin B,

kebutuhan pakan setiap hari menjadi 160 gram dan kebutuhan pakan untuk 14 hari adalah 2.240 gram pakan. Rhodamine yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang berbentuk serbuk, berwarna merah bersih dan tidak berbau. Rhodamin B didapatkan dari Laboratorium Panadia Malang.

Pembuatan pakan yang mengandung rhodamin B dengan kadar 600 ppm, maka dibutuhkan 0,6 g rhodamin B yang dilarutkan dalam 1000 ml aquades kemudian dicampurkan kedalam 1 kg pakan. Pelarut aquadest diperlukan untuk memudahkan rhodamin meresap kedalam pakan sehingga diharapkan tercampur sempurna dalam pakan. Setelah pencampuran dikira cukup merata, pakan kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 12 jam.

4.6.4 Uji Konfirmasi Kandungan Rhodamin

Pengujian kandungan rhodamin B pada pakan tikus yang telah dibuat dilakukan menggunakan reagen Kit rhodamin produksi BioChem. Untuk perbandingan dosis rhodamine dalam pakan tikus, dibuat larutan standart rhodamin dengan dosis 0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm rhodamin. Masing-masing larutan standart rhodamin yang telah dibuat ditetaskan dalam wadah berwarna putih kira-kira 2 tetes. Pakan tikus yang mengandung rhodamin sebanyak 1,0 gram digerus dan ditempatkan pula pada wadah yang sama. Ditetaskan reagen 3 ml ke setiap sampel uji dan ditunggu kurang

lebih 5 menit atau sampai terlihat perbedaan warna. Semakin gelap warna yang ditampilkan, semakin tinggi pula konsentrasi rhodamine yang terkandung di dalamnya (Mahdi, 2014).

4.6.5 Pembuatan Perasan Air Bawang

Proses pembuatan perasan air bawang yaitu yang pertama kupas dahulu bawang putih tersebut sampai bersih. Setelah di kupas sampai bersih lalu bawang di potong menjadi bagian-bagian kecil. Setelah itu bawang putih di timbang. Setelah ditimbang di masukkan ke dalam mesin penggiling bawang. Setelah bawang tergilinding halus, bawang di tuangkan ke atas kain saring. Lalu bawang diperas menggunakan kain penyaring tersebut. Setelah itu air hasil perasan bawang di simpan di dalam tempat yang bersih dan di simpan di dalam lemari pendingin makanan.

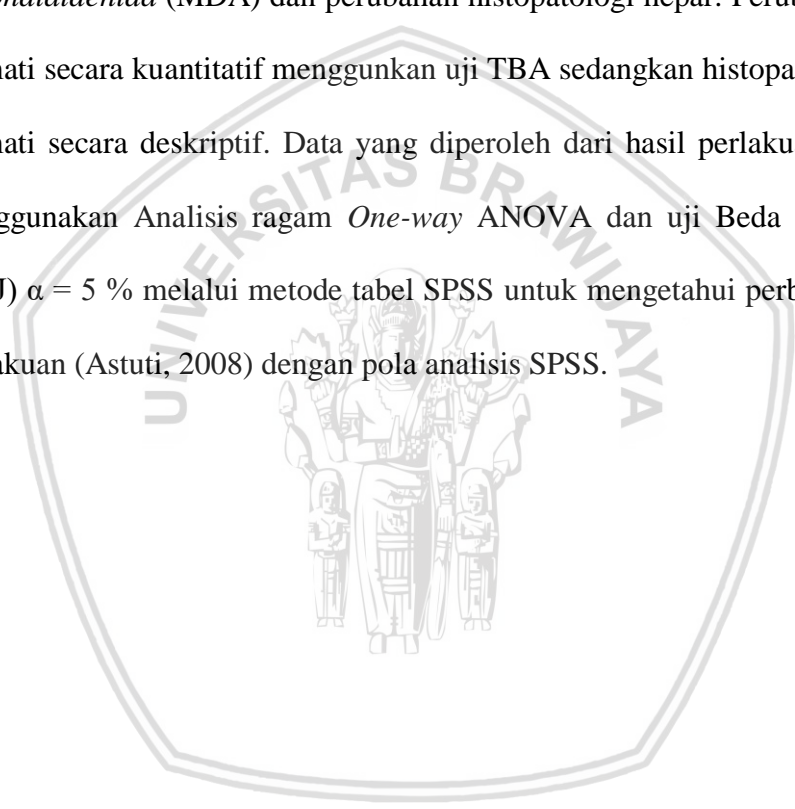
4.6.6 Pemberian Pakan Rhodamin dan Perasan Air bawang.

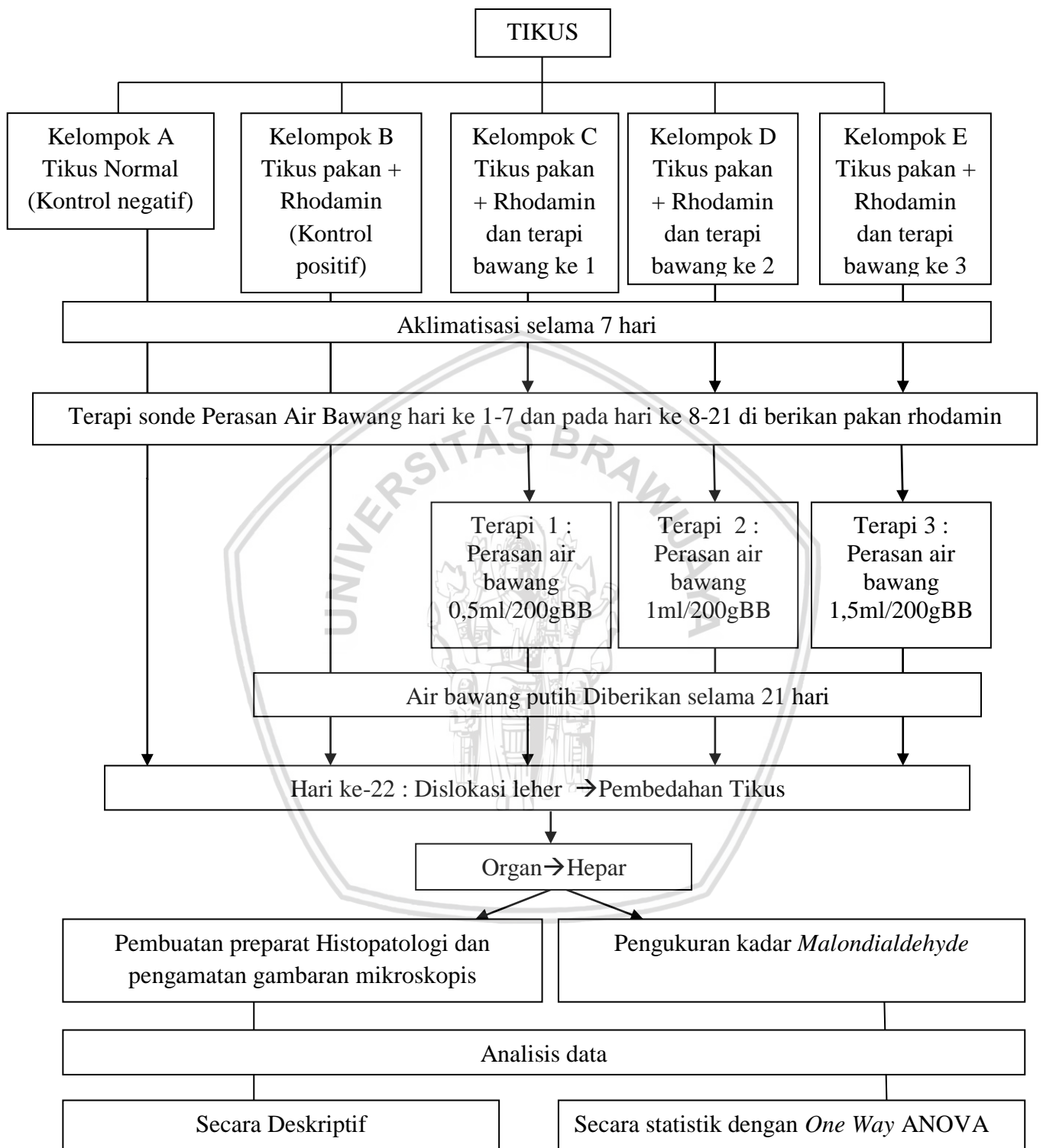
Pemberian pakan Rhodamin dilakukan selama 14 hari dan perasan air bawang putih dilakukan selama 21 hari. Pakan rhodamin diberikan setiap pagi hari setelah tikus di beri perasan air bawang putih. Perasan air bawang putih diberikan menggunakan sonde lambung dengan tujuan agar benar-benar masuk ke dalam tubuh tikus. Pada kelompok C diberikan 0,5ml/200grBB, kelompok D diberikan 1ml/200grBB, dan kelompok E diberikan 1,5ml/200grBB. Setelah diberikan perlakuan selama 21 hari, tikus dibedah, diambil organ hepar dan dilakukan

pengukuran kadar *Malondialdehida* pada jaringan hepar dan gambaran histopatologi hepar.

4.7 Analisis Data

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah perubahan kadar *malondialdehida* (MDA) dan perubahan histopatologi hepar. Perubahan MDA diamati secara kuantitatif menggunakan uji TBA sedangkan histopatologi hepar diamati secara deskriptif. Data yang diperoleh dari hasil perlakuan dianalisa menggunakan Analisis ragam *One-way* ANOVA dan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha = 5 \%$ melalui metode tabel SPSS untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Astuti, 2008) dengan pola analisis SPSS.





Gambar 4.1 Kerangka Operasional Rancangan Penelitian

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Perasan Air Bawang Putih Kedelai terhadap Kadar (*Malondialdehyde*) MDA Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Boraks

Menurut Ince *et al.*, (2010) Rhodamine B dan turunannya dapat menginduksi terbentuknya senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menurunkan kinerja enzim antioksidan dalam tubuh seperti SOD, CAT, GPx, dan reduktase apabila terpapar dalam dosis yang tinggi. Peningkatan radikal bebas dan penurunan kinerja enzim antioksidan akan menyebabkan terjadi stress oksidatif. Stress oksidatif dalam tubuh dapat diketahui dengan pengukuran biomarker seperti malondialdehida (Arsana, 2014). Malondialdehida (MDA) merupakan hasil dari proses peroksidasi lipid akibat rusaknya membran sel oleh radikal bebas (Kaefer *et al.*, 2012). Perbaikan organ hepar tikus putih pada penelitian ini diamati dengan pengukuran kadar Malondialdehida. Menurunnya kadar MDA merupakan salah satu penanda perbaikan organ (Redon *et al.*, 2014).

Pengukuran kadar MDA pada organ hepar tikus putih yang telah dipapar boraks dengan dosis 11,300 ppm dan diberi kefir susu kedelai ditampilkan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Kadar *malondialdehyde* (MDA) hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Kadar MDA ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar MDA (%)	
		Peningkatan dari kontrol negatif	Penurunan dari kontrol positif
Kontrol Negatif (K-)	0,020 \pm 0.011 ^a	-	-
Kontrol Positif (K+)	0,062 \pm 0.095 ^b	210 %	-
Perasan air bawang putih dosis 0,5mL/200gBB (D1)	0,025 \pm 0.016 ^a	-	40%
Perasan air bawang putih dosis 1,0mL/200gBB (D2)	0,066 \pm 0.010 ^b	6 %	-
Perasan air bawang putih dosis 1,5mL/200gBB (D3)	0,301 \pm 0.004 ^b	30 %	-

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,01$).

Hasil analisa secara statistika menggunakan *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,01$) antara kadar MDA kontrol negatif dan kontrol positif. Pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan rata-rata kadar MDA hepar tikus jantan sebesar 210% dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol positif menunjukkan bahwa paparan rhodamine dengan dosis 600 ppm yang diberikan melalui pakan selama 21 hari dapat meningkatkan kadar MDA pada hepar tikus putih.

Perasan air bawang putih (*alium sativum*) dengan dosis 0,5mL/ 200gBB (D1), 1,0mL/ 200gBB (D2) dan 1,5mL/ 200gBB (D3) yang diberikan bersamaan dengan pemberian rhodamine b dapat menurunkan kadar MDA organ hepar tikus jika dibandingkan dengan kelompok kontrol

negatif (K-). Penurunan kadar MDA tersebut secara terjadi yaitu sebesar 40% pada D1, pada D2 mengalami peningkatan 6% dan pada D3 30% (**Tabel 5.1**). Secara statistika penurunan rata-rata kadar MDA kelompok D1 dengan kelompok kontrol positif (K+) tidak berbeda signifikan ($p>0,01$) sehingga mempunyai notasi yang sama. Kelompok perlakuan D2 dan kelompok D3 menunjukkan peningkatan rata-rata kadar MDA yang signifikan ($p<0,01$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K+) yaitu sebesar 6% dan 30%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian perasan air bawang putih sebanyak 1,5mL/ 100gBB merupakan dosis efektif dalam menurunkan rata-rata kadar MDA tikus yang dipapar 600 ppm rhodamine b jika dibandingkan dengan dosis lainnya.

Rata-rata kadar MDA pada kontrol negatif sebesar $0,020\pm 0,011$ $\mu\text{g/mL}$. Kadar MDA kelompok kontrol negatif merupakan standar yang dipergunakan untuk mengetahui adanya penurunan atau peningkatan kadar MDA yang terjadi pada kelompok kontrol positif, kelompok pemberian perasan air bawang putih 0,5mL/ 200gBB (D1), 1,0mL/ 200gBB (D2) dan 1,5mL/ 200gBB (D3). Kadar MDA merupakan indikator keberadaan radikal bebas yang diakibatkan karena proses peroksidasi lipid. Pada fisiologi normal, radikal bebas diproduksi oleh tubuh dalam jumlah kecil sebagai akibat dari berbagai proses metabolisme seperti proses oksidasi yang berlangsung selama respirasi sel. Radikal bebas diproduksi oleh beberapa komponen penyusun sel, seperti mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma dan nukleus (Pham-Huy *et al*, 2008). Sehingga rata-

rata kadar MDA kelompok kontrol negatif dikategorikan sebagai kadar MDA normal karena tikus pada kelompok kontrol negatif tidak mendapatkan perlakuan apapun (hanya diberikan pakan dan minum standar) dan rata-rata kadar MDA yang terbentuk merupakan hasil dari proses metabolisme.

Rata-rata kadar *malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol positif sebesar $0,062 \pm 0,095 \mu\text{g/mL}$ atau terjadi peningkatan rata-rata kadar MDA sebesar 210% dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Terjadinya peningkatan rata-rata kadar MDA pada kelompok kontrol positif ini dikarenakan paparan boraks peroral melalui pakan dengan dosis 600 ppm. Rhodamine B yang masuk dalam tubuh akan menginduksi pembentukan radikal bebas (ROS) tanpa disertai peningkatan jumlah antioksidan endogen sehingga terjadinya proses yang dikenal sebagai stres oksidatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian paparan boraks peroral sebesar 600 ppm dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif ditandai dengan peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kadar MDA tikus kontrol positif.

Menurut Krieger (2010), rhodamine b pada dosis 600 ppm dapat menyebabkan atrofi pada beberapa organ tikus dan juga anjing. Hal ini dapat terjadi karena rhodamine merupakan senyawa yang dapat menginduksi pembentukan ROS sehingga menurunkan kinerja enzim antioksidan dalam tubuh. Mekanisme boraks dalam tubuh menurut Priyanto (2011), rhodamine dapat membentuk radikal bebas eksogen jika masuk

kedalam saluran gastrointestinal tubuh dan mengiritasi mukosa gaster serta ileum, kemudian diabsorpsi masuk kedalam aliran darah, dimetabolisme dihati dan diekskresikan oleh ginjal melalui urin. Radikal bebas yang dibentuk oleh rhodamine b merupakan jenis radikal bebas hidroksil ($\bullet\text{OH}$). Radikal bebas yang tidak diimbangi dengan antioksidan dapat menyebabkan stress oksidatif yang dapat merusak sel, jaringan dan organ (Priyanto, 2011). Stres oksidatif yang terjadi dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid dengan hasil yaitu *Malondialdehyde*. Semakin tinggi radikal bebas yang masuk akan semakin meningkatkan terjadinya stres oksidatif dan kadar MDA yang teramati akan semakin tinggi (Arief, 2005). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan terjadinya peningkatan kadar MDA sebesar 210% pada kelompok kontrol positif.

Rata-rata kadar MDA pada tikus kelompok D1 adalah $0,025 \pm 0,016 \mu\text{g/mL}$. Secara statistika nilai tersebut tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif (K^+) yang ditunjukkan dengan notasi yang sama, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian perasan air bawangputih dengan dosis $0,5\text{mL}/200\text{gBB}$ belum mampu menurunkan kadar MDA pada tikus yang telah dipapar 600 ppm rhodamine b. Tingginya kadar MDA pada kelompok D1 disebabkan karena dosis perasan air bawang putih yang diberikan paling kecil sehingga dianggap memiliki daya antioksidan yang juga lebih rendah dan belum mampu untuk menetralsir

radikal bebas sebagai pemicu terjadinya peroksidasi lipid secara signifikan yang mengakibatkan kadar MDA dalam tubuh masih tinggi.

Kadar MDA rata-rata pada kelompok tikus D2 dan D3 adalah $0,066 \pm 0,010 \mu\text{g/mL}$ dan $0,081 \pm 0,013 \mu\text{g/mL}$. Kedua nilai tersebut berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif sehingga mempunyai notasi yang berbeda. Penurunan kadar MDA terbesar terdapat pada kelompok D3 yaitu sebesar 30%, namun rata-rata kadar MDA pada kelompok ini juga berbeda signifikan ($p < 0,01$) dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa pemberian perasan air bawang putih dengan dosis $1,5 \text{ mL} / 200 \text{ gBB}$ merupakan dosis efektif untuk menurunkan kadar MDA hepar tikus yang telah dipapar rhodamine b, walaupun masih belum dapat mengembalikan kadar MDA hepar tikus seperti semula sebelum dipapar rhodamine.

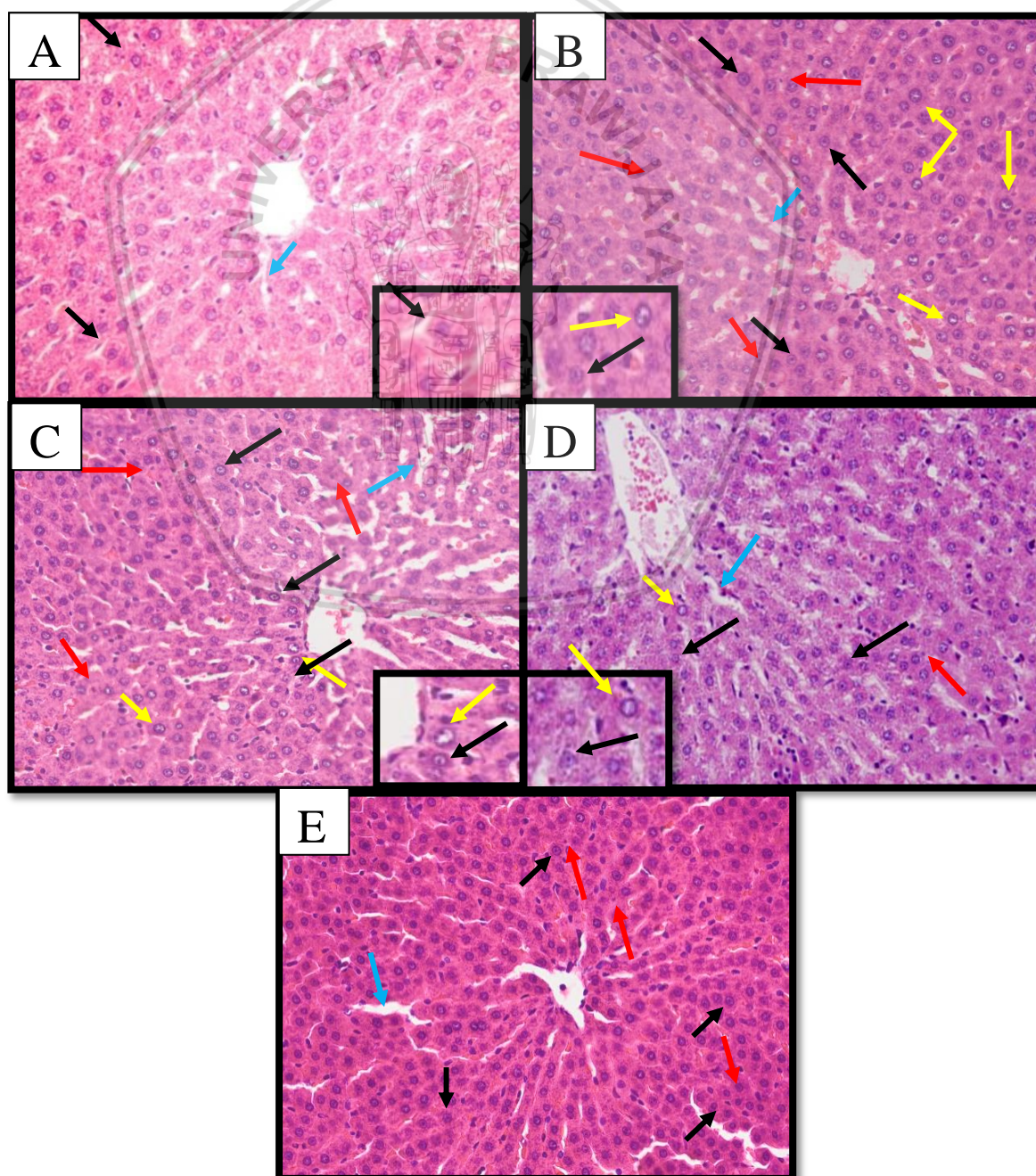
Penurunan rata-rata kadar MDA pada kelompok dengan penambahan perasan airbawang putih dosis $1,5 \text{ mL} / 200 \text{ gBB}$ adalah yang paling efektif dari dosis yang lain karena dianggap mempunyai antioksidan yang paling tinggi. Pemberian perasan air bawang putih sebagai antioksidan eksogen ini terbukti dapat meminimalisir terjadinya stres oksidatif yang ditandai dengan penurunan kadar MDA karena terhalangnya proses peroksidasi lipid. Hal ini disebabkan karena pemicu terjadinya stres oksidatif adalah tidak adanya keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Tingginya radikal bebas yang tidak dapat dinetralisir oleh antioksidan endogen, akan dinetralisir oleh antioksidan golongan isoflapon yang dikandung dalam perasan air bawang putih seperti daidzein dan genistein. Perasan air

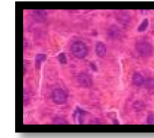
bawangputih sebagai antioksidan dapat menangkap radikal hidroksil dan radikal superoksida kemudian menetralkan radikal bebas sehingga melindungi sel dan mempertahankan keutuhan struktur sel dan jaringan serta dapat melindungi membran lipid. Radikal bebas dalam tubuh akan dengan mudah berikatan dengan protein, DNA, dan juga lipid di sekitarnya. Membran sel hepar sebagian besar terdiri dari PUFA (*polyunsaturated fatty acid*), sehingga dapat dengan mudah berikatan dengan radikal bebas yang masuk dalam tubuh. Hasil dari ikatan antara radikal bebas dengan lipid ini akan menghasilkan suatu senyawa aldehyd yaitu malondialdehid. Antioksidan dari perasan air bawang putih mampu menghalangi reaksi ikatan antara radikal bebas dengan PUFA membrane sel hepar sehingga meminimalisir terjadinya peroksidasi lipid. Menurut Nijveldt *et al.*, (2001) peran isoflavon sebagai antioksidan dapat berlangsung melalui dua mekanisme yaitu kemampuan sebagai donor ion hidrogen dan *scavenger* radikal bebas secara langsung. Radikal hidroksil (*OH) yang terbentuk karena masuknya rhodamine b kedalam tubuh akan ditangkap oleh aglikon isoflavon dari air bawang putih dan diregenerasi menjadi H₂O. Senyawa hasil regenerasi radikal hidroksil ini mempunyai sifat yang lebih stabil. Pada kelompok pemberian air bawang putih 0,5mL/200gBB dan 1,0mL/200gBB kurang efektif dalam menurunkan kadar MDA hepar tikus karena kandungan antioksidan yang dirasa kurang untuk menstabilkan tingginya radikal bebas yang masuk dalam tubuh karena paparan rhodamine. Sedangkan pada pemberian perasan air bawang putih dosis 1,5mL/ 200gBB

merupakan dosis efektif karena terjadi penurunan kadar MDA yang lebih besar walaupun masih belum dapat mengembalikan kadar MDA hepar tikus seperti pada kontrol negatif.

5.2 Pengaruh Perasan Air Bawang Putih terhadap Gambaran Histopatologi

Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Rhodamine B





Gambar 5.1 Histopatologi hepar dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE), (Perbesaran 400X).

Keterangan : A: Kontrol negatif, B: Kontrol positif rhodamine b, C: rhodamine b dan air bawang putih 0,5mL/ 200gBB, D: rhodamine b dan air bawang putih 1mL/ 200gBB, E: rhodamine b dan air bawang putih 1,5mL/ 200gBB
 (➡): sel normal, (➡): sinusoid, (➡): sel nekrosis, (➡): degenerasi lemak. Insert menunjukkan gambaran sel hepatosit yang diperbesar.

Gambaran histopatologi hepar secara normal terdiri dari bagian hepar yang disebut lobulus dimana dipisahkan oleh jaringan ikat dan pembuluh darah. Pembuluh darah pada hepar terdapat pada sudut-sudut lobulus, yang akhirnya membentuk bangunan yang disebut area portal. Pada area portal dapat ditemukan cabang arteri hepatica, cabang vena porta, dan duktus biliaris. Struktur dari lobulus hepar pada potongan melintang akan terlihat sebagai struktur yang berderet, dengan pusatnya vena sentralis, dan dipisahkan oleh sebuah celah atau sinusoid hepar. Pada gambaran mikroskopik, di sinusoid hepar terdapat sel makrofag yaitu sel kupffer. Sel ini mempunyai fungsi untuk mefagosit eritrosit tua, hemoglobin dan mensekresi sitokin, selain itu dapat ditemukan juga sel parenkim hepar atau yang biasa disebut hepatosit. Sel hepatosit berbentuk polyhedral dengan 6 permukaan atau lebih, memiliki batas yang jelas dan memiliki inti yang bulat di tengah. Gambaran histopatologi hepar ini dapat digunakan sebagai acuan keberhasilan dari suatu terapi atau perlakuan yang diberikan kepada hewan coba.

Kerusakan sel-sel hepar yang disebabkan oleh bahan toksik umumnya meliputi partisipasi metabolit terhadap bahan toksik, selanjutnya

akan mendatangkan respon imun dan dapat mempengaruhi biokimia sel. Terjadinya nekrosis sel hepar diketahui dengan adanya perubahan pada sitoplasma dan inti selnya, ini dapat diamati melalui gambaran dari histopatologi sel hepar (Kaplowitz, 2002).

Gambaran histopatologi hepar dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (**Gambar 5.1**) pada kelompok tikus kontrol negatif menunjukkan inti sel hepar yang berwarna ungu dan sitoplasma sel berwarna merah muda serta batas pada inti sel dan membran sel terlihat jelas menunjukkan kondisi normal sel hepatosit (**Gambar 5.1A**), dibandingkan pada kelompok tikus kontrol positif (**Gambar 5.1B**) dapat teramati kerusakan sel hepar yang ditandai dengan terjadinya degenerasi dan nekrosis inti sel. Degenerasi dan nekrosis yang terjadi pada **Gambar 5.1B** adalah degenerasi perlemakan dan nekrosis piknotik. Degenerasi perlemakan ini ditandai dengan adanya penimbunan lemak. Timbunan lemak akan memenuhi sitoplasma dan mendesak inti kebagian perifer sel (Sulistiano dkk, 2004). Menurut Alberts *et al.* (2002), menerangkan bahwa ciri dari sel yang mengalami degenerasi berlemak pada hepar yaitu, tertimbunnya lemak dalam sitoplasma yang mengakibatkan sitoplasma membesar dan mendesak inti kebagian perifer. Hal ini disebabkan karena ketidakmampuan jaringan dalam memetabolisme lemak. Sedangkan nekrosis piknotik dapat teramati dengan inti sel yang menyusut atau lebih kecil dan padat serta batas yang tidak teratur. Nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi akibat kerusakan berat yang ditandai oleh kerusakan struktural seluler secara menyeluruh yang diikuti dengan

lisisnya sel dan peradangan pada jaringan. Kematian sel biasanya paling jelas ditunjukkan pada perubahan dari inti sel. Menurut Puspawati (2009), selain nekrosis dalam bentuk piknotik, ada kemungkinan inti sel hancur dan meninggalkan pecahan zat kromatin yang tersebar dalam sel yang disebut dengan nekrosis karioreksis. Hal ini menyebabkan sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan proses ini dikenal dengan kariolisis. Berdasarkan lokasi terjadinya nekrosis, nekrosis pada kelompok positif rhodamine b (600 ppm) adalah nekrosis multifokal, yaitu nekrosis pada hepar yang menyebar diberbagai lokasi atau lobulus, sedangkan berdasarkan bentuk nekrosis yaitu nekrosis koagulatif. Menurut Pringgoutomo (2002) menerangkan bahwa, gambaran mikroskopis pada sel yang mengalami nekrosis koagulatif ditandai dengan inti-inti yang tampak piknotik.

Gambar 5.1C, Gambar 5.1D, dan Gambar 5.1E adalah gambaran histopatologi hepar tikus yang diberikan perasan air bawang putih dengan dosis yang berbeda yaitu 0,5mL/ 200gBB, 1mL/ 200gBB, dan 1,5mL/ 200gBB. Pada kelompok terapi 0,5mL/ 200gBB dan 1mL/ 200gBB masih dapat teramati adanya degenerasi lemak dan nekrosis walaupun tidak sebanyak pada kontrol positif. Dosis perasan air bawang putih sebanyak 1mL/ 200gBB terbukti lebih mampu dalam memperbaiki kerusakan sel hepar dari pada dosis 0,5mL/ 200gBB dengan berkurangnya degenerasi lemak dan juga nekrosis. Pada dosis 1mL/ 200gBB juga terdapat banyak sel hepatosit normal yang terlihat, dimana batas antara membran sel yang terlihat jelas, inti sel berada diengah, dan masuknya zat warna pada

sitoplasma, namun juga masih banyak ditemukan sel yang mengalami degenerasi lemak dan inti yang mengalami nekrosis piknotik yang menyebar pada lobulus hepar. Hal ini dimungkinkan karena antioksidan pada perasan air bawang putih yaitu isoflavon belum mampu mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada membrane sel yang disebabkan oleh radikal bebas dari rhodamine, sehingga masih banyak ditemukan kerusakan pada sel.

Gambar 5.1E adalah dosis perasan air bawang putih tertinggi yang diberikan yaitu 1,5mL/ 200gBB.

Degenerasi lemak dapat terjadi disebabkan oleh kegagalan transport trigliserida dari sel hepatosit yang disebabkan penurunan sintesis apolipoprotein, kegagalan pengikatan trigliserida oleh karier apoprotein dan kegagalan transport lipoprotein melewati membran sel (Sativa, 2009). Kerusakan sintesis protein ini disebabkan karena aktivitas radikal bebas karena pemberian boraks 600 ppm. Boraks yang masuk dalam tubuh menyebabkan meningkatnya jumlah radikal bebas (*OH), radikal bebas berikatan dengan membran sel hepar yang kaya akan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) dan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid. Akibat dari peroksidasi lipid ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang dapat merusak membrane sel dan juga organel didalamnya (Grattagliano *et al.*, 2009). Salah satu organel sel yang akan terganggu adalah REK sehingga tugasnya untuk mensintesis protein akan terganggu (Wu *and* Cederbaum, 2003). Jika sintesis protein terganggu, lemak yang ada dalam hati tidak dapat berikatan dengan karier apoprotein untuk diangkut

keluar hati. Akumulasi lemak dalam hati berlangsung terus menerus sehingga terjadi degenerasi lemak (Mulyani, 1997).

Pada terapi perasan air bawang putih dengan dosis tertinggi yaitu 1,5mL/ 200gBB, masih terlihat adanya nekrosis pada sel hepatosit namun sudah tidak teramati adanya sel yang mengalami degenerasi lemak. Sel hepatosit normal juga banyak teramati pada terapi dosis ini. Terlihat sel-sel hepatosit yang memiliki batas membran sel yang jelas dan inti sel yang utuh ditengah serta tersebar merata di dalam lobulus hepar. Pertahanan bentuk sel hepar diakibatkan kandungan isoflavon golongan aglukan pada kefir susu kedelai mampu menyumbangkan satu atom hidrogen (H^+) sehingga ikatan ion radikal bebas lengkap dan menyebabkan sifat radikal bebas menjadi kurang reaktif, sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak (Shah, 2007). Apabila radikal bebas menjadi stabil maka akan menyebabkan berkurangnya terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel dimana kerusakan membran sel dapat di tekan. Apabila kerusakan membrane sel dapat diminimalisir, maka kerusakan organel sel tidak akan terjadi sehingga bentuk sel dapat dipertahankan.

BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian perasan air bawang putih dapat menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi rhodamine b melalui pakan dengan dosis efektif pemberian perasan air bawang putih 0,5mL/ 200gBB.
2. Pemberian perasan air bawang putih dapat memperbaiki histopatologi hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi rhodamine b melalui pakan dengan dosis efektif pemberian perasan air bawang putih 0,5mL/ 100gBB dilihat dari berkurangnya degenerasi lemak dan nekrosis pada hepatosit.

6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas perasan air bawang putih sebagai antioksidan.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek Rhodamine B pada organ lain dalam tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Budianto, E.P. 2008. Analisis rhodamin B dalam saos dan cabe giling di pasar kecamatan laweyan kotamadya Surakarta dengan metode kromatografi lapis tipis. [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2012. *Bahaya Penggunaan Rhodamine B sebagai Pewarna Makanan*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- Endi Ridwan. 2103. *Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam penelitian Kesehatan*. J Indon Med Assoc, Volum:63, Nomor:3
- Hernawan, U.E. dan Setyawan, A.D. 2003. REVIEW : Senyawa Organosulfur bawang Putih (*Allium sativum L.*) dan Aktivitasnya Biologinya. *Biofarmasi* 1(2): 65-76.
- Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. 1998. Histologi dasar. Terjemahan Jan Tambayong. Edisi 8. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm 236-237.
- Kim, M.Y., S.W. Choi, and S. K. Chung. 2002. Antioxidative flavonoids from the garlic (*Allium sativum L.*) shoot. *Food Science and Biotechnology* 9 (4): 199-203.
- Kirana W A P . 2009. *Pemeriksaan Penyalahgunaan Rhodamin B sebagai pewarna pada sediaan lipstik yang beredar di pasar Kota Medan*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara . Medan
- Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami : Penangkal Radikal Bebas, Sumber, manfaat, dan Cara Penyediaan. Cetakan Pertama. *Trubus Agrisana*.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Cetakan pertama. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Lawrence, R. and K. Lawrence. 2011. Antioxidant activity of garlic essential oil (*Allium Sativum*) grown in north Indian plains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2011)1-3.
- Lee, J., N. Koo, and D.B. Min. 2004. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Compre Rev. in Food Sci. and Food Safety* 3: 21-33.
- Lee, M.S. 2006. Matrix-Degrading Type II Transmembrane Serine Protease Matriptase : Its Role in Cancer Development and Malignancy. *J. Cancer Mol.* 2(5): 183-190.

- Mahdi, C. 2013. Alat Pendeteksi Cepat Kandungan Formalin, Boraks, dan Rhodamin pada Makanan Hasil Penemuan Dosen Universitas Brawijaya yang Diproduksi Oleh Laboratorium *BioChem*. VOK@SINDO 1(1): 49-52.
- Mayori, R., N. Marusin dan D.H. Tjong. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus L.*). *J Bio UA*.2(1):43-49
- Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, dan V.W. Rodwell. 2001. Biokimia Harper. Edisi 25. EGC. Jakarta. 635
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2004. *Keamanan, Mutu Dan Gizi Pangan*
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1168/Menkes/Per/X/1999 Tentang *Bahan Tambahan Makanan*
- Pratiwi, A.D., Aulanni'am dan Sutrisno. 2013. Aktivitas Protease dan Profil Protein pada Hepar Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Pasca Induksi *Cylosporine-A*. *Kimia Student Journal*. 1(1):105-111.
- Priskila, M. 2008. *Pengaruh pemberian ekstrak bawang putih (Allium sativum) terhadap rasio antara kolesterol total dengan kolesterol HDL pada tikus putih (Rattus novergicus) yang hiperkolesterolemik*. Skripsi. Universitas sebelas Maret Surakarta
- Punama, M.T.E., N.M.R. Widjaya, dan H. Plumeriastuti. 2013. Pengaruh Boraks terhadap Gambaran Histopatologi Duodenum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Veterinaria medika* 6(2).
- Santoso, H.B. 2000. *Bawang Putih*. Edisi ke-12. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Sumarni. 2011. *Pengaruh inhibitor logam Pb, rhodamin B, Natrium siklamat dan Kodein terhadap aktivitas enzim papain [skripsi]*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Syarif Hidayatullah.
- Suryohudoyo, P. 2000. *Ilmu Kedokteran Molekuler*. CV Sagang Selo. Cetakan pertama.31-47.
- Syamsiah, I.S dan Tajudin, 2003. *Khasiat & Manfaat Bawang Putih*. AgroMedia Pustaka, Jakarta.

- Trestianti, Mela. 2003. Analisis Rhodamin B pada Makanan dan Minuman Jajanan Anak SD (Studi Kasus : Sekolah Dasar di Kecamatan Margaasih Kabupaten Bandung). Tesis. Pascasarjana Fakultas Kesehatan Lingkungan. Bandung.
- Utami W dan Andi S. 2009. *Jurnal penelitian Sains & teknologi, Vol. 10, No.2 Analisis Rhodamine B dengan Metode kromotografi Lapis tipis*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.Surakarta.
- Yamlean, P. V. Y. 2011. Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Jajanan Kue Berwarna Merah Muda yang Beredar di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains* Vol. 11 No. 2, Oktober 2011.
- Yuhua, W.F.D, Eddy S. 2001. Buku Pintar : *Terapi Jahe Dan Bawang Putih*. Taramedia & Restu Agung. Jakarta

