

**PENGARUH PEMBERIAN BAWANG HITAM TERHADAP KADAR MDA
SERUM PADA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS* STRAIN WISTAR)**

JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK DAN FRUKTOSA

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Ilmu Gizi



Oleh:

Regina Safitri Permatasari

145070307111019

PROGRAM STUDI ILMU GIZI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

HALAMAN PENGESAHAN

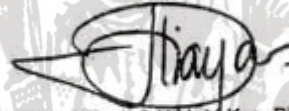
TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN BAWANG HITAM TERHADAP KADAR MDA
SERUM PADA TIKUS PUTIH (*RATTUS NORVEGICUS STRAIN WISTAR*)
JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK DAN FRUKTOSA

Oleh :

Regina Safitri Permatasari
145070307111019

Telah diuji pada
Hari : Rabu
Tanggal : 4 Juli 2018
dan dinyatakan lulus oleh :
Penguji I



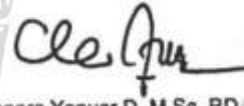
Dian Hendayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D
NIP. 197404022003122002

Pembimbing I/ Penguji II,



Kenthi Permainings T., S.Gz MPH
NIK. 2012018511032001

Pembimbing II/ Penguji III,



Cleonara Yanuar D., M.Sc., RD
NIP. 2011068701202001

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Gizi



Dian Hendayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D
NIP. 197404022003122002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Regina Safitri Permatasari

NIM : 145070307111019

Program Studi : Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 04 Juli 2018

Yang memberi pernyataan,

(Regina Safitri Permatasari)

145070307111019

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Bawang Hitam terhadap Kadar MDA serum pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) Jantan yang Diberi Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari karena penyakit degeneratif seperti dislipidemia, diabetes mellitus, penyakit jantung koroner dapat terjadi disebabkan oleh asupan tinggi lemak dan fruktosa yang memang masih meningkat pada masyarakat. Selain itu, penulisan Tugas Akhir ini dilakukan juga untuk memenuhi syarat mencapai gelar Sarjana Gizi di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penulis menyadari bahwa proses penulisan Tugas Akhir ini sangatlah sulit dilakukan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. dr. Sri Andarini, M. Kes, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D.,, sebagai Ketua Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Ketua tim penguji ujian Tugas Akhir, yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan telah memberikan masukan untuk menyempurnakan naskah Tugas Akhir.
3. Kanthi Permaningtyas Tritisari, S.Gz. MPH, sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan dan menyediakan waktu, bantuan, bimbingan dan

motivasi pada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

4. Cleonara Yanuar Dini, M.Sc, RD, sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bantuan dan membimbing dengan sabar untuk bisa menulis dengan baik dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

5. Teristimewa kepada Orang Tua penulis yang selalu mendoakan, memberikan motivasi dan pengorbanannya baik dari segi moril, materi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.

6. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 09 Juni 2017

Penulis

ABSTRAK

Permatasari, Regina, Safitri. 2018. *Pengaruh Pemberian Bawang Hitam Terhadap Kadar Mda Serum Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus Strain Wistar) Jantan Yang Diberi Diet Tinggi Lemak Dan Fruktosa*. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Kanthi Permaningtyas T, S.Gz.MPH (2) Cleonara Yanuar D, M.Sc.,RD

Salah satu karakteristik sindrom metabolik adalah dislipidemia. Dislipidemia mengakibatkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang dapat menghasilkan senyawa *malondialdehid* (MDA). Kandungan *s-allylsysteine*, polifenol dan flavonoid pada bawang hitam dapat menekan peroksidasi lipid sehingga dapat mencegah kadar MDA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa. Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dengan rancangan *post test control group design*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok, kelompok negatif (K1) diberi diet normal + aquades, kelompok positif (K2) diberi diet normal + sonde DTLF + aquades, kelompok P1 diberi diet normal + sonde DTLF + sonde bawang hitam dosis 240 mg, kelompok P2 diberi diet normal + sonde DTLF + sonde bawang hitam dosis 480 mg serta kelompok P3 diberi diet normal + sonde DTLF + sonde bawang hitam dosis 960 mg. Kadar MDA serum diukur menggunakan metode *thiobarbituric acid- reactive substance* (TBARS). Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji *One-Way ANOVA*, kelompok K1 $288 \pm 12,82$ ng/mL, K2 $314 \pm 18,62$ ng/mL, P1($323 \pm 25,51$ ng/mL, P2 $313 \pm 24,41$ ng/mL, P3 $331 \pm 38,36$ ng/mL dengan nilai $p=0,120$ ($p<0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini, dosis bawang putih hitam selama 14 hari belum mampu mencegah peningkatan kadar MDA serum.

Kata Kunci : bawang hitam, kadar MDA serum, diet tinggi lemak dan fruktosa*

ABSTRACT

Permatasari, Regina, Safitri. 2018. *The Effect Of Black Garlic On MDA Levels Of White Rats (Rattus Norvegicus Strain Wistar) Males Fed With High Fat And Fructose Diet*. Final Assignment, Nutrition Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Kanthi Permaningtyas T, S.Gz.MPH (2) Cleonara Yanuar D, M.Sc.,RD

One of the characteristics of metabolic syndrome is dyslipidemia. Dyslipidemia results in a lipid peroxidation process that can produce MDA compounds. The content of s-allylcysteine, polyphenols and flavonoids in black garlic can suppress lipid peroxidation so as to prevent MDA levels. The purpose of this study was to determine the effect of black garlic on MDA levels in white rats (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) males fed with high fat and fructose diet. This study was a true experimental study with post test control group design. This study used 25 rats divided into 5 groups, negative group (K1) fed with normal diet + aquades feeding tube, positive group (K2) fed with normal diet + HFFD feeding tube + aquades feeding tube, P1 group fed with normal diet + HFFD feeding tube + black garlic feeding tube dose 240 mg, P2 group fed with normal diet + HFFD feeding tube + black garlic feeding tube dose 480 mg and group P3 fed with normal diet + HFFD feeding tube + black garlic feeding tube dose 960 mg. Serum MDA levels were measured using thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) method. Based on data analysis using One-Way ANOVA test, K1 group was 288 ± 12.82 ng / mL, K2 314 ± 18.62 ng / mL, P1 323 ± 25.51 ng / mL, P2 313 ± 24.41 ng / mL, P3 $331 \pm 38,36$ ng / mL. In conclusion, dosing of black garlic for 14 days has not been able to prevent elevated MDA serum levels.

Keywords: black garlic, MDA, high fat and fructose diet (HFFD)

DAFTAR ISI

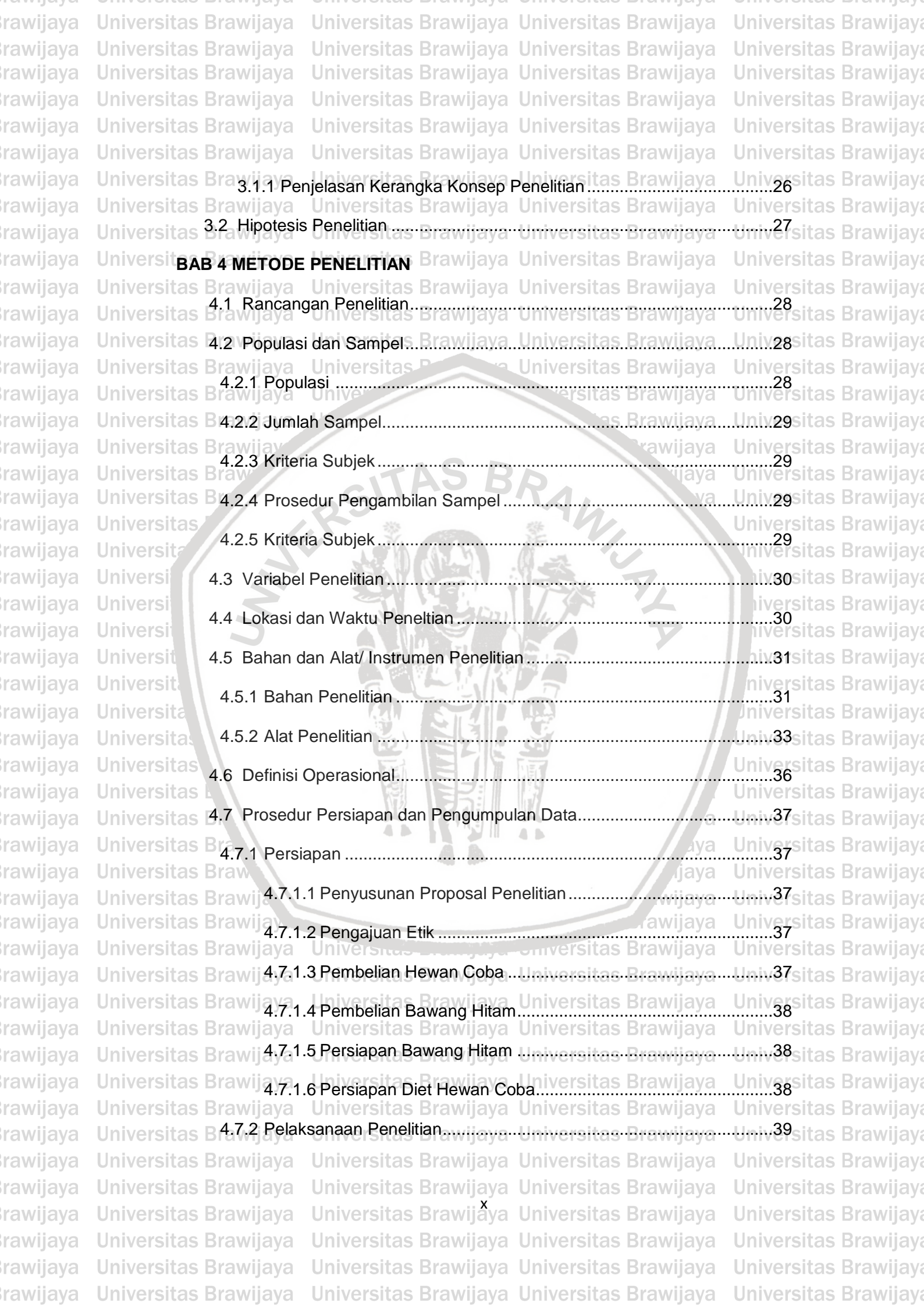
Halaman

Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik.....	5
1.4.2 Manfaat Untuk Masyarakat.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sindrom Metabolik.....	6

2.1.1 Etiologi.....	7
2.1.2 Patofisiologi.....	8
2.1.2.1 Intoleransi Insulin dan Intoleransi Glukosa.....	8
2.1.2.2 Obesitas	9
2.1.2.3 Hipertensi	9
2.1.2.4 Penyakit Jantung Koroner.....	10
2.1.2.5 Dislipidemia	11
2.1.2.6 Diabetes Mellitus Tipe 2.....	12
2.1.3 Faktor yang Mempengaruhi Sindrom Metabolik	12
2.1.3.1 Gaya Hidup	12
2.1.3.2 Aktifitas Fisik	12
2.1.3.3 Pola Makan	13
2.2 Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa terhadap Sindrom Metabolik	13
2.3 Dislipidemia.....	14
2.4 Radikal Bebas.....	15
2.4.1 Jenis-jenis Radikal Bebas	15
2.4.2 Target Kerusakan Radikal Bebas	16
2.5 Peroksidasi Lipid.....	16
2.6 Malondialdehid.....	18
2.7 Antioksidan	20
2.8 Bawang Hitam.....	21
2.8.1 Mekanisme Bawang Hitam terhadap Kadar MDA	23

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep.....	25
--------------------------	----



3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian26

3.2 Hipotesis Penelitian27

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian.....28

4.2 Populasi dan Sampel.....28

4.2.1 Populasi28

4.2.2 Jumlah Sampel.....29

4.2.3 Kriteria Subjek29

4.2.4 Prosedur Pengambilan Sampel29

4.2.5 Kriteria Subjek29

4.3 Variabel Penelitian30

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian30

4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian31

4.5.1 Bahan Penelitian31

4.5.2 Alat Penelitian33

4.6 Definisi Operasional.....36

4.7 Prosedur Persiapan dan Pengumpulan Data.....37

4.7.1 Persiapan37

4.7.1.1 Penyusunan Proposal Penelitian37

4.7.1.2 Pengajuan Etik37

4.7.1.3 Pembelian Hewan Coba37

4.7.1.4 Pembelian Bawang Hitam.....38

4.7.1.5 Persiapan Bawang Hitam38

4.7.1.6 Persiapan Diet Hewan Coba.....38

4.7.2 Pelaksanaan Penelitian.....39

4.7.2.1	Adaptasi Hewan Coba	39
4.7.2.2	Randomisasi Hewan Coba	40
4.7.2.3	Pemberian Diet dan Bawang Hitam.....	41
4.7.2.4	Alur Pelaksanaan Penelitian.....	43
4.7.2.5	Pembiusan Hewan Coba	44
4.7.2.6	Pembedahan Tikus	44
4.7.2.7	Pembedahan dan Pengambilan Serum.....	45
4.7.2.8	Pengukuran Kadar MDA.....	46
4.7.2.9	Perlakuan Terakhir pada Tikus.....	46
4.8	Pengumpulan Data.....	47
4.9	Analisis Data.....	47
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA		
5.1	Karakteristik Sampel.....	49
5.2	Asupan Pakan Tikus dan Zat Gizi Tikus	51
5.3	Kadar MDA Serum.....	55
BAB 6 PEMBAHASAN		
6.1	Karakteristik Sampel.....	58
6.2	Pengaruh Pemberian DTLF dan Bawang Hitam Terhadap BB.....	59
6.3	Pengaruh DTLF dan Bawang Hitam Terhadap MDA Serum.....	61
6.4	Implikasi di Bidang Gizi.....	64
6.5	Keterbatasan Penelitian.....	65
BAB 7 PENUTUP		
7.1	Kesimpulan.....	66
7.2	Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....		68



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosa Sinrom Metabolik	7
Tabel 2.2 Kandungan Zat Gizi	21
Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal Persaji (40 gram)	31
Tabel 4.2 Kandungan Gizi Diet Normal Persaji (40 gram)	31
Tabel 4.3 Kandungan Gizi Diet Tinggi Lemak dan Fuktosa (4 ml)	32
Tabel 5.1 Karakteristik Tikus	49
Tabel 5.2 Rata-Rata Berat Badan Tikus Selama Penelitian	50
Tabel 5.3 Rata-Rata Asupan Pakan Normal	51
Tabel 5.4 Rata-Rata Asupan Sonde DTLF	52
Tabel 5.5 Rata-Rata Kadar MDA	56

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Proses Perubahan Bawang Hitam	22
Gambar 2.2 Mekanisme Bawang Hitam Terhadap Kadar MDA	24
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	25
Gambar 4.1 Alur Pelaksanaan Penelitian	43
Gambar 4.2 Pembedahan dan Pengambilan Serum	45
Gambar 5.1 Rata-rata Asupan Energi Tikus	53
Gambar 5.2 Rata-rata Asupan Lemak Tikus	54
Gambar 5.3 Rata-rata Asupan Karbohidrat Tikus	55
Gambar 5.4 Rata-rata Kadar MDA Serum	56

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Teknik Randomisasi Sampel.....	75
Lampiran 2. Alur Pembuatan Diet Normal PARS.....	76
Lampiran 3. Alur Pembuatan Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa.....	77
Lampiran 4. Alur Persiapan Bawang Hitam.....	78
Lampiran 5. Bahan Pembuatan Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa.....	79
Lampiran 6. Bahan-Bahan Pembuatan Bawang Hitam.....	80
Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan Selama Penelitian.....	81
Lampiran 8. Hasil Penimbangan Berat Badan Tikus Selama Penelitian.....	85
Lampiran 9. Asupan Pakan Tikus Selama Penelitian.....	86
Lampiran 10. Prosedur Pembedahan Tikus.....	89
Lampiran 11. Hasil Analisis Statistik Berat Badan.....	90
Lampiran 12. Hasil Analisis Statistik Asupan Pakan PARS.....	93
Lampiran 13. Hasil Analisis Statistik Asupan Pakan DTLF.....	96
Lampiran 14. Hasil Analisis Statistik Total Asupan PARS & DTLF.....	100
Lampiran 15. Hasil Analisis Kadar MDA.....	110
Lampiran 16. Pernyataan Keaslian Tulisan.....	113
Lampiran 17. Pernyataan Kelaiakan Etik Penelitian.....	114

DAFTAR SINGKATAN



ARE	= Antioxidant Response Element
AT1	= Angiotensinogen 1
BHT	= Butylated hydroxytoluene
CAT	= Katalase
DM	= Diabetes Mellitus
DTLF	= Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa
GD	= Gula Darah
GDPT	= Glukosa Darah Puasa Terganggu
Gpx	= Gluathione peroksidase
HCL	= Hidrogen Klorida
HDL	= High Density Lipoprotein
HDL-C	= Kolesterol HDL
HFCS	= High Fructose Corn Syrup
HFFD	= High Fat and High Fructose
HPLC	= High Performance Liquid Chromography
H ₂ S	= Hidrogen Sulfur
H ₂ O ₂	= Hydrogen Peroksida
HNO ₂	= Asam Nitrit
IDF	= International Diabetes Federation
IMT	= Indeks Masa Tubuh
LDL	= Low Density Lipoprotein
MDA	= Malondialdehid
NADPH	= Nikotinamida Adenin Dinukleotida Fosfat
NCEP ATP III	= National Cholesterol Education Program
NO	= Nitric Oxide

N_2O_4	= Nitrogen tetroksida
Nrf2	= Protein nuclear factor erythroid-2 related factor 2
NQO1	= kuinon oksidoreduktase 1
O_2	= Superoksida anion
O_3	= Ozon
OH	= Hidroksil
ONOO	= Peroksinitrit
PI	= Phosphatidylinositol
PUFA	= Polyunsaturated fatty acid
RAS	= Renin-Angiotensin System
RISKESDAS	= Riset Kesehatan Dasar
RNS	= Reactive Nitrogen Spesies
RO	= Alkoksil
RO_2	= Peroksil
ROS	= Reactive Oxidant Species
SAC	= S-allylcysteine
SOD	= Superoksida Dismutase
TBARS	= Thiobarbituric Acid-Reactive Substance
TBHQ	= tert-Butilhidrokuinon
TCA	= Trichloroacetic Acid
TD	= Tekanan Darah
TG	= Trigliserida
TGT	= Toleransi Glukosa Terganggu
VLDL	= Very Low Density Lipoprotein
WHO	= World Health Organization

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN BAWANG HITAM TERHADAP KADAR MDA
SERUM PADA TIKUS PUTIH (RATTUS NORVEGICUS STRAIN WISTAR)
JANTAN YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK DAN FRUKTOSA**

Oleh :

Regina Safitri Permatasari

145070307111019

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 4 Juli 2018

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I



Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D

NIP. 197404022003122002

Pembimbing I/ Penguji II,

Pembimbing II/ Penguji III,



Kanthi Permantingtyas T. S.GZ.MPH
NIK. 2012018511032001



Cleonara Yanuar D. M.Sc. RD
NIP. 2011068701202001

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Gizi



Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D

NIP. 197404022003122002

ABSTRAK

Permatasari, Regina, Safitri. 2018. *Pengaruh Pemberian Bawang Hitam Terhadap Kadar Mda Serum Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus Strain Wistar) Jantan Yang Diberi Diet Tinggi Lemak Dan Fruktosa*. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Kanthi Permaningtyas T, S.Gz.MPH (2) Cleonara Yanuar D, M.Sc.,RD

Salah satu karakteristik sindrom metabolik adalah dislipidemia. Dislipidemia mengakibatkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang dapat menghasilkan senyawa *malondialdehid* (MDA). Kandungan *s-allylsysteine*, polifenol dan flavonoid pada bawang hitam dapat menekan peroksidasi lipid sehingga dapat mencegah kadar MDA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa. Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dengan rancangan *post test control group design*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok, kelompok negatif (K1) diberi diet normal + aquades, kelompok positif (K2) diberi diet normal + sonde DTLF + aquades, kelompok P1 diberi diet normal + sonde DTLF + sonde bawang hitam dosis 240 mg, kelompok P2 diberi diet normal + sonde DTLF + sonde bawang hitam dosis 480 mg serta kelompok P3 diberi diet normal + sonde DTLF + sonde bawang hitam dosis 960 mg. Kadar MDA serum diukur menggunakan metode *thiobarbituric acid- reactive substance* (TBARS). Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji *One-Way ANOVA*, kelompok K1 $288 \pm 12,82$ ng/mL, K2 $314 \pm 18,62$ ng/mL, P1 ($323 \pm 25,51$ ng/mL, P2 $313 \pm 24,41$ ng/mL, P3 $331 \pm 38,36$ ng/mL dengan nilai $p=0,120$ ($p<0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini, dosis bawang putih hitam selama 14 hari belum mampu mencegah peningkatan kadar MDA serum.

Kata Kunci : bawang hitam, kadar MDA serum, diet tinggi lemak dan fruktosa*

ABSTRACT

Permatasari, Regina, Safitri. 2018. *The Effect Of Black Garlic On MDA Levels Of White Rats (Rattus Norvegicus Strain Wistar) Males Fed With High Fat And Fructose Diet*. Final Assignment, Nutrition Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Kanthi Permaningtyas T, S.Gz.MPH (2) Cleonara Yanuar D, M.Sc.,RD

One of the characteristics of metabolic syndrome is dyslipidemia. Dyslipidemia results in a lipid peroxidation process that can produce MDA compounds. The content of s-allylcysteine, polyphenols and flavonoids in black garlic can suppress lipid peroxidation so as to prevent MDA levels. The purpose of this study was to determine the effect of black garlic on MDA levels in white rats (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) males fed with high fat and fructose diet. This study was a true experimental study with post test control group design. This study used 25 rats divided into 5 groups, negative group (K1) fed with normal diet + aquades feeding tube, positive group (K2) fed with normal diet + HFFD feeding tube + aquades feeding tube, P1 group fed with normal diet + HFFD feeding tube + black garlic feeding tube dose 240 mg, P2 group fed with normal diet + HFFD feeding tube + black garlic feeding tube dose 480 mg and group P3 fed with normal diet + HFFD feeding tube + black garlic feeding tube dose 960 mg. Serum MDA levels were measured using thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) method. Based on data analysis using One-Way ANOVA test, K1 group was 288 ± 12.82 ng / mL, K2 314 ± 18.62 ng / mL, P1 323 ± 25.51 ng / mL, P2 313 ± 24.41 ng / mL, P3 $331 \pm 38,36$ ng / mL. In conclusion, dosing of black garlic for 14 days has not been able to prevent elevated MDA serum levels.

Keywords: black garlic, MDA, high fat and fructose diet (HFFD)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sindrom metabolik merupakan kumpulan dari gejala meliputi peningkatan ukuran lingkaran pinggang, peningkatan kadar trigliserida darah, penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL), kolesterol darah, tekanan darah tinggi, dan intoleransi glukosa. Prevalensi sindrom metabolik di dunia berkisar antara 20% sampai dengan 25% (Rini, 2015). Sedangkan berdasarkan hasil penelitian Bantast *et al.* (2012) prevalensi sindrom metabolik di Indonesia sebesar 17,5%. Prevalensi sindrom metabolik pada wanita (21,3%) lebih tinggi daripada pria (12,9%). Berdasarkan hasil penelitian Kamso (2011) prevalensi sindrom pada kalangan eksekutif di Jakarta sebesar 21,6%, dengan prevalensi pada pria (24,7%) lebih tinggi dibandingkan dengan wanita (11,8%).

Peningkatan prevalensi tersebut mengakibatkan terjadinya beberapa faktor risiko gangguan metabolisme salah satunya dislipidemia. Dislipidemia, merupakan keadaan abnormal metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol *low density lipoprotein* (LDL), kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar HDL (Anwar, 2004). Hal ini terjadi karena beberapa faktor yang mempengaruhi yaitu gaya hidup, aktifitas fisik, dan pola makan. Salah satunya konsumsi diet tinggi lemak dan fruktosa saat ini mulai meningkat di masyarakat. Peningkatan asupan lemak lebih banyak berasal dari *fast food* (Nusa *et al.*, 2013). Sedangkan peningkatan asupan fruktosa berasal dari pemanis makanan dan minuman yang mengandung *high*

fructose corn syrup (HFCS) (Prahastuti, 2011). Pada asupan makanan tinggi lemak secara signifikan akan meningkatkan kolesterol LDL dan menurunkan kolesterol HDL (Belanger *et al.*, 2008). Kadar kolesterol LDL yang tinggi pada penderita pra-sindrom metabolik mengindikasikan adanya akumulasi radikal bebas dalam tubuh (Puspitasari, 2015).

Peningkatan radikal bebas yang disertai dengan menurunnya mekanisme pertahanan antioksidan akan menstimulasi proses peroksidasi lipid yang mengakibatkan terjadinya peningkatan derajat stres oksidatif. Hasil proses peroksidasi lipid berupa senyawa aldehida, yaitu *malondialdehid* (MDA) (Zaki *et al.*, 2015). MDA terbentuk dari reaksi degradasi *polyunsaturated lipid* oleh *reactive oxidant species* (ROS) (Liana, 2011). Peroksidasi lipid hasil dari radikal bebas akan selalu membentuk reaksi berantai yang berlanjut sampai radikal bebas dihilangkan dengan antioksidan (Retno, 2012).

Berdasarkan penelitian Jarukamjorn (2016) pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa dapat menghasilkan *reactive oxidant species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif akan merusak protein atau lemak tak jenuh dalam membran sel sehingga kadar MDA meningkat. Antioksidan sangat diperlukan untuk mengatasi stress oksidatif. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh. Sedangkan antioksidan eksogen, didapatkan dari luar tubuh berupa makanan. Bahan makanan yang mengandung antioksidan salah satunya adalah bawang-bawangan seperti bawang putih, bawang merah dan bawang prei (Werddhasari, 2014).

Berdasarkan penelitian, bawang putih memiliki efek sebagai antioksidan. Karena memiliki kandungan *S-allylcysteine* (SAC) dan flavonoid (Salima, 2015 dan

Setyawati, 2014). Bawang putih memiliki rasa dan aroma yang menusuk sehingga membuat orang tidak menyukainya harapannya dengan proses pemanasan pada bawang putih akan menimbulkan perubahan organoleptik seperti rasa dan aroma membuat masyarakat menjadi menyukai. Setelah dilakukan proses pemanasan bawang putih mengalami perubahan warna menjadi hitam yang disebut reaksi maillard (Sasaki *et al.*, 2007).

Bawang hitam ini pertama kali diperkenalkan di Jepang. Bentuknya berwarna hitam, tidak berbau, ringan karena kadar airnya berkurang, dan dapat dimakan langsung tanpa harus diolah terlebih dahulu (Wang *et al.*, 2010).

Berdasarkan penelitian bawang hitam memiliki kandungan senyawa *S-allylcysteine* (SAC), *Polifenol* dan *Flavonoid* yang lebih tinggi dibandingkan bawang putih (Choi *et al.*, 2014). Selama proses pembuatan bawang hitam menyebabkan terjadinya peningkatan SAC. SAC merupakan salah satu senyawa asam amino yang mengandung sulfur utama yang berperan sebagai antioksidan. Umumnya, bawang putih mentah mengandung SAC sebanyak 20-30 mg/g, sedangkan bawang hitam mengandung SAC lima sampai enam kali lebih tinggi dari pada bawang putih mentah (Bae *et al.*, 2014). Selain itu, polifenol bermanfaat untuk mengurangi kerusakan oksidatif dengan meningkatkan radikal bebas dan membuangnya melalui sistem ekskresi (Wijayati *et al.*, 2015). Sedangkan flavonoid pada bawang hitam berperan mencegah stress oksidatif (Ha *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian bawang hitam memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan bawang putih mentah dan memiliki khasiat yang lebih besar untuk mencegah penyakit metabolik dan hepatotoksisitas (Bae *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian didapatkan hasil bawang hitam secara signifikan dapat mencegah peningkatan kadar MDA daripada bawang putih. Kandungan S-

allylcysteine (SAC) dan polifenol pada bawang hitam memberikan efek antioksidan yang kuat untuk mencegah peningkatan kadar MDA (Lee *et al.*, 2009).

Berdasarkan penjelasan latar belakang, penelitian sebelumnya memang sudah melakukan penelitian tentang bawang hitam dalam bentuk ekstrak dan suplementasi dan mencoba untuk mengetahui apakah terdapat peningkatan kadar MDA dengan pemberian diet tinggi lemak, namun belum meneliti terkait peningkatan kadar MDA terhadap diet tinggi lemak dan fruktosa serta pengaruh pemberian bawang hitam dapat mencegah peningkatan kadar MDA. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA pada tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar* jantan yang diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan fruktosa.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan fruktosa.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengetahui pengaruh pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa dan

bawang hitam terhadap berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain *Wistar*) jantan.

2) Mengetahui kadar MDA kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain *Wistar*) jantan yang diberi diet normal.

3) Mengetahui kadar MDA kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain *Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa.

4) Mengetahui kadar MDA kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain *Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa dengan bawang hitam dosis I (240 mg), dosis II (480 mg), dan dosis III (960 mg).

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai bawang hitam dalam mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA sehingga dapat dipakai sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Untuk Masyarakat

Apabila bawang hitam terbukti dapat mencegah terjadinya peningkatan kadar MDA maka hasil penelitian dapat digunakan dalam masyarakat sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan pada sindrom metabolik. Sehingga dapat menurunkan angka kematian akibat penyakit kardiovaskular dan mencegah terjadinya komplikasi dari sindrom metabolik.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sindrom Metabolik

Sindrom metabolik adalah kondisi seseorang memiliki tekanan darah rendah, obesitas sentral, dislipidemia dengan atau tanpa hiperglikemik (Bimandama *et al.*, 2015). Berdasarkan data Riskesdas tahun 2013 prevalensi dari komponen sindrom metabolik terdiri dari obesitas sentral (26,6%), hipertensi (9,5%), penyakit jantung (1,5%), diabetes mellitus (2,1%). Sedangkan pada *Riset Kesehatan Dasar* (Riskesdas) tahun 2007 obesitas sentral (18,8%), hipertensi (7,6%), penyakit jantung (0,9%), diabetes mellitus (1,1%). Berdasarkan kedua data Riskesdas dapat disimpulkan terjadinya peningkatan prevalensi dari beberapa komponen penyakit sindrom metabolik, peningkatan tersebut terjadi karena seiring dengan bertambahnya umur (Riskesdas, 2013). Berdasarkan Bantas *et al* (2012) menyatakan bahwa prevalensi sindrom metabolik di Indonesia sebesar (17,5%). Prevalensi pada wanita mengalami sindrom metabolik sebesar (21,3%) lebih tinggi daripada pria (12,9%). Sindrom metabolik memiliki 3 sampai 5 kriteria menurut *National Cholesterol Education Program (NCEP ATP III)* (2001), seseorang yang mengalami sindrom metabolik untuk kawasan Asia memiliki kriteria yaitu peningkatan ukuran lingkaran pinggang (> 90 cm untuk laki-laki dan > 80 cm untuk wanita), peningkatan kadar trigliserida darah (> 150 mg/dl), kadar HDL kolesterol yang rendah (laki-laki < 45 mg/dl dan wanita < 50 mg/dl), tekanan darah tinggi (130/85 mmHg), dan kadar gula darah puasa > 110 mg/dl).

Tabel 2.1 Kriteria Diagnosa Sindrom Metabolik Menurut WHO, NCEP-ATP III, dan IDF

Komponen	WHO (1988)	NCEP-ATP III (2002)	IDF (2005)
Hipertensi	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 140/90$ mmHg	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 130/85$ mmHg	Dalam pengobatan antihipertensi atau TD $\geq 130/85$ mmHg
Dislipidemia	Plasma TG ≥ 150 mg/dL dan atau HDL-C. Laki-laki : < 35 mg/dL, Perempuan : < 39 mg/dL	Plasma TG ≥ 150 mg/dL, HDL-C. Laki-laki : < 40 mg/dL, Perempuan : < 50 mg/dL	Plasma TG ≥ 150 mg/dL, HDL-C. Laki-laki : < 40 mg/dL, Perempuan : < 50 mg/dL dalam pengobatan dislipidemia
Obesitas	IMT > 30 kg/m ² dan atau rasio perut-pinggul. Laki-laki : $> 0,90$, Perempuan : $> 0,85$	Lingkar pinggang .Laki-laki : > 102 cm, Perempuan : > 88 cm	Obesitas sentral (lingkarperut) Asia: Laki-laki > 90 cm, perempuan > 80 cm
Gangguan metabolisme glukosa	DM tipe 2, TGT atau GDPT	GD puasa ≥ 110 mg/dL	GD puasa > 100 mg/dL atau diagnosis DM tipe 2
Lain-lain	Mikroalbuminuria $\geq 20\mu\text{g/}$ menit (rasio albumin/kreatinin ≥ 30)		
Kriteria Diagnosa	DM tipe 2 atau TGT dan 2 kriteria di atas. Jika toleransi glukosa normal, diperlukan 3 kriteria.	Minimal 3 kriteria	3 Obesitas Sentral dan 2 kriteria diatas

Keterangan : TD = Tekanan Darah; TG = Trigliserida; HDL-C = Kolesterol HDL; IMT = Indeks Masa Tubuh; DM = Diabetes Melitus; TGT = Toleransi Glukosa Terganggu; GD = Gula Darah; GDPT = Glukosa Darah Puasa Terganggu.

Sumber : Bimandama dan Soleha, 2016

2.1.1 Etiologi

Etiologi sindrom metabolik masih belum diketahui. Suatu hipotesis menyatakan bahwa penyebab sindrom metabolik adalah resistensi insulin.

Resistensi insulin mempunyai korelasi dengan timbunan lemak visceral yang dapat ditentukan dengan pengukuran lingkaran pinggang. Penyebab sindrom metabolik adalah gangguan fungsi sel beta (β) dan hipersekresi insulin untuk mengompensasi resistensi insulin. Hal ini memicu terjadinya komplikasi makrovaskular (misalnya komplikasi jantung). Kerusakan berat sel β menyebabkan penurunan progresif sekresi insulin, sehingga menimbulkan hiperglikemia (Bimandama dan Soleha, 2016).

2.1.2 Patofisiologi

2.1.2.1 Intoleransi Insulin dan Intoleransi Glukosa

Sindrom metabolik tidak hanya terjadi pada resistensi insulin tetapi gangguan intoleransi glukosa dan hyperinsulinemia termasuk dalam kelainan yang terjadi pada sindrom metabolik. Resistensi insulin merupakan media utama dalam sindrom metabolik. Insulin akan mengambil glukosa pada sel otot, lemak dan hati sehingga dapat mempengaruhi lipolysis dan produksi glukosa oleh hepatosit. Insulin adalah hormon antihormonal yang melibatkan aktivasi *phosphatidylinositol (PI) 3-kinase*. Obesitas adipositas pada perut adalah salah satu alasan utama terjadinya resistensi insulin. Asam lemak yang tidak diesterifikasi dilepaskan dari jaringan adiposa yang berlebih. Resistensi insulin mengakibatkan peningkatan lipolysis dari jaringan adiposa yang meningkatkan asam lemak bebas, ada penghambatan pada anti lipolitik dan insulin (G R Thaman *et al.*, 2013).

Sindrom metabolik dikaitkan dengan meningkatnya lemak intraabdomen, rendahnya kadar adiponektin dan meningkatnya kadar sitokin. Kontributor tambahan untuk resistensi insulin meliputi kelainan pada sekresi insulin dan sinyal reseptor insulin, penurunan kadar glukosa, dan sitokin proinflamasi. Hubungan

toleransi glukosa terganggu dan resistensi insulin terdokumentasi dengan baik.

Untuk mengimbangi kekurangan aktivitas insulin, sekresi insulin perlu

mempertahankan kadar normal glukosa. Jika mekanisme ini gagal maka akan

terjadi hiperglikemia. Karena resistensi insulin meningkatkan risiko seseorang

terkena penyakit kardiovaskular dan diabetes tipe 2 (G R Thaman *et al.*, 2013).

2.1.2.2 Obesitas

Obesitas merupakan komponen utama dalam terjadinya sindrom

metabolik, tetapi mekanisme yang jelas belum secara pasti diketahui. Obesitas

adalah kelainan pengaturan nafsu makan dan metabolisme energi, hal ini terjadi

karena ketidakseimbangan asupan energi dengan energi yang dikeluarkan. Energi

yang berlebihan akan disimpan dalam bentuk jaringan lemak (Limanan dan Prijati,

2013). Lemak visceral melepaskan produk metabolisme langsung menuju sirkulasi

portal yang membawa darah langsung ke hati. Asam lemak bebas akan

menumpuk di pankreas, jantung dan organ lain. Hal ini menyebabkan terjadinya

disfungsi organ, gangguan regulasi insulin, gula darah dan kolesterol serta fungsi

jantung yang tidak normal dikenal sebagai lipotoksitas (G R Thaman *et al.*, 2013).

Obesitas yang diikuti dengan meningkatnya metabolisme lemak akan

menyebabkan terjadinya produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Apabila ROS

meningkat dalam sel adiposa menyebabkan keseimbangan reaksi reduksi oksidasi

(redoks) akan terganggu, sehingga antioksidan menurun dan terjadi stres oksidatif

(Rini, 2015).

2.1.2.3 Hipertensi

Salah satu gejala sindrom metabolik adalah hipertensi. Gejala ini biasanya

tidak terdeteksi lama. Hipertensi merupakan salah satu kunci dari gejala sindrom metabolik dan faktor risiko untuk terjadinya pengembangan penyakit kardiovaskular. Semua gangguan hemodinamik dan metabolik hipertensi esensial dan resistensi insulin berhubungan erat. Hipertensi dikaitkan dengan beberapa kelainan metabolik seperti obesitas, meningkatnya glukosa darah, dan dislipidemia. Pada penelitian menunjukkan terjadinya obesitas dapat menimbulkan hipertensi, resistensi insulin dan dislipidemia (G R Thaman *et al.*, 2013).

Obesitas merupakan faktor risiko untuk terjadinya hipertensi yang tidak terkontrol. Penelitian telah menunjukkan bahwa obesitas menyediakan hubungan antara hipertensi, resistensi insulin dan dislipidemia. Ada 3 faktor yang ditemukan pada pengelompokan variabel metabolik. Ketiga faktor ini adalah resistensi insulin, hipertensi dan dislipidemia. Hiperglikemia dan insulin akan mengaktifkan *Renin-Angiotensin System* (RAS) dengan meningkatkan ekspresi angiotensinogen dan reseptor AT1, yang dapat berkontribusi pada pengembangan hipertensi pada pasien dengan resistensi insulin. Aktivasi RAS dapat menghambat aksi Insulin melalui jalur PI-3 kinase (G R Thaman *et al.*, 2013).

2.1.2.4 Penyakit Jantung Koroner

Penyakit jantung koroner merupakan penyebab dari sindrom metabolik. Hal ini disebabkan adanya gangguan fungsi jantung akibat otot jantung kekurangan darah sehingga terjadi penyempitan pembuluh darah koroner (Zaki *et al.*, 2015). Obesitas juga merupakan faktor penyebab penyakit jantung koroner, jaringan adiposa akan bertindak sebagai organ endokrin yang mengeluarkan hormon dan zat lain yang menciptakan keadaan proinflamasi dan meningkatkan pembentukan plak aterosklerotik (DeHoff *et al.*, 2007). Kebanyakan penderita

dengan Sindroma Metabolik yang mengalami DM type 2 akan berisiko terdapat penyakit jantung koroner (Wulandari *et al.*, 2015).

2.1.2.5 Dislipidemia

Profil lipid yang terkait dengan sindrom metabolik ditandai dengan peningkatan lipoprotein yang mengandung apolipoprotein B, trigliserida plasma dan kadar LDL meningkat serta berkurangnya kadar HDL dan kadar kolesterol meningkat. Adiposit visceral resistensi insulin sensitif terhadap lipolitik glukokortikoid dan katekolamin, yang meningkatkan pelepasan asam lemak bebas ke dalam sistem portal. Lipoprotein lipase dalam jaringan perifer menghidrolisis VLDL membentuk LDL dan partikel sisa. Partikel LDL yang mengandung trigliserida dimodifikasi dengan lipoprotein lipase untuk menghasilkan partikel LDL kecil dan padat yang meningkatkan aterosclerosis melalui berbagai mekanisme, termasuk peningkatan terhadap oksidasi, pembersihan mediator reseptor hepatotomatis, serapan reseptor-reseptor yang dimediasi reseptor, dan retensi dinding arteri yang lebih besar (Halcox *et al.*, 2006).

Resistensi insulin dapat menyebabkan peningkatan aktivitas lipase hati, yang menghidrolisis dan mengurangi kadar kolesterol HDL antiaterogenik. Faktor lain yang terkait dengan sindrom metabolik yang terkait dengan perkembangan penyakit kardiovaskular klinis meliputi mikroalbuminuria, peningkatan kadar inhibitor aktivator plasminogen-1, dan hiperfibrinogenemia. Peningkatan produksi insulin, kadar glukosa dan aktivasi sistem renin-angiotensin berkontribusi untuk meningkatkan inhibitor aktivator plasminogen-1 ekspresi gen dan produksi protein yang dikaitkan dengan disfungsi endotel dan peningkatan risiko kejadian penyakit aterosklerosis. Kelompok mikroalbuminuria dengan komponen sindrom metabolik

lainnya, termasuk hiperinsulinemia, obesitas sentral, dislipidemia, hiperurisemia, dan peningkatan penanda peradangan kardiovaskular (Halcox *et al.*, 2006).

2.1.2.6 Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes mellitus merupakan penyakit degeneratif akibat gangguan metabolisme dalam tubuh, di mana pankreas tidak dapat memproduksi hormon insulin sesuai kebutuhan tubuh sehingga kadar gula dalam darah meningkat.

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan tipe diabetes yang paling banyak ditemukan daripada diabetes mellitus tipe 1. Hal ini disebabkan banyaknya faktor risiko yang berkaitan dengan diabetes mellitus tipe 2 tersebut seperti obesitas, gaya hidup, dan pola makan yang buruk. Penyakit DM tipe 2 di Indonesia merupakan salah satu penyebab utama penyakit tak menular atau sekitar 2,1% dari seluruh kematian. Diperkirakan sekitar 90% kasus DM di seluruh dunia tergolong DM tipe 2 (Wulandari *et al.*, 2013).

2.1.3 Faktor Yang Mempengaruhi Sindrom Metabolik

2.1.3.1 Gaya hidup

Sindrom metabolik berhubungan dengan pergeseran gaya hidup masyarakat akibat pengaruh globalisasi, contohnya gaya hidup masyarakat berubah ke arah yang lebih modern dari pola konsumsi makanan tradisional berubah menjadi makanan instan (Suhaema *et al.*, 2015).

2.1.3.2 Aktifitas Fisik

Aktivitas fisik yang teratur dengan tingkat aktivitas fisik berat dan sedang sangat signifikan menurunkan risiko sindrom metabolik. Hal ini disebabkan

meningkatkan respirasi jantung dibandingkan seseorang yang aktivitas fisiknya ringan (Laursen *et al.*, 2012).

2.1.3.3 Pola Makan

Pola makan yang tidak baik dapat berpengaruh dalam sindrom metabolik. Konsumsi makanan berlemak dan minuman manis merupakan salah satu penyebab sindrom metabolik. Konsumsi makanan tersebut dapat berperan dalam peningkatan lemak tubuh disebabkan densitas energi yang tinggi, efek rasa lezat, tingginya efisiensi metabolik (Suhaema, 2015). Asupan zat gizi berlebih yang terjadi terus menerus akan menyebabkan simpanan lemak juga menjadi berlebihan. Asam lemak dalam bentuk bebas dapat bersikulasi bebas dalam pembuluh darah dan menimbulkan stres oksidatif diseluruh tubuh (Masri *et al.*, 2015).

2.2 Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa terhadap Sindrom Metabolik

Konsumsi makanan berlemak dan makanan manis berhubungan dengan terjadinya obesitas sentral karena dapat meningkatkan asupan energi dapat menyebabkan berat badan berlebih oleh timbunan lemak. Obesitas muncul disebabkan jaringan adiposa yang berperan sebagai organ endrokrin yang menghasilkan beberapa hormon protein. Namun, tingginya akumulasi lemak dapat memicu jaringan adiposa menghasilkan beberapa hormon dengan jumlah yang tidak normal (Sugianti, 2009).

Salah satu karakteristik obesitas sentral atau lemak visceral adalah terjadinya pembesaran sel-sel lemak, sehingga sel-sel lemak tersebut akan mensekresi produk-produk metabolik, diantaranya sitokin proinflamasi,

prokoagulan, peptida inflamasi, dan angiotensinogen. Produk-produk dari sel lemak dan peningkatan asam lemak bebas dalam plasma bertanggung jawab terhadap berbagai penyakit metabolik seperti diabetes, penyakit jantung, hiperlipidemia, gout, dan hipertensi (Bimandama dan Soleha, 2016).

Pada penelitian menggunakan hewan coba dengan pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa bertujuan untuk membuat tikus menjadi sindrom metabolik. Hal ini karena diet tinggi lemak dapat meningkatkan profil lipid sedangkan fruktosa yang bersifat hepatotoksik mengalami penumpukkan lemak dalam sel hati yang dapat mempengaruhi produksi kadar MDA (Wongphoom *et al.*, 2015). Pada penelitian pemberian diet tinggi lemak dan ditemukan kelainan metabolik seperti hyperinsulinemia, resistensi insulin dan dislipidemia (Dini *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Jarukamjorn *et al* (2016) pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa dapat menghasilkan *reactive oxidant species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif akan merusak protein atau lemak tak jenuh dalam membran sel sehingga kadar MDA meningkat dihati.

2.3 Dislipidemia

Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang paling utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, kenaikan kadar trigliserida serta penurunan kadar HDL (Anwar, 2004). Tikus dikatakan dislipidemia apabila terjadi kenaikan berat badan > 20% atau kadar kolesterol total serum >200 mg/dL. Pada dislipidemia terjadi peningkatan produksi O_2^- oleh sel endotel akan menyebabkan degradasi *Nitric Oxide* (NO) serta produksi radikal bebas lainnya. Peningkatan radikal bebas berhubungan dengan peningkatan

oksidasi LDL, glikasi protein dan autooksidasi glukosa sehingga menimbulkan penumpukan peroksidasi lipid lebih lanjut (Ratnayanti, 2011).

Produk peroksidasi lipid membentuk ikatan intermolekuler dengan grup amino terminal apolipoprotein LDL sehingga terbentuk LDL teroksidasi. Produk reaksi oksidatif menghasilkan ROS yang menimbulkan autooksidasi glukosa. Pada keadaan hiperkolesterol produk peroksidasi lipid, terutama MDA berfungsi sebagai penghubung antara protein dan glukosa sehingga terjadinya glikasi protein (Ratnayanti, 2011).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa kimia berupa atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Hal ini membuat radikal bebas menjadi reaktif dan cenderung mengambil satu elektron dari molekul lain untuk dapat berpasangan, baik dengan memberikan elektron yang tidak berpasangan tersebut atau menerima elektron dari sumber lain (Danusantoso, 2003). Radikal bebas bisa berasal dari sumber endogen atau sumber eksogen. Sumber endogen merupakan hasil metabolisme normal tubuh dan proses fagositosis sedangkan sumber eksogen merupakan hasil dari lingkungan, polusi, obat-obatan, asap rokok (Werddhasari, 2014).

2.4.1 Jenis-jenis Radikal Bebas

Jenis-jenis radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh dan lingkungan yaitu *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang terdiri dari superoksida anion (O_2^-), hidroksil (OH), alkoksil (RO), peroksil (RO_2) serta senyawa bukan radikal yang berfungsi sebagai pengoksidasi seperti hydrogen peroksida (H_2O_2), ozon (O_3) dan HOCl.

Reactive Nitrogen Spesies (RNS) terdiri dari nitrooksida (NO_2), peroksinitrit (ONOO), dan senyawa bukan radikal seperti asam nitrit (HNO_2) dan nitrogen tetroksida (N_2O_4) (Simanjuntak, 2012).

2.4.2 Target Kerusakan Radikal Bebas

Radikal bebas menyebabkan beberapa kerusakan sel yaitu :

1. Peroksidasi komponen lipid, menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak yang mengakibatkan kerusakan membrane dan organel sel.
2. Kerusakan DNA, dapat mengakibatkan mutasi DNA dan menimbulkan kematian sel
3. Modifikasi protein, terbentuknya *cross linking* protein, melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sistein, metionin, lisin dan histidine (Sayuti *et al.*, 2015).

2.5 Peroksidasi Lipid

Peroksidasi lipid merupakan reaksi yang terjadi antara radikal bebas dengan asam lemak tak jenuh majemuk *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Peroksidasi lipid mempunyai tiga komponen utama yaitu reaksi inisiasi, propagasi dan terminasi (Irawan, 2013).

1. Inisiasi, merupakan tahapan pembentukan radikal bebas yang diinisiasi oleh atom hidrogen pada gugus metilen rantai asam lemak. Tahapan inisiasi dapat melalui dua mekanisme yang bergantung pada besi. Kedua mekanisme tersebut terdiri dari :
 - a. Mekanisme yang bergantung radikal hidroksil, peroksidasi lipid dipicu oleh radikal hidroksil yang terbentuk saat reaksi Fenton sebagai

reaktan.

b. Mekanisme yang tidak bergantung radikal hidroksil, peroksidasi lipid

dipicu oleh kompleks besi-oksigen berupa ion perferri dan ferri.

2. Propagasi, merupakan pemanjangan radikal bebas. Reaksi ini ditentukan

oleh energi disosiasi ikatan karbonhidrogen rantai lipid. Apabila radikal

karbon bereaksi dengan oksigen akan terbentuk radikal peroksil yang

dapat mengabstraksi atom hidrogen pada lipid yang lain maka akan

terbentuk lipid hidroperoksida. Lipid hidroperoksida bersifat sitotoksik.

Melalui pemanasan atau reaksi yang melibatkan logam, lipid

hidroperoksida akan dipecah menjadi produk peroksidasi lipid sekunder,

yakni radikal lipid alkoksil dan peroksi lipid. Radikal alkoksil dan lipid

peroksil juga dapat menginisiasi reaksi rantai lipid selanjutnya.

3. Terminasi, merupakan radikal karbon yang terbentuk pada reaksi inisiasi

cenderung menjadi stabil melalui reaksi dengan radikal karbon maupun

radikal lain yang terbentuk pada tahap propagasi. Reaksi peroksidasi lipid,

selain dipicu oleh katalis besi, juga dapat dipicu dan menghasilkan

berbagai ROS. Apabila proses tersebut tidak diredam oleh scavenger

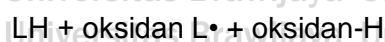
alamiah, kerusakan akan terjadi pada berbagai struktur penting asam

lemak tak jenuh pada membran fosfolipid. Selain itu, kerusakan

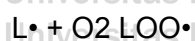
peroksidatif tersebut dapat dirambatkan oleh reaksi rantai berulang.

(Setiawan dan Suhartono, 2007)

1. Inisiasi



2. Propagasi





3. Terminasi



Peroksidasi lipid dapat menghasilkan radikal bebas secara terus menerus.

Untuk mengendalikan peroksidasi lipid tubuh memerlukan antioksidan. Reaksi

peroksidasi lipid diawali dengan pemisahan atom hidrogen oleh radikal bebas dari

kelompok metilena (PUFA). Hal ini menghasilkan pembentukkan radikal karbon

pada PUFA. Radikal karbon distabilkan dengan pengaturan ulang ikatan magkap

yang menghasilkan pembentukan diena terkonjugasi. Apabila diena

terkonjugasi bereaksi dengan oksigen akan membentuk radikal peroksidasi lipid.

Radikal peroksidasi lipid dapat menghilangkan atom hidrogen dari molekul lipid

yang berdekatan untuk membentuk hidroperoksida lipid dan membentuk radikal

karbon. Apabila radikal karbon bereaksi lagi dengan oksigen maka reaksi

peroksidasi lipid terus berlanjut. Pembentukkan endoperoksida lipid pada PUFA

mengandung tiga ikatan rangkap untuk membentuk malondialdehid (MDA)

sebagai produk dari reaksi peroksidasi tersebut (Irawan, 2013).

2.6 Malondialdehid

Malondialdehid (MDA) adalah pertanda terjadinya peroksidasi lipid akibat

degradasi radikal bebas hidroksil terhadap asam lemak tak jenuh, kemudian

ditransformasi menjadi radikal yang reaktif (Zaki *et al.*, 2015). Asam lemak tak

jenuh yang mengalami pembentukan produk MDA akan bereaksi dengan protein

tubuh dan menyebabkan pembentukan senyawa yang bersifat karsinogen. MDA

dapat menggambarkan derajat stress oksidatif. Stress oksidatif dapat terjadi

apabila ROS yang dihasilkan lebih besar dibandingkan mekanisme pertahanan sel (Arkhaesi, 2008).

Menurut Yustika (2013), pembentukan MDA diawali dengan hilangnya hydrogen (H) dari lipid tak jenuh rantai panjang oleh gugus radikal hidroksil (OH), sehingga lipid bersifat radikal. Radikal lipid bereaksi dengan oksigen (O₂) sehingga membentuk radikal peroksil (OO) yang menghasilkan MDA.

Nilai normal kadar MDA tergantung dengan metode yang digunakan, untuk kadar MDA dengan metode spektrofotometri nilai normalnya $1,04 \pm 0,43 \mu\text{mol/l}$ (Irawan, 2015). Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

1. Tes *thiobarbituric acid- reactive substance* (TBARS)

Pemeriksaan dilihat berdasarkan reaksi spektrofotometri. Satu molekul MDA akan terpecah menjadi 2 molekul 2-asam thiobarbiturat. Reaksi ini terjadi pada pH 2-3. Pada saat proses pengukuran *Thiobarbituric Acid* (TBA) akan memberikan warna pink chromogen sehingga dapat diperiksa secara spektrofotometrik. Tes TBA selain untuk mengukur kadar MDA yang terbentuk oleh peroksidasi lipid dapat juga mengukur produk aldehid. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin. Beberapa metode pengukuran TBA yaitu:

- a. Pengukuran reaksi TBA dengan metode kolorimetri

Pengukuran reaksi ini dengan spektrofotometri. Metode ini mudah dilakukan namun bersifat tidak spesifik karena dapat mengukur produk aldehid lainnya.

- b. Pengukuran reaksi TBA dengan metode fluorosens

Pengukuran ini menggunakan metode spektrofotometri. Metode ini mempunyai kelebihan karena tidak terganggu oleh beberapa produk reaksi TBA yang larut air.

2. Kadar MDA serum bebas dengan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromography*)

Metode ini merupakan metode pengukuran yang paling sensitif dan spesifik pada kadar MDA serum. MDA bukan produk yang spesifik dari proses peroksidasi lipid sehingga dapat menimbulkan positif palsu yang berakibat pada nilai duga positif yang rendah (Arkhaesi, 2008).

2.7 Antioksidan

Proses oksidasi tidak hanya terjadi dalam tubuh manusia saja tetapi komponen makanan berlemak dapat mengalami oksidasi. Antioksidan adalah salah satu senyawa yang bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya untuk menghambat terjadinya kerusakan akibat proses oksidasi. Di dalam tubuh manusia tidak memiliki antioksidan dalam jumlah yang berlebih. Sehingga saat radikal bebas terbentuk di dalam tubuh, manusia membutuhkan antioksidan dari luar tubuh (Sayuti *et al.*, 2015).

Antioksidan dibagi menjadi 2 kategori yaitu primer dan sekunder. Antioksidan primer adalah antioksidan yang berperan dalam menghambat terbentuknya radikal bebas pada proses oksidasi. Sedangkan antioksidan sekunder berperan untuk mendekomposisi *hidroperoksida* menjadi bentuk-bentuk non radikal (Anggraini, 2007). Antioksidan juga dapat digolongkan menjadi antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami adalah antioksidan yang berasal dari bahan-bahan alami, seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E. Sedangkan

antioksidan sintetik adalah antioksidan yang berasal dari reaksi kimia, seperti *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-Butilhidrokuinon* (TBHQ), tokoferol.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat digolongkan menjadi eksogen dan endogen. Antioksidan eksogen berasal dari luar tubuh atau berasal dari makanan, sedangkan antioksidan endogen berasal dari enzim-enzim yang bersifat antioksidan seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), *katalase* (Cat), dan *glutathione peroksidase* (Gpx) (Werdhasari, 2014).

2.8 Bawang Hitam

Bawang hitam berasal dari bawang putih (*Allium sativum* L). Bawang putih yang digunakan jenis. Bawang putih dapat diolah dengan cara dipanaskan dengan temperatur 70°C dan kelembapan ruangan 75% (Sasaki *et al.*,2007). Proses pemanasan akan merubah warna bawang putih menjadi hitam. Bawang hitam ini pertama kali diperkenalkan di Jepang, bawang ini memiliki karakteristik berwarna hitam, tidak berbau, ringan karena kadar airnya berkurang, dan dapat dimakan langsung tanpa harus diolah terlebih dahulu (Wang *et al.*, 2010). Selain di Jepang, bawang hitam sudah sering digunakan sebagai bumbu pada masakan di Korea (Bae *et al.*, 2014).

Tabel 2.2 Kandungan Zat Gizi

Zat Gizi	Bawang Hitam	Bawang Putih
Enegi (Kcal/100 gr)	227,1	138
Konsentrasi airs (%)	45,1	60,3
Protein (%)	9,1	8,4
Lipid (%)	0,3	0,1
Karbohidrat (%)	47,0	28,7
Na (mg)	4	ND
Ca (mg)	24	ND

ND not determined

Sumber : Sasaki *et al.*,2007

Pada proses perubahan bawang hitam terdapat perbedaan karakteristik.

Kadar asam pada bawang hitam meningkat dibandingkan bawang putih mentah.

Pada hari pertama bawang hitam masih dalam bentuk bawang putih. Bawang putih memiliki kandungan yang pH lebih tinggi dibandingkan bawang hitam. Hari ke 7 kadar gula pada bawang hitam mengalami peningkatan sekitar 6 kali, dari 2,73 g/kg dan hari ke 16,07 g/kg. Kandungan gula yang meningkat mempengaruhi rasa pada bawang hitam. Selain itu, perubahan pola spektral terjadi pada bawang hitam selama 35 hari dan terjadi perubahan warna, reaksi ini terjadi akibat perlakuan pemanasan yang disebabkan oleh reaksi maillard atau reaksi pencoklatan non-enzimatik (Choi *et al.*,2014).



Gambar 2.1 Proses Perubahan Bawang Hitam (Choi *et al.*,2014)

Berdasarkan penelitian Choi *et al* (2014), bawang hitam mengandung *S-allylcysteine* (SAC) yaitu salah satu senyawa asam amino yang mengandung sulfur utama. Peningkatan *S-allylcysteine* (SAC) juga merupakan perubahan penting yang terjadi selama proses pembuatan bawang putih hitam. Umumnya, bawang putih mentah mengandung 20-30 mg / g SAC (Bae *et al.*, 2014). Selain itu, bawang hitam mengandung antioksidan seperti *polyphenol* dan *flavonoid*.

Berdasarkan penelitian Choi *et al* (2014) kandungan polifenol pada bawang hitam (25,81-58,33 mg/g) lebih tinggi dibandingkan bawang putih (13,91 mg/g), sedangkan kandungan flavonoid bawang hitam (5,38 mg/g-16,26 mg/g) lebih tinggi dari pada bawang putih (3,22 mg/g), untuk memaksimalkan kandungan antioksidan pada bawang hitam proses pemanasan dibutuhkan waktu sampai 21 hari. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan polifenol dan flavonoid pada

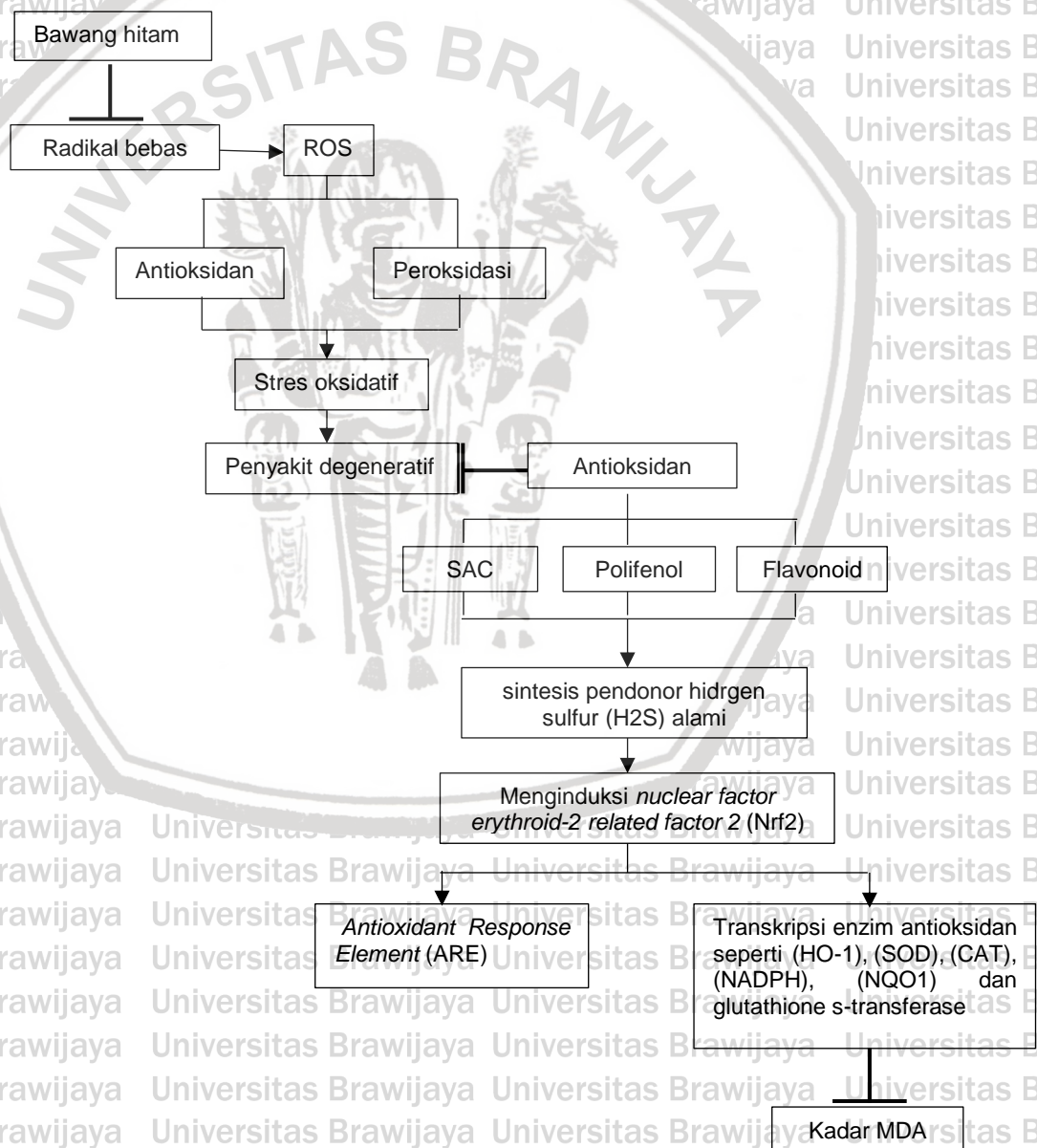
bawang hitam lebih tinggi dibandingkan bawang putih.

2.8.1 Mekanisme Bawang Hitam terhadap Kadar MDA

Bawang hitam merupakan hasil dari proses pemanasan bawang putih yang mengalami perubahan reaksi pencoklatan non enzimatis untuk mentransfer *allicin* menjadi senyawa yang larut dalam air seperti *S-allylcysteine* (SAC). Bawang hitam memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga dapat menangkal radikal bebas didalam tubuh (Lee Ko-Chao *et al.*, 2016). Radikal bebas merupakan senyawa yang tidak berpasangan dalam orbitalnya sehingga mampu mengoksidasi molekul disekitarnya. *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) terbentuk karena radikal bebas yang bersifat reaktif akan mempercepat proses peroksidasi dan menghasilkan toksisitas dalam tubuh. Hal ini terjadi karena ketidakseimbangan yang terjadi pada peroksidasi dan antioksidan dalam tubuh dapat mengakibatkan stres oksidatif (Ha *et al.*, 2017)..

Stres oksidatif berperan dalam patofisiologi akibat beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus, kanker, penyakit jantung, stroke dan komplikasi penyakit lainnya (Werdhasari, 2014). Antioksidan memiliki peran penting dalam tubuh untuk mengatasi dan menangani stres oksidatif karena mudah dioksidasi sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul dalam sel. Antioksidan pada bawang hitam yaitu polifenol, flavonoid dan *S-allylcysteine* (SAC). SAC dapat menangkal ROS, melindungi sel endotel dari oksidasi LDL dan mempertahankan sel-sel neuron dari kerusakan hidrogen peroksida (H_2O_2). Senyawa organosulfur ini akan dianggap sebagai sintesis pendonor hidrogen sulfur (H_2S) alami yang akan secara selektif menginduksi faktor erythroid seperti nukleotid yang terlibat dalam pertahanan

melawan stres oksidatif. Protein *nuclear factor erythroid-2 related factor 2* (Nrf2) dapat berikatan dengan *antioxidant response element* (ARE) dan mengaktifkan transkripsi enzim antioksidan seperti heme oxygenase-1 (HO-1), superoxide dismutase (SOD), katalase (CAT), nikotinamida adenin dinukleotida fosfat (NADPH), kuinon oksidoreduktase 1 (NQO1) dan glutathione s-transferase (GST) sehingga dapat mencegah peningkatan kadar MDA dalam tubuh (Ha *et al.*, 2017; Lenkova *et al.*, 2016).

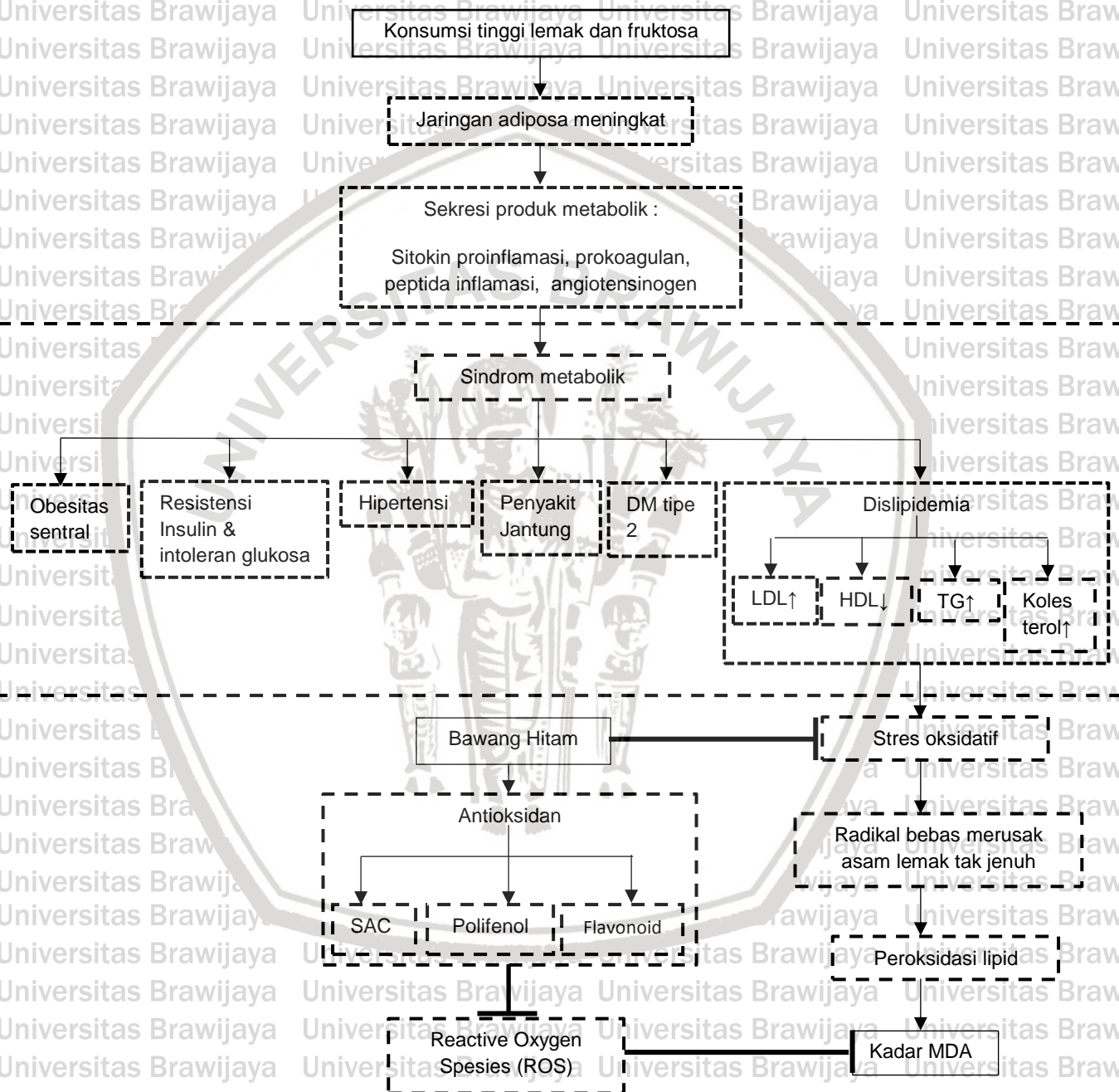


Gambar 2.2 Mekanisme Bawang Hitam Terhadap Kadar MDA

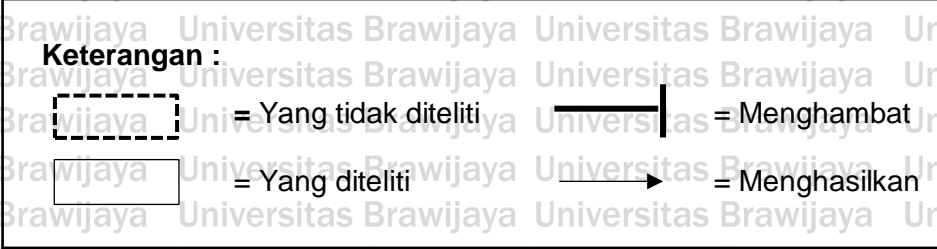
BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Tingginya konsumsi makanan berlemak dan fruktosa menyebabkan energi yang berlebihan ditubuh sehingga meningkatkan jaringan adiposa. Pembentukan jaringan adiposa dapat memperbesar sel-sel lemak yang akan mensekresi produk metabolik yaitu sitokin proinflamasi yang meningkat akan menghambat sinyal insulin (Mukhtar,2012), prokoagulan terjadi akibat gangguan pada dinding pembuluh darah (Wijaya, 2013), peptida inflamasi dan angiotensinogen. Produk dari sel lemak tersebut bertanggung jawab terhadap beberapa penyakit metabolik (Bimandama dan Soleha, 2016).

Sindrom metabolik menjadi penyebab dari beberapa penyakit yaitu dislipidemia, obesitas sentral, resistensi insulin dan intoleran glukosa, hipertensi, penyakit jantung dan diabetes mellitus tipe 2 (Rini, 2015). Dislipidemia disebabkan karena kelainan metabolisme yang ditandai dengan meningkatnya kadar LDL, menurunnya kadar HDL, meningkatnya kadar trigliserida dan meningkatnya kolesterol total (Anwar, 2004). Perubahan tersebut dapat menyebabkan timbulnya peroksidasi lipid, hal ini terjadi ketika stress oksidatif mengalami ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan (Werddhasari, 2014).

Ketika radikal bebas akan merusak membran sel yang mengandung asam lemak tidak jenuh *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga akan menyebabkan peroksidasi lipid dan menghasilkan senyawa *malondialdehid* (MDA) (Irawan,

2013). Antioksidan yang menurun menandakan bahwa kadar MDA dalam tubuh meningkat.

Bawang hitam diberikan dalam bentuk lunak untuk membantu mencegah peningkatan kadar MDA dalam darah. Bawang hitam merupakan hasil fermentasi dari bawang putih yang memiliki kandungan *S-allylcysteine* (SAC), polifenol dan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki proses menangkal ROS yang dapat melindungi membran lipid dan makromolekul terhadap kerusakan oksidatif (Yadav *et al.*,2016). Kandungan *S-allylcysteine* (SAC), polifenol dan flavonoid pada bawang hitam lebih tinggi dari pada bawang putih, sehingga hal ini dapat menghambat kadar MDA dalam tubuh.

3.2 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA serum pada tikus putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan yang diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa. Bawang hitam yang berperan sebagai antioksidan akan menangkal ROS, sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif dan menghambat kadar MDA.

BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* bersifat *Post Test Control Group Design*, desain penelitian ini menggunakan perlakuan acak hal ini dilakukan untuk mengambil hasil data pengukuran setelah diberikan perlakuan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Pembagian kelompok dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a) Kontrol negatif (K1) : diet normal dan sonde plasebo berupa akuades.
- b) Kontrol positif (K2) : diet normal, sonde diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dan sonde plasebo berupa akuades.
- c) Perlakuan 1 (P1) : diet normal, sonde diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dan sonde bawang hitam dosis I.
- d) Perlakuan 2 (P2) : diet normal, sonde diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dan sonde bawang hitam dosis II.
- e) Perlakuan 3 (P3) : diet normal, sonde diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dan sonde bawang hitam dosis III.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Subjek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini hewan coba tikus dengan jenis *Rattus norvegicus Strain Wistar*. Pemilihan hewan tikus ini karena memiliki karakteristik yang serupa dengan kerja tubuh manusia dan mudah

dalam perawatannya (American Association for Laboratory Animal Science, 2003; Laboratory Animal Centre Nasional University of Singapore, 2007).

4.2.2 Jumlah Sampel

Perhitungan jumlah sampel menggunakan rumus Federer, yaitu :

$$[(t - 1)(n - 1)] \geq 15$$

Keterangan :

n = jumlah pengulangan/ besar sampel dalam kelompok

t = jumlah perlakuan/ banyaknya kelompok

(Arkeman dan Dafit, 2006)

Sehingga dapat dihitung jumlah sampel yang dibutuhkan dalam kelompok

adalah :

$$[(t - 1)(n - 1)] \geq 15$$

$$[(5 - 1)(n - 1)] \geq 15$$

$$n - 1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75 \sim 5$$

Dari hasil perhitungan rumus Federer, didapatkan jumlah sampel sebanyak 5 ekor tikus pada masing-masing kelompok, sehingga total tikus yang dibutuhkan adalah 25 ekor tikus.

4.2.3 Kriteria Subjek

1. Kriteria Inklusi

- a) Tikus berjenis kelamin jantan
- b) Umur tikus 2-3 bulan

c) Berat badan tikus 150-200 gram

d) Warna bulu putih bersih

e) Gerakkan aktif

2. Kriteria Eksklusi

a) Tikus mengalami kecacatan

3. Kriteria Dropout

a) Tikus yang hilang atau lepas dari kandang selama proses penelitian

b) Tikus yang mati selama proses penelitian

4.3 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah dosis bawang hitam.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah kadar MDA tikus.

4.4 Lokasi dan waktu penelitian

4.4.1 Lokasi penelitian

a) Pembuatan pakan tikus PARS sesuai prosedur dari Laboratorium Farmakologi FKUB (2013), sedangkan pembuatan DTLF sesuai penelitian Octavia *et al*,(2017). Pembuatan pakan tikus dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

b) Persiapan pembuatan larutan bawang hitam dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

c) Perawatan dan pembedahan tikus dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

d) Pemeriksaan kadar MDA pada darah hewan dilakukan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November – Desember 2017.

4.5 Bahan dan Alat/ Instrument Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

1) Diet normal tikus

Diet normal tikus pada penelitian ini menggunakan bahan berupa comfeed PARS. Bahan dicampur dengan tepung terigu dan air. Diet ini diberikan secara *ad libitum* sebanyak 40 gram/tikus/hari pada semua tikus selama masa adaptasi dan pada masa perlakuan (Supratiwi, 2015), dengan komposisi bahan yang digunakan, sebagai berikut:

Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal Persaji (40 gram)

Komposisi	Persentase (%)	Jumlah
Comfeed PARS	53	21,1 gram
Tepung terigu	23,5	9,4 gram
Air	23,5	9,4 ml

Sumber: Laboratorium Farmakologi FKUB, 2013.

Kandungan gizi diet normal (PARS) ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Kandungan Gizi Diet Normal Persaji (40 gram)

Zat Gizi	Persentase (%)	Kandungan
Energi		104,9 kkal
Karbohidrat	72,7	19,06 gram
Lemak	8,0	0,93 gram
Protein	19,3	5,06 gram

Sumber: Laboratorium Farmakologi FKUB, 2013.

2) Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa (DTLF)

Diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) merupakan diet tambahan yang diberikan secara sonde lambung. Diet ini mengikuti penelitian Octavia *et al.*, (2017) dengan komposisi bahan yang terdiri dari minyak babi 2 ml/200g BB tikus, kuning telur puyuh 1 ml/200g BB tikus dan fruktosa murni sebanyak 1 ml/200g BB tikus (Octavia *et al.*, 2017).

Tabel 4.3 Kandungan Gizi Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa (4 ml)

Bahan	Volume (ml)	Energi (kkal)	Protein (g)	Lemak (g)	Karbohidrat (g)
Minyak babi	2	17,14	0	1,9	0
Kuning telur puyuh	1	0,68	0,06	0,05	0
Fruktosa	1	5,13	0	0	1,39
Total	4	22,95	0,06	1,95	1,39

Sumber: Persagi, 2009

3) Bawang hitam

Bawang hitam dibuat dengan proses pemanasan dari bawang putih china yang dipanaskan dengan menggunakan *rice cooker* dengan suhu 34-38°C selama 21 hari. Penentuan dosis bawang hitam berdasarkan penelitian (Miao *et al.*, 2014) mencampurkan 32,2 gram bawang hitam, diblender dengan air sebanyak 100 ml. Pemberian bawang hitam sebanyak 1,5 ml larutan tersebut signifikan dapat menurunkan kadar MDA. Hal ini dikarenakan pemberian bawang hitam pada tikus meningkatkan senyawa bioaktif dalam bawang hitam yang berperan sebagai antioksidan seperti *polifenol*, *ajoene* dan *s-allylcysteine* (SAC).

Jumlah dosis yang digunakan adalah $\frac{1,5}{100} \times 32,2 = 0,48$ gram sama dengan 480 mg. Perhitungan dosis bawang hitam dapat menggunakan

deret hitung yang diberikan pada tikus yaitu:

Dosis $\frac{1}{2}n$ = 240 mg ekor tikus

Dosis n = 480 mg ekor tikus

Dosis $2n$ = 960 mg ekor tikus

Kemudian, masing-masing dosis dilarutkan dengan air hingga mencapai volume 3 ml.

4) Bahan untuk pembedahan dan pemeriksaan

Bahan pembedahan hewan coba, berupa larutan kloroform sebanyak 80 ml.

5) Bahan untuk pemeriksaan MDA

- Larutan Trikloroasetat (TCA) 15%
- Hidrogen Klorida (HCl) 0,25 N
- Larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,37%

4.5.2 Alat Penelitian

- Pemeliharaan hewan coba
 - Bak plastik ukuran 31 cm x 23 cm x 10 cm
 - Tutup kandang tikus terbuat dari anyaman kawat dengan ukuran 33 cm x 25 cm dan luas lubang kawat 1 cm²
 - Botol air minum untuk tikus
 - Sekam yang bersih dan kering
- Pembuatan diet normal (PARS) tikus
 - Baskom plastik

- Timbangan digital dengan ketelitian 0,1 gram
 - Nampan
 - Sarung tangan
- c) Pembuatan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF)
- Spuit 10 ml
 - Gelas ukur 10 ml
 - Pengaduk
 - Mangkuk plastik
- d) Pembuatan larutan bawang hitam
- Timbangan digital merk Portable Scale SFC dengan ketelitian 0,01 gram
 - Baskom plastik
 - Gelas plastik
 - Gelas ukur 10 ml
 - *Mortar dan stamper*
- e) Alat pemberian dosis bawang hitam
- Sonde lambung
 - Gelas ukur 10 ml
- f) Pembiusan, pembedahan dan pengambilan sampel darah tikus
- Seperangkat alat bedah (gunting bedah dan papan bedah)
 - Ruang kaca
 - Spuit 5 ml
 - Kapas
 - Seperangkat tabung reaksi
 - Tabung vial

g) Pemeriksaan kadar MDA

- Tabung sentrifugasi

- Sput

- Mikropipet 100 μ

- Cuvet

- *Waterbath*

- Spektrofotometer stat fax 3300

h) Alat untuk hygiene dan sanitasi

- Tempat cuci tangan

- Sarung tangan

- Jas laboratorium

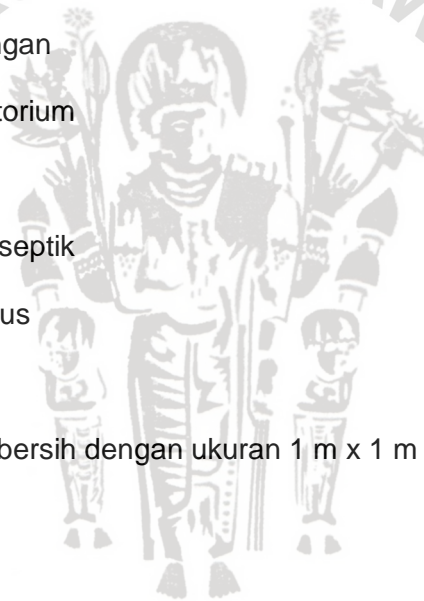
- Masker

- Sabun antiseptik

i) Penguburan tikus

- Sekop

- Kain putih bersih dengan ukuran 1 m x 1 m



4.6 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala
Dosis bawang hitam	Dosis bawang hitam yang diberikan pada tikus yaitu dosis $\frac{1}{2}$ n sebanyak 240 mg/ ekor tikus, dosis n sebanyak 480 mg/ ekor tikus, dosis 2n sebanyak 960 mg/ekor tikus dan ditambahkan air sampai 3ml. Bawang hitam sebelumnya dihaluskan dengan menggunakan <i>mortar dan stamper</i> , kemudian dibagi menjadi beberapa dosis sebagai perlakuan. Perlakuan ini diberikan selama 14 hari dengan menggunakan sonde lambung.	Rasio
Kadar MDA Serum	Senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh. MDA menunjukkan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas (Swastika, 2013). Pengukuran kadar MDA serum menggunakan metode TBARS dengan bahan yang digunakan Larutan Trikloroasetat (TCA) 15%, HCl 0,25 N, Larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,37% dan sampel darah hewan coba 200 μ l. Nilai normal kadar MDA dengan metode spektrofotometri adalah 1,04 \pm 0,43 μ mol/l (Irawan, 2013).	Rasio
Sonde Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa	Diet tinggi lemak dan fruktosa merupakan diet tambahan pada kelompok perlakuan yang diberikan secara sonde. Diet ini diberikan pada tikus agar menghasilkan tikus sindrom metabolik yang mengakibatkan terjadinya peningkatan profil lipid dan pembentukan radikal bebas pada tikus sehingga dapat meningkatkan kadar MDA pada tikus. Diet ini berisikan bahan dari minyak babi 2 ml/200mg BB tikus, kuning telur puyuh 1 ml/200g BB tikus dan fruktosa murni sebanyak 1 ml/200g BB tikus. Diet ini mengacu pada Octavia <i>et al</i> (2017).	-

Diet normal

Diet normal tikus comfeed PARS dengan bahan yang digunakan tepung terigu dan air yang diberikan kepada tikus secara *ad libitum* sebanyak 40 gram/tikus/hari pada semua kelompok selama masa adaptasi (7 hari) dan masa perlakuan (14 hari) (Supratiwi, 2015).

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Persiapan

4.7.1.1 Penyusunan Proposal Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, peneliti menyusun proposal penelitian terlebih dahulu sebagai syarat untuk melaksanakan penelitian.

Kemudian peneliti melakukan ujian proposal dari proposal yang telah disusun.

4.7.1.2 Pengajuan Etik

Penelitian ini dimulai dengan mengajukan proposal kelayakan etik (*ethical clearance*) untuk mendapatkan izin etik dalam melakukan penelitian dengan menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) jantan. Penelitian ini membuat tikus menjadi Sindrom Metabolik. Kemudian proposal ini diuji kelayakannya dan setelah proposal diterima, komite etik menerbitkan surat kelayakan etik sehingga peneliti dapat melakukan penelitian. Penelitian ini telah mendapatkan nomor etik 3577/EC/KEPK/10/2017. Surat keterangan kelayakan etik terlampir.

4.7.1.3 Pembelian Hewan Coba

Tikus putih jenis (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) jantan dibeli dari produsen yang beralamat di Jalan Sudimoro, Gang 6 no 25 RT 05/07, Kota

Malang. Pembelian dan pemilihan tikus disesuaikan dengan kriteria inklusi yang diinginkan.

4.7.1.4 Pembelian Bawang Hitam

Bawang hitam dibeli pada produsen yang beralamat di Jalan Aris Munandar, Kota Malang, Jawa Timur. Pembelian bawang hitam ini dikarenakan dalam proses pengolahan bawang hitam yang dilakukan produsen sudah sesuai dengan penelitian sebelumnya. Berdasarkan penelitian Choi *et al* (2014) proses pengolahan yang baik untuk memaksimalkan kandungan antioksidan dilakukan selama waktu 21 hari.

4.7.1.5 Persiapan Bawang Hitam

- 1) Mengupas kulit dan membersihkan bawang hitam yang telah dibeli.
- 2) Menghaluskan bawang menggunakan *mortar dan stamper* hingga halus.
- 3) Menimbang bawang hitam sesuai dosis yang dibutuhkan.
- 4) Menambahkan air pada setiap dosis bawang hitam hingga volume mencapai 3 ml, sehingga didapatkan:
 - a. Dosis I = 3 ml mengandung 240 mg bawang hitam
 - b. Dosis II = 3 ml mengandung 480 mg bawang hitam
 - c. Dosis III = 3 ml mengandung 960 mg bawang hitam

(Fadlia, 2011).

4.7.1.6 Persiapan Diet Hewan Coba

Diet normal serta diet tinggi lemak dan fruktosa dibuat di Laboratorium Penyelenggaraan Makanan FKUB. Diet normal tikus dibuat dengan cara:

- 1) Menimbang bahan yang dibutuhkan yaitu comfeed PARS, tepung terigu, dan air.
- 2) Mencampurkan comfeed PARS dan tepung terigu ke dalam baskom plastik.
- 3) Menambahkan air.
- 4) Mengaduk adonan hingga tercampur rata.
- 5) Membentuk adonan menjadi bulatan.
- 6) Menimbang adonan/ diet untuk tiap ekor tikus 40 gram

Sedangkan diet tinggi lemak dan fruktosa dibuat dengan cara:

- 1) Menyiapkan bahan yang dibutuhkan yaitu minyak babi, kuning telur puyuh, dan fruktosa murni.
- 2) Mengambil minyak babi sebanyak 2 ml/200g BB tikus, kuning telur puyuh 1 ml/200g BB tikus, dan fruktosa murni 1 ml/200g BB tikus menggunakan spuit 10 ml, kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur.
- 3) Mencampurkan bahan menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen (Octavia *et al.*, 2017).

4.7.2 Pelaksanaan Penelitian

4.7.2.1 Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba sebanyak 25 ekor tikus diletakkan dalam kandang yang terpisah dengan masing-masing kandang ditempati 5 ekor tikus.

Kemudian tikus diadaptasi selama 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan. Selama masa adaptasi tersebut, tikus diberi diet normal sebanyak 40 gram/tikus/hari dan minuman secara *ad libitum*.

Penimbangan berat badan dilakukan sebelum dan setelah adaptasi untuk memastikan berat badan tikus tidak mengalami penurunan secara signifikan.

4.7.2.2 Randomisasi Hewan Coba

Tikus yang menjadi sampel dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan berdasarkan *Simple Random Sampling* sehingga setiap kelompok tikus memiliki peluang yang sama. Tahapannya adalah sebagai berikut:

- Memberikan nomor urut pada masing-masing kandang tikus, mulai dari nomor urut 1 sampai dengan nomor urut 30.

Kandang ke-	Nomor	Kandang ke-	Nomor	Kandang ke-	Nomor
1.	206	11.	591	21.	798
2.	249	12.	604	22.	809
3.	252	13.	611	23.	817
4.	315	14.	647	24.	828
5.	342	15.	651	25.	837
6.	391	16.	654	26.	848
7.	432	17.	678	27.	857
8.	481	18.	704	28.	868
9.	527	19.	741	29.	923
10.	530	20.	759	30.	973

- Membuka aplikasi *Microsoft excel* dan memasukkan formula=`=RANDBETWEEN(111,999)` pada sel A1, kemudian klik enter dan drag sampai sel A30.

- Mengelompokkan angka hasil randomisasi dalam 5 kelompok. Sel A1-

A6 masuk ke dalam kelompok K1, sel A7-A12 kelompok K2, sel A13-A18 kelompok P1, sel A19-A24 kelompok P2, dan sel A25-A30 kelompok P3.

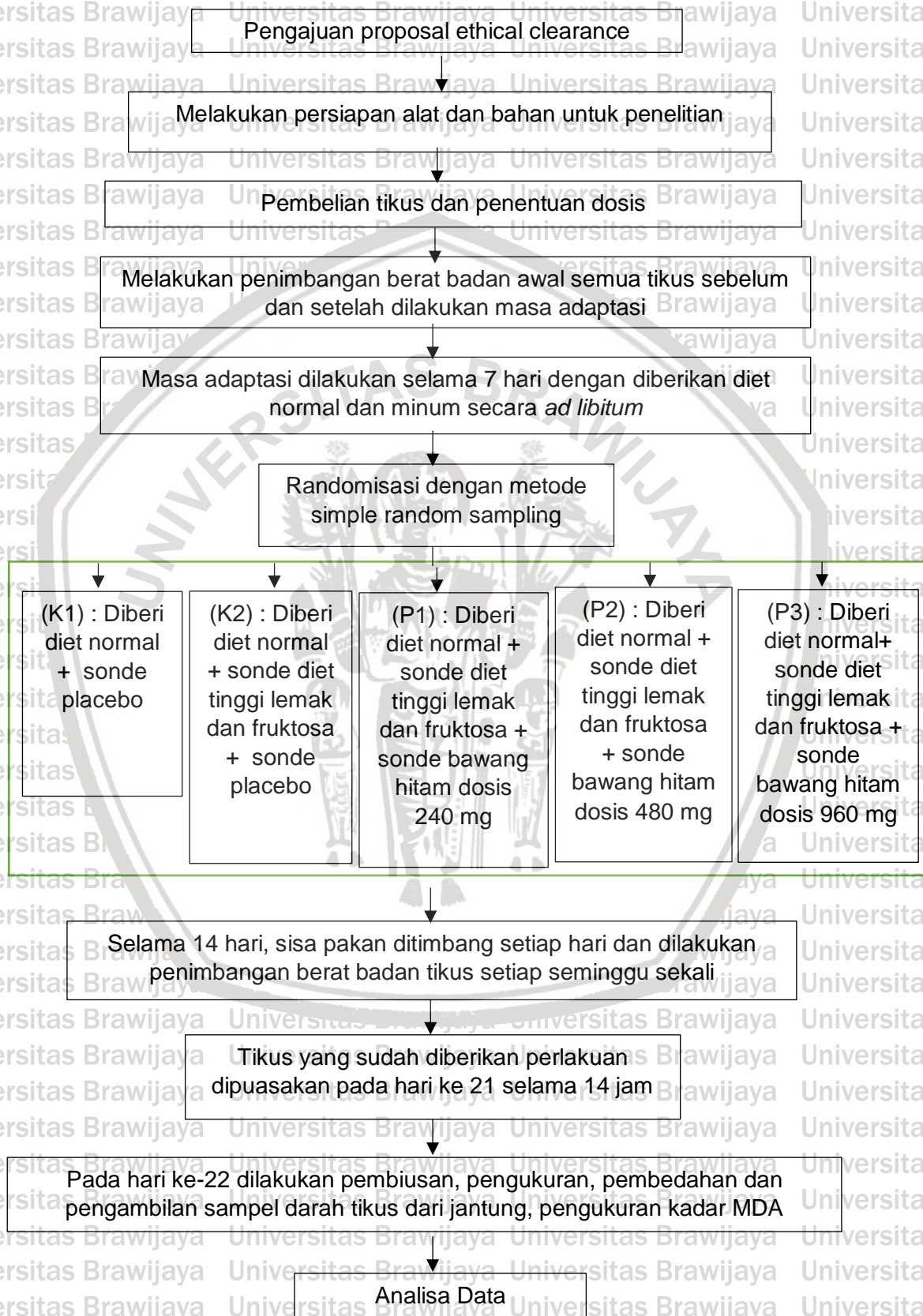
4.7.2.3 Pemberian Diet dan Bawang Hitam

- a) Kelompok kontrol negatif (K1) diberikan diet normal sebanyak 40 gram/tikus/hari pada semua kelompok tikus dan diberikan minum setiap hari secara *ad libitum*.
- b) Kelompok kontrol positif (K2) diberikan diet normal sebanyak 40 gram/tikus/hari secara *ad libitum* setiap hari dan diberikan diet tambahan berupa sonde diet tinggi lemak dan fruktosa pada pukul 09.00 WIB (Pritaningtyas, 2016). Sonde diet tinggi lemak dan fruktosa diberikan selama 14 hari karena berdasarkan hasil penelitian Octavia *et al* (2017) pemberian diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa pada tikus selama 14 hari dapat menginduksi tikus menjadi sindrom metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia, hipertrigliserida, dan memiliki HDL yang rendah (Octavia *et al.*, 2017). Total volume dalam satu kali pemberian adalah 4 ml (Pratiwi *et al.*, 2014).
- c) Kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberikan diet normal sebanyak 40 gram/tikus/hari secara *ad libitum* setiap hari dan diberikan diet tambahan berupa sonde diet tinggi lemak dan fruktosa pada pukul 09.00 WIB (Pritaningtyas, 2016). Kemudian diberikan sonde bawang hitam pada pukul 14.00 WIB sesuai dosis yaitu kelompok perlakuan P1 diberikan dosis sonde bawang hitam sebesar 240 mg, kelompok perlakuan P2 diberikan dengan dosis bawang hitam 480 mg, dan kelompok perlakuan P3 diberikan dosis

bawang hitam sebesar 960 mg. Masing-masing dosis bawang hitam dilarutkan dengan air hingga volume mencapai 3 ml. Hal ini karena jumlah sediaan normal tikus jika pelarutnya air tidak melampaui 4 ml/200 g BB sehingga tidak melebihi kapasitas maksimal lambung tikus (BPOM RI, 2014; Pratiwi *et al* 2014). Sonde bawang hitam diberikan 5 jam setelah pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa yang disesuaikan dengan waktu pengosongan lambung tikus yaitu 4 jam (Tarigan, 2001).

- d) Pada tikus kelompok kontrol negatif (K1) dan kelompok kontrol positif (K2) dilakukan penyondean plasebo berupa akuades untuk menyamakan tingkat stres akibat sonde yang dilakukan pada kelompok perlakuan. Sonde plasebo pada kelompok K1 dilakukan sebanyak 2 kali dan pada kelompok K2 dilakukan sonde plasebo sebanyak 1 kali (Pritaningtyas, 2016).

4.7.2.4 Alur Pelaksanaan Penelitian



Gambar 4.1 Alur Pelaksanaan Penelitian

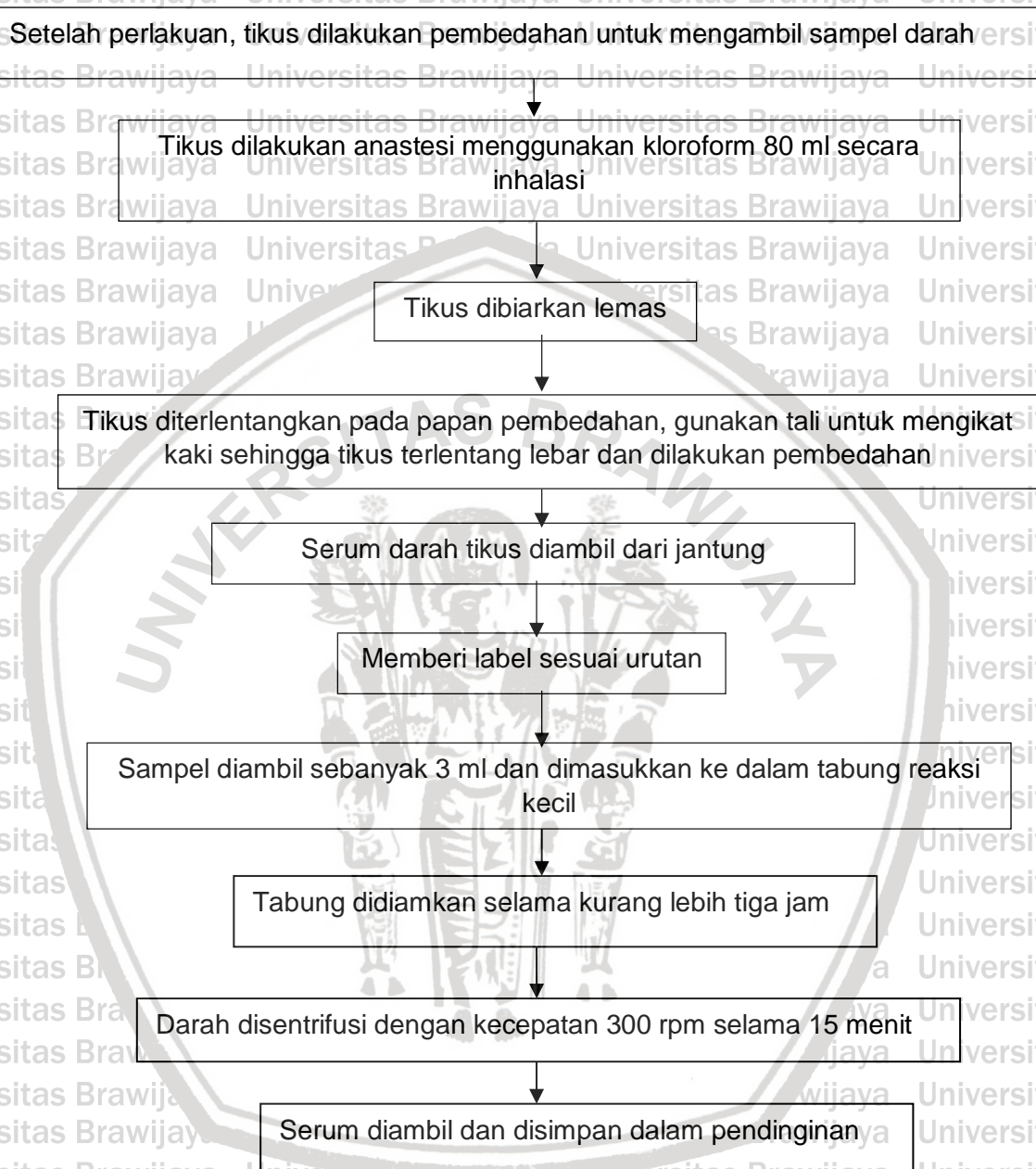
4.7.2.5 Pembiusan Hewan Coba

Pembiusan dilakukan pada hari ke-22, sebelumnya tikus dipuasakan selama 14 jam. Pembiusan dilakukan pada pukul 07.00 WIB secara inhalasi menggunakan kloroform sebanyak 80 ml. Kloroform dituangkan pada kapas dan diletakkan dalam ruang kaca. Kemudian tikus dimasukkan ke dalam ruang kaca tersebut dan ditutup rapat hingga tikus tidak sadarkan diri. Lalu dilakukan pembedahan pada tikus (Zulham, 2009; Gani *et al.*, 2013).

4.7.2.6 Pembedahan Tikus

Proses pembedahan tikus dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tikus yang sudah tidak sadarkan diri, direntangkan pada baki pembedahan. Kemudian dilakukan proses pembedahan oleh tenaga ahli/ laboran.

4.7.2.7 Pembedahan dan Pengambilan Serum



Sumber : Laboratorium Parasitologi FKUB

Gambar 4.2 Alur Pembedahan dan Pengambilan Serum

4.7.2.8 Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA serum dapat dilakukan dengan metode

TBARS dengan cara sebagai berikut:

- 1) Sampel darah yang telah di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit di ambil supernatannya (serum) sebanyak 200 μ l. Kemudian di masukan ke dalam tabung sentrifugasi yang kosong.
- 2) Menambahkan larutan trichloroacetic acid (TCA) 15% sebanyak 2000 μ l
- 3) Menambahkan larutan TBA 0,37% sebanyak 2000 μ l dan hidrogen klorida (HCL) 0,25 N
- 4) Kemudian panaskan dalam *waterbath* pada suhu 95^o selama 60 menit
- 5) Didinginkan pada suhu ruang di atas ice bath selama 15 menit.
- 6) Sentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm
- 7) Mengambil supernatant dan masukan ke dalam cuvet.
- 8) Membaca hasil dengan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 545 nm. (Dewi,2013)

4.7.2.9 Perlakuan Terakhir pada Tikus

- 1) Setelah dilakukan pembedahan dan pengambilan darah pada tikus.
- 2) Tubuh tikus yang telah dilakukan pembedahan dibersihkan dan dilakukan aseptik dengan alkohol 70%.
- 3) Kemudian mengubur tikus dengan kedalaman 60 cm.

4.8 Pengumpulan Data

- 1) Data berat badan tikus diperoleh dari hasil penimbangan yang dilakukan dua kali seminggu.
- 2) Data sisa pakan tikus diperoleh dari hasil penimbangan berat pakan awal diberikan dikurangi dengan berat pakan yang tersisa. Data ini digunakan untuk mengetahui konsumsi pakan pada tikus setiap hari.
- 3) Data kada MDA diperoleh dari pemeriksaan sampel.

4.9 Analisa Data

Setelah semua data telah diperoleh dilakukan analisa secara statistik dengan melakukan beberapa uji, sebagai berikut:

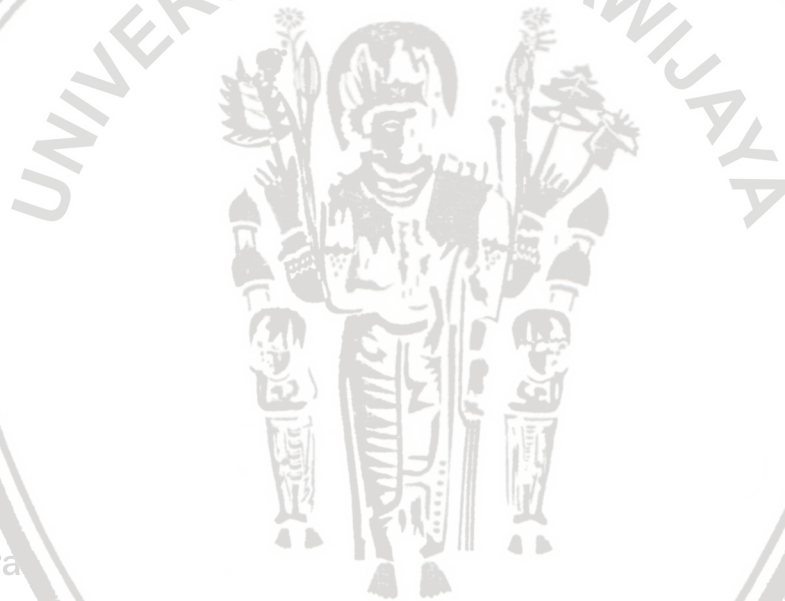
- 1) Pertama data dilakukan uji *Test of Homogeneity of Variance* untuk mengetahui bahwa semua data telah homogen.
- 2) Kemudian, dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk*.
- 3) Untuk mengetahui perbedaan berat badan awal, berat badan akhir dan penambahan berat badan antar kelompok dengan menggunakan uji *One-Way ANOVA*. Kemudian dilakukan uji lanjutan berupa uji *Post Hoc Tuckey*.
- 4) Untuk mengetahui perbedaan rata-rata asupan diet normal antar kelompok menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tuckey*.
- 5) Untuk mengetahui perbedaan sonde DTLF antar kelompok dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*.
- 6) Untuk mengetahui perbedaan rata-rata asupan energi dan

karbohidrat antar kelompok menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tuckey*.

7) Untuk mengetahui perbedaan rata-rata asupan lemak antar kelompok menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney*.

8) Untuk mengetahui perbedaan kadar MDA Serum antar kelompok menggunakan uji *One-Way ANOVA*.

Uji statistik ini dilakukan dengan tingkat keercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan dikatakan bermakna jika $p < 0,05$.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 25 ekor tikus yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing perlakuan terdiri dari K1(-)=5 ekor, K2(+)=5 ekor, P1=5 ekor, P2=5 ekor, P3=5 ekor. Hewan coba yang akan dilakukan pembagian kelompok memiliki kriteria inklusi dengan karakteristik sebagai berikut :

Tabel 5.1 Karakteristik Tikus

Karakteristik	K1	K2	P1	P2	P3
Jumlah	5	5	5	5	5
Jenis Tikus		Rattus norvegicus	strain wistar		
Jenis Kelamin	jantan	jantan	jantan	jantan	jantan
Umur	2-3 bulan	2-3 bulan	2-3 bulan	2-3 bulan	2-3 bulan
Warna Bulu	putih	putih	putih	putih	putih
Perlakuan	Diet normal dan 2 kali sonde plasebo	Diet normal dan sonde DTLF serta sonde plasebo	Diet normal dan sonde DTLF serta bawang hitam 240mg	Diet normal dan sonde DTLF serta bawang hitam 480mg	Diet normal dan sonde DTLF serta bawang hitam 960mg

Sebelum melakukan perlakuan pada hewan coba. Berat badan tikus diukur terlebih dahulu untuk melihat berat badan tikus sesuai dengan kriteria inklusi (150-200 g) yang telah ditentukan. Kemudian setiap hewan perlakuan dalam seminggu sekali dilakukan penimbangan berat badan tikus untuk menentukan berapa jumlah diet tinggi lemak dan tinggi fuktrosa (DTLF) yang harus diberikan pada tikus dan untuk mengetahui penambahan berat badan

tikus selama penelitian. Penambahan berat badan didapatkan dari rata-rata berat badan awal sebelum perlakuan dikurangi dengan rata-rata berat badan akhir setelah perlakuan hasil ditunjukkan pada tabel 5.2 dan gambar 5.1.

Tabel 5.2 Rata-Rata Berat Badan Tikus Selama Penelitian

Rata-rata berat badan tikus	Kelompok	Mean ± Standar Deviasi	p
Berat badan awal (gram)	K1	160.4 ± 12.05	0,032
	K2	153.2 ± 3.63	
	P1	173.2 ± 15.02	
	P2	166.4 ± 12.99	
	P3	175.2 ± 10.76	
Berat badan akhir (gram)	K1	210.6 ± 20.13	0.306
	K2	202.8 ± 13.50	
	P1	194.4 ± 25.32	
	P2	200.6 ± 6.69	
	P3	221.2 ± 27.99	
Penambahan berat badan (gram)	K1	50,20 ± 29,86	0,128
	K2	49,60 ± 12,44	
	P1	21,20 ± 18,56	
	P2	34,20 ± 10,49	
	P3	46,00 ± 19,92	

Berdasarkan Tabel 5.2 diketahui rata-rata berat badan awal tikus dengan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* didapatkan hasil data terdistribusi normal $p=0,066$ ($p>0,05$). Data yang sudah terdistribusi normal dilakukan uji homogenitas dengan hasil $p=0,452$ ($p>0,05$) menunjukkan bahwa data homogen. Hasil uji berat badan awal tikus dengan menggunakan uji *One-way ANOVA* didapatkan hasil $p=0,032$ ($p<0,05$) menunjukkan adanya perbedaan dari rata-rata berat badan awal tikus.

Kemudian rata-rata berat badan akhir tikus dilakukan uji statistik *Test of Normality* menggunakan uji *Shapiro Wilk* dengan nilai $p=0,143$ ($p>0,05$), hal ini menunjukkan bahwa hasil data terdistribusi normal. Sehingga dilanjutkan dengan uji homogenitas dengan hasil $p=0,265$ ($p>0,05$). Pada hasil uji *One-*

way ANOVA menunjukkan nilai $p=0,306$ ($p<0,05$) yang berarti tidak adanya perbedaan rata-rata berat badan akhir tikus.

Rata-rata penambahan berat badan tikus dari awal hingga akhir didapatkan hasil $p=0,744$ ($p>0,05$) diuji dengan uji statistik *Test of Normality* menggunakan uji *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan rata-rata penambahan berat badan menunjukkan data homogen dengan hasil $p=0,741$ ($p>0,05$). Hasil *One-way ANOVA* menunjukkan nilai $p=0,128$ ($p<0,05$) yang berarti tidak adanya perbedaan dari rata-rata penambahan berat badan tikus dari awal hingga akhir. Pada rata-rata berat badan awal, akhir dan penambahan berat badan ini menggunakan data mean \pm standar deviasi (SD) untuk mengetahui rata-rata penyimpangan data dari mean.

5.2 Asupan Pakan Tikus dan Zat Gizi Tikus

Asupan pakan tikus diberikan berupa pakan diet normal (PARS) dan sonde tambahan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF). Asupan sisa pakan tikus tersebut akan ditimbang untuk mengetahui jumlah asupan yang dikonsumsi tikus dalam sehari. Sehingga didapatkan rata-rata total asupan zat gizi PARS dan Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa (DTLF) pada setiap kelompok tikus ditunjukkan pada tabel 5.3 sebagai berikut:

Tabel 5.3 Rata-rata Asupan Pakan Normal (gram)

Kelompok	Rata-rata Asupan Normal (gram)	p
K1	34.5120 \pm 1.81 ^b	0.001
K2	29.1540 \pm 1.76 ^{a,b}	
P1	26.1900 \pm 1.49 ^a	
P2	25.4300 \pm 1.52 ^a	
P3	32.4500 \pm 0.93 ^b	

Keterangan : uji ANOVA (*Post hoc tuckey*) dalam sajian mean \pm standar deviasiasi dengan nilai signifikan $p<0,05$. Simbol statistik (^{a,b}) menunjukkan perbedaan pada $p<0,05$.

Berdasarkan tabel 5.3 rata-rata asupan pakan normal tikus menunjukkan data terdistribusi dengan uji *Shapiro Wilk* nilai $p=0,250$ ($p>0,05$) dan tergolong homogen dengan nilai $p=0,829$ ($p>0,05$). Kemudian dilakukan uji *One-way ANOVA* dengan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan pada rata-rata asupan pakan normal tikus selama perlakuan. Uji *Post-Hoc tuckey* dilakukan mengetahui kelompok mana saja yang saling berbeda makna. Setelah diuji hasil yang didapat adalah adanya perbedaan antara kelompok K1 dengan P1, K1 dan P2, P1 dan P3 serta P2 dan P3.

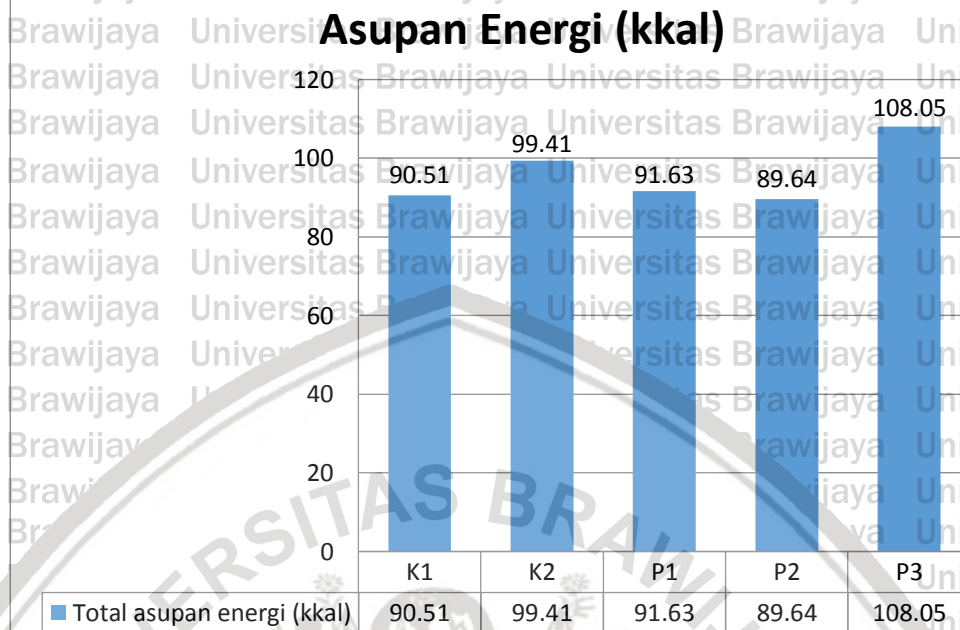
Tabel 5.4 Rata-rata Asupan Sonde Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa (ml)

Kelompok	Nilai Asupan Sonde DTLF (ml)			p
	Median	Minimal	Maksimal	
K2	4	4	4	0,775
P1	4	3	4,5	
P2	4	4	4	
P3	4	4	5	

Keterangan : uji Kruskal Wallis dengan nilai signifikan $p<0,05$

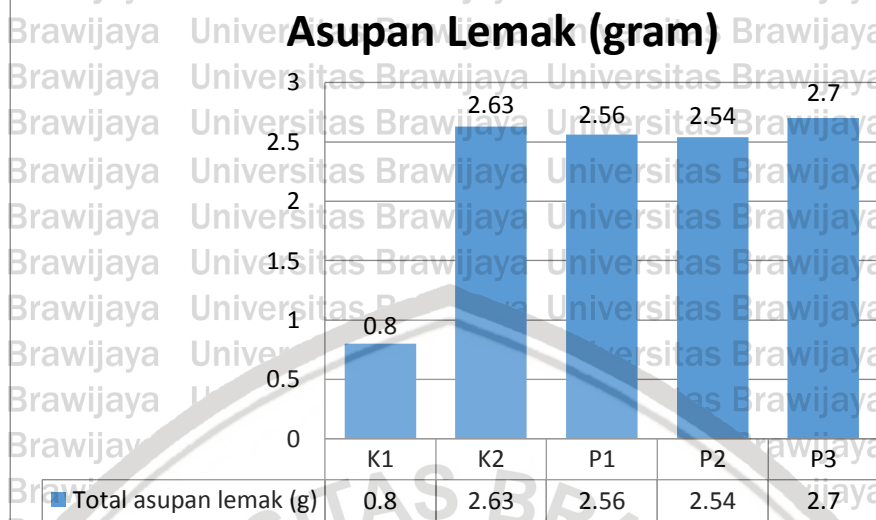
Rata-rata asupan DTLF pada tabel 5.4 menunjukkan data tidak terdistribusi normal dengan uji *Shapiro Wilk* $p=0,000$ ($p>0,05$) dan tergolong tidak homogen dengan nilai $p=0,034$ ($p>0,05$). Kemudian dilakukan uji beda dengan *Kruskal Wallis* didapatkan $p=0,775$ ($p>0,05$) yang menandakan bahwa tidak adanya perbedaan rata-rata asupan DTLF antar kelompok perlakuan.

Kandungan rata-rata total zat gizi asupan yang terdiri dari PARS dan DTLF pada hewan coba dapat dilihat pada pada gambar 5.1 sampai dengan 5.3 sebagai berikut :



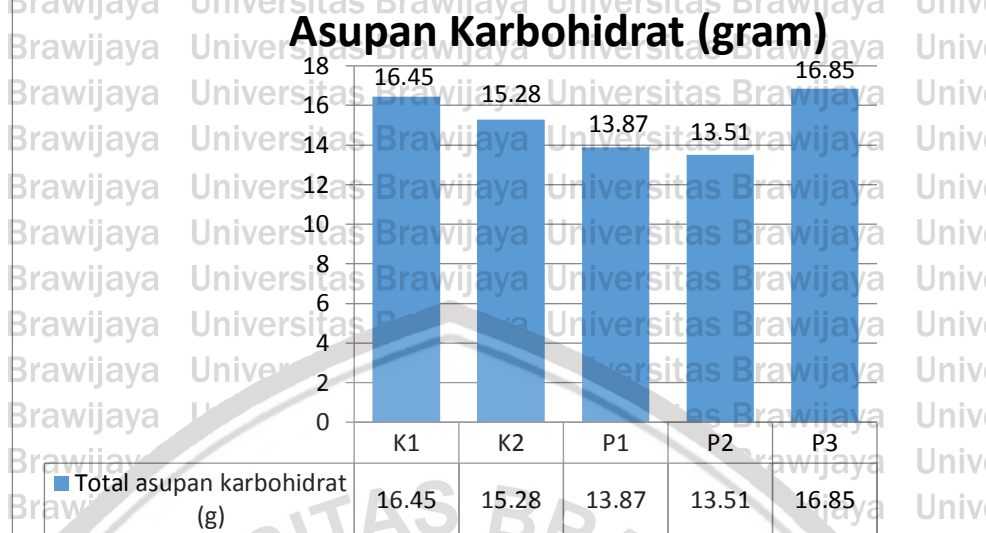
Gambar 5.1 Rata-rata Total Asupan Energi (kkal)

Berdasarkan hasil rata-rata total asupan energi yang terdiri dari asupan PARS dan sonde tambahan DTLF pada kelompok K1 sebesar 90,51 kkal, kelompok K2 sebesar 99,41 kkal, kelompok P1 sebesar 91,63, kelompok P2 sebesar 89,64 kkal dan kelompok P3 sebesar 108,05 kkal. Rata-rata total asupan energi ini dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* didapatkan nilai $p=0,218$ ($p>0,05$) menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p=0,829$ ($p>0,05$). Kemudian dilakuann uji beda dengan uji *One-Way ANOVA* didapatkan nilai $p=0,013$ ($p<0,05$) yang berarti terdapat perbedaan rata-rata asupan energi setiap kelompok. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Tuckey* yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok K1 dan P3 dengan nilai $p=0,031$ ($p<0,05$), P2 dan P3 dengan nilai $p=0,022$ ($p<0,05$).



Gambar 5.2 Rata-rata Total Asupan Lemak (gram)

Berdasarkan hasil rata-rata total asupan lemak yang terdiri dari asupan PARS dan sonde tambahan DTLF pada kelompok K1 sebesar 0,8 g, kelompok K2 sebesar 2,63 g, kelompok P1 sebesar 2,56 g, kelompok P2 sebesar 2,54 g, dan kelompok P3 sebesar 2,7 g. Rata-rata total asupan lemak ini dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dengan nilai $p=0,000$ ($p>0,05$) menunjukkan data tidak terdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p=0,818$ ($p>0,05$). Kemudian dilanjutkan uji beda dengan uji *Kruskal Wallis* dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) yang berarti adanya perbedaan rata-rata asupan lemak setiap kelompok. Sehingga dilakukan uji *Post-Hoc Mann Whitney* yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan K1 dan K2 dengan nilai $p=0,009$ ($p<0,05$), K1 dan P1 dengan nilai $p=0,009$ ($p<0,05$), K1 dan P2 dengan nilai $p=0,009$ ($p<0,05$), K1 dan P3 dengan nilai $p=0,009$ ($p<0,05$), P2 dan P3 dengan nilai $p=0,028$ ($p<0,05$).



Gambar 5.3 Rata-rata Total Asupan Karbohidrat (gram)

Berdasarkan hasil rata-rata total asupan karbohidrat yang terdiri dari asupan PARS dan sonde tambahan DTLF pada kelompok K1 sebesar 16,45 g, kelompok K2 sebesar 15,28 g, kelompok P1 sebesar 13,87 g, kelompok P2 sebesar 13,51 g, dan kelompok P3 sebesar 16,85 g. Rata-rata total asupan karbohidrat ini dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dengan nilai $p=0,626$ ($p>0,05$) menunjukkan data terdistribusi normal dan tergolong homogen dengan nilai $p=0,829$ ($p>0,05$). Kemudian dilakukan uji *One-Way ANOVA* dengan nilai $p=0,009$ ($p<0,05$) yang berarti adanya perbedaan terhadap rata-rata asupan karbohidrat setiap kelompok. Sehingga dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Tuckey* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan P1 dan P3 dengan nilai $p=0,048$, P2 dan P3 dengan nilai $p=0,022$ ($p<0,05$).

5.3 Kadar MDA Serum

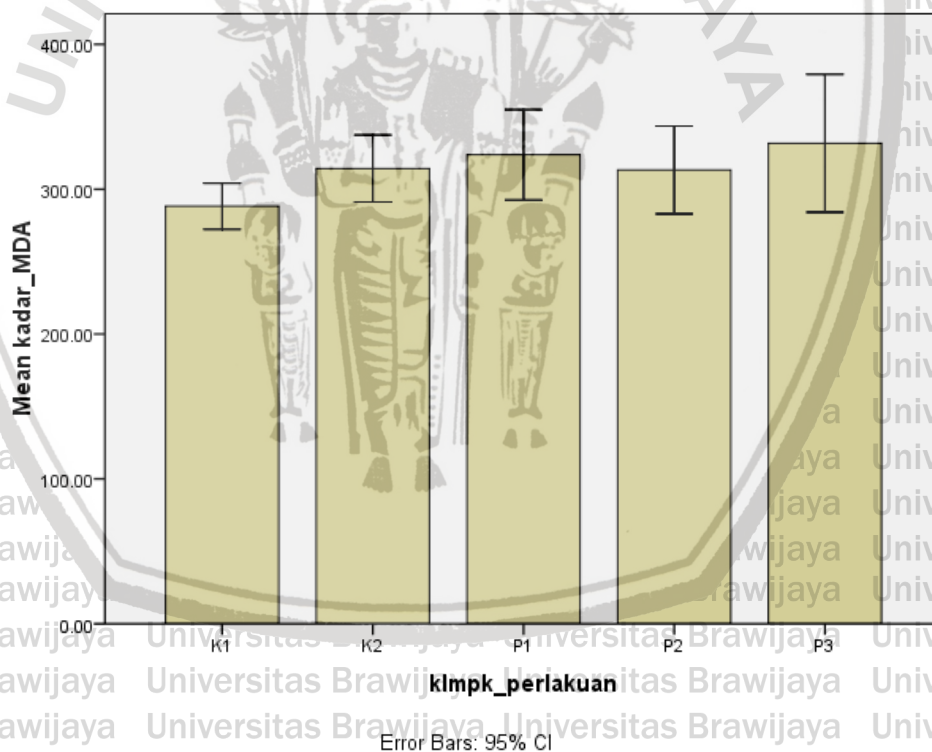
Kadar MDA serum didapatkan dari serum sampel hewan coba yang diberikan perlakuan selama 14 hari. Hasil kadar MDA diuji statistik *Test of*

Normality dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dimana dari uji tersebut menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan nilai $p=0,106$ ($p>0,05$).

Pada tahap selanjutnya dilakukan uji homogen dengan nilai $p=0,200$ ($p>0,05$) menunjukkan bahwa data homogen.

Tabel 5.8 Rata-rata Kadar MDA (ng/mL)

Kelompok	N	Rerata ± SD (ng/mL)	p
K1	5	288 ± 12.82	0.120
K2	5	314 ± 18.62	
P1	5	323 ± 25.51	
P2	5	313 ± 24.40	
P3	5	331 ± 38.36	



Gambar 5.4 Rata-rata Kadar MDA Serum (ng/mL)

Berdasarkan hasil tersebut, maka dilanjutkan uji komparatif menggunakan uji *One-way ANOVA* dengan nilai $p=0,120$ ($p>0,05$) menunjukkan bahwa tidak

terdapat perbedaan kadar MDA serum yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental* bersifat *Post Test*

Control Group Design. Subyek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini

adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) berumur 2-3 bulan dengan

berat badan tikus 150-200 g. Tikus jantan ini dipilih karena memiliki kesamaan

dengan manusia dan tidak memiliki pengaruh hormonal karena hanya memiliki

sedikit estrogen di dalam tubuh (Harini, 2009). Jumlah sampel yang digunakan

sebanyak 25 ekor tikus dalam 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing

perlakuan terdiri dari K1(-)=5 ekor, K2(+)=5 ekor, P1=5 ekor, P2=5 ekor, P3=5

ekor. Tikus yang menjadi hewan coba dipilih sesuai dengan kriteria inklusi yang

telah ditetapkan untuk mencegah terjadinya bias pada penelitian.

Perlakuan terhadap hewan coba ini dilakukan selama 21 hari. Sebelum

diberikan perlakuan, tikus dilakukan masa adaptasi terlebih dahulu selama 7 hari

dengan asupan pakan yang diberikan adalah diet normal berupa PARS.

Kemudian, hewan coba diberikan diet tambahan berupa sonde tinggi lemak dan

fruktosa (DTLF) selama 14 hari yang bertujuan untuk menghasilkan tikus sindrom

metabolik yang mengakibatkan terjadinya peningkatan profil lipid dan

mempengaruhi kadar MDA pada tikus (Octavia *et al.*,2017; Wongphoom *et al.*,

2015). Kemudian pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3) tikus juga diberikan

sonde bawang hitam yang bertujuan untuk mencegah peningkatan kadar MDA pada tikus.

Selama perlakuan tikus dilakukan penimbangan berat badan selama satu minggu sekali untuk mengetahui perubahan berat badan tikus. Perubahan berat badan tikus didapat dengan menghitung selisih penimbangan berat badan awal dan akhir tikus. Penimbangan berat badan tikus juga bertujuan untuk menentukan jumlah standar pakan tikus (Octavia *et al.*,2017).

6.2 Pengaruh Pemberian DTLF dan Bawang Hitam Terhadap Berat Badan

Berdasarkan hasil penimbangan rata-rata penambahan berat badan pada kelompok kontrol negatif (K1) yang tidak diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa tidak terdapat perbedaan dengan kelompok kontrol positif (K2) yang diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa. Hal ini menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dan fruktosa pada penelitian tidak ada perbedaan penambahan berat badan secara signifikan. Penelitian ini sesuai dengan penelitian Octavia *et al.*, (2017) bahwa tidak adanya perbedaan penambahan berat badan secara signifikan antar kelompok yang diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) dalam waktu 14 hari. Hal tersebut sama dengan penelitian Castilo *et al.*,(2012) diet tinggi lemak dan karbohidrat tidak signifikan meningkatkan berat badan tikus. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian Lozano *et al.*,(2016) bahwa pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa signifikan meningkatkan berat badan tikus. Pada penelitian Tranchida *et al.*,(2012) diet tinggi lemak jenuh dan fruktosa juga dapat meningkatkan berat badan tikus selama 30 minggu.

Pemberian asupan fruktosa secara berlebihan dan jangka panjang dapat menimbulkan efek adiksi dan resistensi leptin. Hormon leptin dapat mengatur keseimbangan energi dan berat badan melalui nukleus hipotalamus. Hormon leptin tersebut akan menurunkan asupan makan dan meningkatkan pengeluaran energi. Kemudian efek adiksi akan mempengaruhi peningkatan asupan energi akibat hilangnya signal kenyang pada otak dan berpengaruh terhadap peningkatan berat badan (Shapiro *et al.*, 2008 dan Teff *et al.*, 2004). Sedangkan pemberian diet tinggi lemak dapat menurunkan kadar leptin lebih banyak daripada pemberian diet tinggi karbohidrat sehingga dapat menyebabkan meningkatnya nafsu makan (James, 2005). Jika dilihat kelompok kontrol negatif (K1) yang hanya diberikan diet normal dengan kelompok kontrol positif (K2) yang diberikan sonde tambahan berupa DTLF tidak terdapat perbedaan penambahan berat badan. Namun kenyataannya berdasarkan hasil penelitian ini rata-rata asupan total energi antar kelompok kontrol negatif (K1) yang tidak diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) nilainya hampir sama dengan kelompok kontrol positif (K2) yang diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF). Hal ini dikarenakan asupan pakan diet normal tikus pada kelompok kontrol negatif (K1) lebih banyak. Besarnya asupan makan mempengaruhi besarnya asupan energi yang akan disimpan sebagai lemak dan berimplikasi pada penambahan berat badan pada tikus (Tsalissavrina *et al.*, 2006).

Berdasarkan hasil kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 yang diberikan diet PARS dan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa (DTLF) serta bawang hitam, lebih rendah penambahan berat badannya dibandingkan dengan kelompok K2 yang

tidak diberikan bawang hitam. Hal ini sama dengan penelitian Kim Inhye *et al.* (2011) bahwa ekstrak bawang hitam secara signifikan dapat menurunkan berat badan dan memiliki efek sebagai antiobesitas. Beberapa penelitian lainnya menyatakan bahwa pemberian bawang hitam secara signifikan dapat menurunkan berat badan (Chen *et al.*, 2014; Ha *et al.*, 2015; Chang *et al.*, 2016; Kimura *et al.*, 2016). Menghambatnya peningkatan berat badan pada penelitian ini disebabkan kandungan senyawa fenolik berupa kandungan polifenol yang ada pada bawang hitam. Kandungan polifenol pada bawang hitam lebih tinggi dibandingkan bawang putih. Efek dari kandungan polifenol yaitu menghambat lipase pankreas serta membantu mempercepat proses metabolisme untuk mengurangi lemak tubuh sehingga dapat menurunkan berat badan (Fernandes *et al.*, 2017 dan Rahmanisa, 2016).

6.3 Pengaruh DTLF dan Bawang Hitam Terhadap MDA Serum (ng/mL)

Hasil penelitian kadar MDA berdasarkan uji komparatif menggunakan *One-Way ANOVA* menunjukkan data tidak terdapat perbedaan. Namun jika dilihat rata-rata kadar MDA serum total antar kelompok kontrol negatif (K1) dengan nilai 288 ± 12.82 ng/mL lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif (K2) 314 ± 18.6 ng/mL. Hal ini dikarenakan kelompok K1 diberikan diet normal berupa PARS dan sonde plasebo berupa aquades sebanyak 2 kali yang dilakukan pada siang dan sore hari, sedangkan kelompok K2 diberikan diet PARS dan sonde tambahan berupa diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) serta sonde plasebo sebanyak 1 kali.

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa dengan pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) pada kelompok kontrol positif (K2) dapat meningkatkan kadar MDA dibandingkan kelompok K1 yang tidak diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF). Hal ini sama dengan penelitian Jarukamjorn *et al.* (2016) bahwa pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa selama 4-8 minggu dapat meningkatkan kadar MDA secara signifikan. Pada penelitian Senaphan *et al.* (2013) diet tinggi lemak dan karbohidrat dengan fruktosa dapat meningkatkan kadar MDA selama 16 minggu dan menyebabkan tikus menjadi sindrom metabolik. Keadaan ini menunjukkan bahwa DTLF memang dapat menyebabkan stres oksidatif dan meningkatkan kadar MDA.

Konsumsi asupan tinggi lemak dapat menyebabkan terjadinya *reactive oxidant species* (ROS) dan memicu terbentuknya radikal bebas. Produksi ROS dapat merubah asam lemak tak jenuh dalam membran lipid. Asam lemak tak jenuh dirubah oleh radikal bebas sehingga menyebabkan stres oksidatif atau peroksidasi lipid dan membentuk senyawa karbonil yaitu *malondialdehid* (MDA). Stres oksidatif akan merusak protein atau lemak tak jenuh dalam sel membran sehingga kadar MDA meningkat. Peningkatan kadar MDA bisa disebabkan oleh ketidakseimbangan antioksidan eksogen atau endogen di dalam tubuh sehingga menyebabkan stress oksidatif dan juga dapat terjadi karena perubahan fisiologi sistem imun yang disebabkan ketidakseimbangan antara sitokin proinflamaasi dan anti-inflamasi (Retno *et al.*, 2012 dan Rahardjani, 2010).

Pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberikan sonde bawang hitam untuk mencegah peningkatan kadar MDA karena telah diberikan diet tinggi lemak

dan fruktosa (DTLF). Namun berdasarkan hasil penelitian kelompok K2 yang tidak diberikan bawang hitam memiliki nilai kadar MDA lebih rendah dari kelompok perlakuan P1 323 ± 25.51 ng/mL, kelompok P2 313 ± 24.40 ng/mL dan kelompok P3 331 ± 38.36 ng/mL yang diberikan sonde bawang hitam. Keadaan ini berbeda dengan penelitian Xiong *et al*,(2018) pemberian bawang hitam seharusnya dapat menurunkan kadar MDA, disebabkan karena bawang hitam dapat meningkatkan *superoxide dismutase* (SOD) yang berperan untuk melindungi sel dari gangguan oksidan dan stres oksidatif. Selain itu penelitian Mostafa *et al*, (2013) menunjukkan kadar MDA menurun disebabkan pemberian ekstrak bawang hitam selama 8 minggu. Pada penelitian Wang *et al*,(2017) juga menyatakan hal yang sama bahwa pemberian bawang hitam dapat menurunkan kadar MDA .

Bawang hitam memiliki kandungan antioksidan seperti *S-allylcysteine* (SAC), polifenol dan flavonoid yang tinggi. Antioksidan merupakan molekul yang dapat menyumbang elektron ke radikal bebas dan menetralsinya sehingga dapat mengurangi atau menghambat sel yang rusak akibat radikal bebas. Sedangkan radikal bebas merupakan molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital atom. Elektron yang tidak berpasangan ini menghasilkan radikal yang tidak stabil dan reaktif. Radikal bebas dapat menyumbang atau menerima elektron dari molekul lain, sehingga radikal bebas bertindak sebagai oksidan atau reduktan. Target radikal bebas adalah lipid, asam nukleat dan protein (Lobo *et al*; 2010). Antioksidan pada bawang hitam berperan sebagai *free radical scavenger* yang dapat mencegah dan memperbaiki kerusakan yang disebabkan ROS (Huy *et al*,2008). Pencegahan ROS dapat dilakukan SAC dan polifenol dengan

menghambat enzim yang memproduksi superoksida dan *chelator* (Lenkova *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini kelompok P1, P2, dan P3 memiliki hasil kadar MDA lebih tinggi dibandingkan kelompok K2 yang tidak diberikan bawang hitam. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya waktu pemberian perlakuan bawang hitam selama 14 hari kemungkinan belum bisa memberikan pengaruh terhadap kadar MDA serum tikus. Apabila dibandingkan dengan penelitian Wang *et al.*,(2017) yang melakukan penelitian dengan ekstrak bawang hitam dapat menurunkan kadar MDA selama 20 hari dengan dosis 20 dan 40 mg/kg BB tikus. Sedangkan dalam penelitian Xiong *et al.*,(2018) kadar MDA menurun setelah diberikan ekstrak bawang hitam secara berturut-turut selama 30 hari. Kemudian Badkook M,(2013) yang melakukan penelitian tentang suplementasi bawang hitam 20 mg selama 45 hari dapat menurunkan kadar MDA serum pada tikus. Berdasarkan hal tersebut kemungkinan tingginya hasil kadar MDA terjadi karena waktu perlakuan bawang hitam yang diiberikan pada tikus kurang lama sehingga belum bisa memberikan efek mencegah kadar MDA terhadap hewan coba tikus.

6.4 Implikasi di Bidang Gizi

Berdasarkan hasil penelitian ini, bawang hitam belum terbukti mencegah peningkatan kadar MDA serum. Namun masih dapat digunakan sebagai bahan untuk penelitian selanjutnya. Penelitian ini dapat dilanjutkan pada bidang klinis seperti melakukan penelitian lebih lanjut terkait jumlah kadar antioksidan seperti

SAC, polifenol dan flavonoid pada bawang hitam dengan dosis 240 mg, 480 mg dan 960 mg.

6.5 Keterbatasan Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian kadar MDA serum menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan pada masing-masing kelompok perlakuan yang disebabkan dari keterbatasan dalam penelitian ini, antara lain:

- 1) Pada penelitian ini tidak dilakukan *pre-test* untuk mengetahui kadar MDA serum sebelum perlakuan sehingga tidak dapat mengetahui perbedaan antara kadar MDA serum sebelum dan sesudah perlakuan.
- 2) Waktu pemberian perlakuan bawang hitam terhadap tikus selama 14 hari kurang lama sehingga belum memberikan pengaruh mencegah terhadap kadar MDA serum.

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA serum pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan fruktosa, dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Tidak terdapat pengaruh pemberian bawang hitam terhadap kadar MDA serum pada tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan fruktosa.
- 2) Tidak terdapat pengaruh pemberian diet tinggi lemak dan fruktosa dan bawang hitam terhadap berat badan tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan.
- 3) Kadar MDA kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet normal berupa PARS sebesar $288 \pm 12,82$ ng/mL.
- 4) Kadar MDA kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa (DTLF) sebesar $314 \pm 18,62$ ng/mL.
- 5) Kadar MDA kelompok tikus putih (*Rattus norvegicus Strain Wistar*) jantan yang diberi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa dengan bawang hitam dosis I (240 mg) sebesar $323 \pm 25,51$ ng/mL, dosis II (480 mg) sebesar $313 \pm 24,41$, dosis III (960 mg) sebesar $331 \pm 38,36$ ng/mL.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, maka saran yang dapat diajukan yaitu:

- 1) Dalam penelitian selanjutnya, diperlukan penambahan jangka waktu yang lebih lama untuk pemberian bawang hitam agar memberikan pengaruh pada tikus putih jantan yang telah diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa.
- 2) Perlu dilakukan *pre-test* dalam penelitian selanjutnya untuk mengetahui perbedaan kadar MDA serum sebelum dan sesudah perlakuan.



DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini A., 2007. Pengaruh Jenis Dan Konsentrasi Antioksidan Terhadap Ketahanan Oksidasi Biodiesel Dari Jarak Pagar (*Jatropha Curcas*, L.). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Anwar T.B., 2004. Dislipidemia Sebagai Faktor Resiko Penyakit Jantung Koroner. *Artikel Research Gate*. Universitas Sumatera Utara, hal.1-9.
- Arkhaesi N., 2008. *Kadar Malondialdehyde (MDA) Serum Sebagai Indikator Prognosis Keluaran Pada Sepsis Neonatorum*. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Badkook M.M., 2018. Garlic Supplement, Probiotics Enriched Fermented Milk, And Their Combination: Effect On Glycemia, Dyslipidemia And Oxidative Status In STZ-Diabetic Rats. *Journal of Medical Nutrition and Nutraceuticals*, Vol. 2, Issue 2.
- Bae S. E., Cho S.Y., Won Y.D., Lee S.H., Park H.J., 2014. Changes in S-allyl cysteine Contents and Physicochemical Properties of Black Garlic During Heat Treatment, *Food Science and Technology SS* (397-402).
- Bantas K., Yosef H.K., & Moelyono B., 2007. Perbedaan Gender pada Kejadian Sindrom Metabolik pada Penduduk Perkotaan di Indonesia Urban Population, *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 7(5), 219-226.
- Belanger A.M., Charest A., Grenier G., Paquin P., Chouinard Y., Lemieux S., Counture P., Lamarche B., *et al.*, 2008. Study of the effect of trans fatty acids from ruminants on blood lipids and other risk factors for cardiovascular disease¹³. *Am J Clin Nutr*, 87:593-9.
- Bimandama M.A., dan Soleha T.U., 2016. Hubungan Sindrom Metabolik dengan Penyakit Kardiovaskular. *Majority*, Vol. 5, No. 2.
- Castilo J.L.B.; Trapala M.A.A.; Rojo I.E.J.; Lopez J.E.T.; Mendez J.D.; Mariscal H.A *et al.*, 2012. Differential Effects of High-Carbohydrate and High-Fat Diet Composition on Metabolic Control and Insulin Resistance in Normal Rats. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2012, 9, 1663-1676.
- Chang W.T., Shiao D.K., Cheng M.C., Tseng C.Y., Chen C.S., Wu M.F *et al.*, 2017. Black Garlic Ameliorates Obesity Induced By A High-Fat Diet In Rats. *Journal Of Food and Nutrition Research*, 2017, Vol. 5, No.10, 736-741.
- Choi, S.I.; Cha S.H.; Lee S.Y., 2014. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. *Molecules*, 19, 16811-16823.
- Chen Y.C., Kao T.H., Tseng C.Y., Chang W.T., Hsu C.L., 2014. Methanolic Extract Of Black Garlic Ameliorates Diet-Induced Obesity Via Regulating Adipogenesis, Adipokine Biosynthesis, And Lipolysis. *Journal Of Functional Food*. 98-108.

Danusantoso H., 2003. Peran Radikal Bebas Terhadap Beberapa Penyakit Paru
J Kedokteran Trisakti. Vol. 2, No. 1.

DeHoff R.M.C., Pepine C.J., 2007. Metabolic Syndrome and Cardiovascular
Disease: Challenges and Opportunities. *Clinical Cardiology*, Vol. 30. Issue.
12; 2 Juli: 593-597.

Dewi S., 2013. Pengaruh Pemberian Ubi Ungu (*Ipomoea Batatas L*) Terhadap
Kadar Malondialdehyde Serum Pada Tikus Wistar Yang Diberi Minyak
Goreng Pemanasan Berulang. Fakultas Kedokteran Universitas
Diponegoro, Semarang.

Dini C.Y., Sadewa A.H., Sunarti., 2015. *Pengaruh Tepung Labu Kuning (Cucurbita
moschata) Terhadap Ekspresi SREBP-1C Jaringan Hepar Dan Adiposa
Pada Tikus Model Dyslipidemia*. Fakultas Kedokteran Universitas Gajah
Mada, Yogyakarta.

Fadlia N., 2011. *Efek Diuresis Jus Terung Ungu (Solanum melongena L.)
Terhadap Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus)*. Skripsi. Tidak
Diterbitkan. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Fernandes I., Gregorio R.P., Soares S., Mateus N., Freitas V.D., 2017. Wine
Flavonoids In Healht And Diseasee Prevention. *Journal Molecules*, 2017.
22. 292.

Gani, N., Momuat, L.I., Pitoi, M.M. Profil lipida plasma tikus wistar yang
hiperkolesterolemia pada pemberian gedi merah (*Abelmoschus manihot
L.*). *Jurnal MIPA Unsrat Online 2*, 2013, (1) 44-49.

G R Thaman., and P. Arora G., 2013. Metabolic Syndrom : Definition and
Pathophysiology- the discussion goes on!. *Journal of Physiology and
Pharmacology Advance*; 3(3):48-56.

Halcox J., and Quyyumi A.A., 2006. Metabolic Syndrome: Overview and Current
Guidelines. Zafari A.M (Ed)., *Hospital Physician* p. 1-12.

Harini M., Astirin O.P., 2009. Blood Cholesterol Levels of Hypercholesterolemic
Rat (*Rattus norvegicus*) After VCO Treatment. *Nusantara Bioscience*,
Vol.1, No. 2, Pp. 53-58.

Ha A.W., Kim W.K., 2017. Antioxidant Mechanism of Black Garlic Extract Involving
Nuclear Factor Erythroid 2-like Factor 2 Pathway. *Nutrition Research and
Practice*, 11(3):206-213.

Ha A.W, Ying T., Kim W.K., 2015. The Effects of Black Garlic (*Allium Satvium*)
Extracts On Lipid Metabolism In Rats Fed A High Fat Diet. *Nutrition
Research and Practice*, 2015, 9(1):30-36.

Huy L.A.P., He H., Huy C.P., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and
Health. *International Journal Of Biomedical Science*, Vol.4, No.2.

Irawan R., 2013. *Hubungan Obesitas Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Plasma Pada Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter UIN Syarif Hidayatullah Jakarta 2013*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

James J.M., 2005. *Leptin: Strategies for Success in Weight management*.

Jarukamjorn K., Jearapong N., Pimson C., Chatuphonprasert W., 2016. A High Fat, High-Fructose Diet Induces Antioxidant Imbalance and Increases the Risk and Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice. *Research Article Scientifica*, ID 5029414.

Kamso S., Purwastyastuti., Lubis D.U., Juwita R., Robbi Y.K., dan Besral., 2011. Prevalensi dan Determinan Sindrom Metabolik pada Kelompok Eksekutif di Jakarta dan Sekitarnya. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, Vol. 6, No.2.

Kim I., Kim J.Y., Hwang Y.J., Hwang K.A., Om A.S., Kim J.H *et al.*, 2011. The Beneficial Effects of Aged Black Garlic Extract On Obesity And Hyperlipidemia In Rats Fed A High-Fat Diet. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 5 (14), pp. 3159-3168.

Kimura S., Tung Y.C., Pan M.H., Su N.W., Lai Y.J., Cheng K.C., 2017. Black Garlic: A Critical Review of Its Production, Bioactivity, And Application. *Journal Of Food and Drug Analysis*, 25 (2017), 62-70.

Laboratory Animal Centre National University of Singapore. 2007. *The Laboratory Mouse*. LAC-RCULA.

Laboratorium Farmakologi. 2013. *Diet Normal Pada Tikus*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Laboratorium Kawi 31. 2009. *Diagram Alir Pemeriksaan Kolesterol Darah Tikus*.

Laursen A.H., Kristiansen O.P., Marott J.L., Schnohr P., Prescott E., 2012. Intensity versus duration of physical activity: implications for the metabolic syndrome. A prospective cohort study. *BMJ Open*; 2: e001711.

Lee, M.Y; Gweon, C.O; Seo, J.Y; Im, J; Kang, J.M., *et al.* 2009. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, 3(2):156-161.

Lee K.C., Teng C.C., Shen C.H., Huang W.S., Lu C.C., Kuo H.C *et al.*, 2016. Protective Effect of Black Garlic Extracts On Tert-Butyl Hydroperoxide Induced Injury In Hepatocytes Via A C-Jun N-Terminal Kinase-Dependent Mechanism. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15, 2468-2474.

Lenkova M., Bystricka J., Toth T., Hrstkova M., 2016. Evaluation and comparison of the content of total polyphenols and antioxidant activity of selected

- species of the genus *Allium*. *Journal of Central European Agriculture*, 2016, 17(4), p.1119-1133.
- Liana L., 2011. *Pemberian Minuman Ekstrak Teh Hijau Suhu Hangat dan Suhu Dingin Menurunkan Kadar Malondialdehida (MDA) Serum Pada Tikus Dengan Tinggi Karbohidrat dan Tinggi Lemak*. Tesis.Tidak Diterbitkan. Universitas Udayana, Denpasar.
- Lobo V. Patil A., Phatak A., Chandra N., 2010. Free Radicals, Antioxidants And Functional Foods: Impact On Human Health. *Pharmacognosy Reviews*, 2010;4(8):118-126. doi:10.4103/0973-7847.70902.
- Lozano I., Werf R.V., Bietiger W., Seyfritz E., Peronet C., Pinget M., 2016. High fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition & Metabolism*, 13:15
- Limanan D., Prijanti A.R., 2013. Hantaran Sinyal Leptin dan Obesitas: Hubungannya dengan Penyakit Kardiovaskuler. Vol. 1, No. 2.
- Masri E., Utami F., 2016. Pola Makan, Status Keseimbangan Asam Basa dan Sindrom Metabolik. *SCIENTIA*, Vol. 6 , No. 2, Agustus:100-107.
- Miao, Y., Chen, J., Zhou, G., Xu, X., Zhang, Q., Wang, J., 2014. The antihypertensive effect of black garlic (*Allium sativum*) in spontaneously hypertensive rats via scavenging of free radicals. *RHN*, 2014, 2, 5–12.
- Mostafa R.M., Moustafa Y.M., Mirghani Z., Alkusayer G.M., Moustafa K.M., 2013. *Antioxidant effect of garlic (Allium sativum) and black seeds (Nigella sativa) in healthy postmenopausal women*. Mostafa R.M (Ed). SAGE Open Medicine.
- Mukhtar D., 2012. Makrofag pada Jaringan Adiposa Obes sebagai Penanda terjadinya Resistensi Insulin. Tahun 28. No. 317. Fakultas Kedokteran Universitas YARSI, Jakarta.
- Mushref M.A., and Srinivasan S., 2012. Effect of high fat-diet and obesity on gastrointestinal motility. *Annals of Translational Medicine*, 2013, 1(2) : 14.
- National Cholesterol Education Program., 2002. National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *NIH Publication*, No. 02-5215, September 2002.
- Nusa A.F.A., Adi A.C., 2013. Hubungan Faktor Perilaku, Frekuensi Konsumsi *Fast Food*, Diet dan Genetik dengan Tingkat Kelebihan Berat Badan. *Media Gizi Indonesia*, Vol. 9, No. 1, Januari-Juni: 20-27.
- Octavia, Z. F., Djamiatun, K., & Suci, N., 2017. Pengaruh pemberian yogurt sinbiotik tepung pisang tanduk terhadap profil lipid tikus sindrom metabolik. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 2017, 13(4): 159–169.

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. 2014. Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.

Prahastuti S., 2011. Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia. *JKM*, Vol. 10, No. 2, Februari: 173-189.

Pratiwi E.L., dan Noer E.R.I., 2014. Analisis Mutu Mikrobiologi Dan Uji Viskositas Formula Enteral Berbasis Labu Kuning (*Curcubita Moschata*) Dan Telur Bebek. *Journal of Nutrition College*, Vol.3, No. 4, Hal 951-957.

Pritaningtyas, R. 2016. *Pengaruh Pemberian Seduhan Tepung Kulit Pisang Kepok terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Putih (Rattus norvegicus) Strain Wistar Jantan yang Diberi Minyak Jelantah*. Tugas Akhir. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Puspitasari S., 2015. *Pengaruh Pemberian Pisang Kepok (Musa paradisiaca forma typical) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Tikus Sprague Dawley Pra-Sindrom Metabolik*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Rahardjani K.B., 2010. Hubungan antara Malondialdehyde (MDA) dengan Hasil Luaran Sepsis Neonatorum. *Sari Pediatri*, Vol. 12, No, 2.

Rahmanisa S., dan Wulandari R., 2016. Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Penurunan Berat Badan Pada Remaja. *Majority*, Vol. 5, No. 2. 106-111.

Ratnayanti I G. A. D., 2011. *Pemberian Growth Hormone Memperbaiki Profil Lipid dan Menurunkan Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Tikus Jantan yang Dislipidemia*. Tesis. Tidak Diterbitkan. Universitas Udayana, Denpasar.

Retno T., Widyastuti S K., Suarsana N., 2012. Pengaruh Pemberian Isoflavon terhadap Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus Normal. *Indonesia Medicus Veterinus* 2012 1(4) : 483 – 491

Rini S., 2015. Sindrom Metabolik. *J MAJORITY*, Vol. 4, No. 4, Februari; 88-93.

Riskesdas. 2013. Riset Kesehatan Dasar. Kementerian Kesehatan RI Tahun 2013.

Salima J., 2015. Antibacterial Activity of Garlic (*Allium sativum* L). *J Majority*. Vol. 4. No. 2.

Sasaki J., Lu C., Machiya E., Tanahashi M., Hamada K., 2007. Processed Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance Anti-Tumor Potency against Mouse Tumors. *Medicinal and Aromatic Journal of Plant Science and Biotechnology*, (2):278-281.

Sayuti K., Yennina R., 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Andalas University Press, Padang.

- Senaphan K., Boonla O., Timinkul A., Kukongviriyapan U., Pakdeechote P., Kukongviriyapan V. *et al.*, 2013. Effect of Ferulic Acid on High Carbohydrate, High-Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Srinagarind Med J*, 2013;28.
- Setiawan B., dan Suhartono E., 2007. Peroksidasi Lipid dan Penyakit Terkait Stres Oksidatif pada Bayi Prematur. *Maj Kedokt Indon*, Vol. 57, No.1.
- Setyawati P., 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Umi Bawang Putih dengan Lama Fermentasi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Shapiro A., Mu W., Roncal C.A., Cheng K.Y., Johnson R.J., Scarpace P.J., 2008. Fructose Induced Leptin Resistance Exacerbates Weight Gain Inresponse To Subsequent High Fat Feeding. *Am J Physiol Regul Intergr Comp Physiol*. R1370-75.
- Simanjuntak K., 2012. Peran Antioksidan Flavonid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya*, 2012; 23(3):135-140.
- Sugianti E., 2009. Faktor Risiko Obesitas Sentral pada Orang Dewasa di Sulawesi Utara, Gorontalo dan DKI Jakarta. Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suhaema., dan Masthalina H., 2015. Pola Konsumsi dengan Terjadinya Sindrom Metabolik di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, Vol. 9, No. 4.
- Supratiwi, R.I. 2015. *Analisis Kadar LDL (Low Density Lipoprotein) Serum Pada Tikus (Rattus norvegicus Galur Wistar) Jantan yang Diberi Diet Normal Standar PAR-S dan Diet Normal Standar AIN-93M*. Tugas Akhir. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Tarigan, P. 2001. *Tukak Gaster*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi IV Jilid I. Jakarta: Pusat Penerbitan Fakultas Kedokteran.
- Teff K.L., Keim N.L., Tschop M., Kieffer T.J., Rader D., Heiman M., *et al.*, 2004. Dietary Fructose Reduces Circulating Insulin And Leptin, Attenuates Post Prandial Suppression Of Ghrelin And Increases Triglycerides In Women. *J Clin Endocrinol Metab*. 89, 2963-72.
- Tranchida, F., Tchiakpe, L., Rakotoniaina, Z., Deyris, V., Ravion, O., Hiol, A., 2012. Long-term High Fructose and Saturated Fat Diet Affects Plasma Fatty Acid Profile In Rats. *Biomed & Biotechnol*. 13(4): 307- 317.
- Tsalissavrina I., Wahono D., Handayani D., 2006. Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Karbohidrat Dibandingkan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Trigliserida

dan HDL Darah Pada *Rattus Novergicus Galur Wistar*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 22, No.2.

Wang D., Feng Y., Liu J., Yan J., Wang M., Sasaki J., Lu C., et al., 2010. Black Garlic (*Allium sativum*) Extracts Enhance the Immune System. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 37-40.

Wang W., Sun Y., 2017. In Vitro And In Vivo Antioxidant Activities Of Polyphenol Extracted From Black Garlic. *Journal Food Science and Technology*. 37(4); 681-685.

Werdhasari A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol. 3, No. 2: 59-68.

Wijaya., Leonard W., Arifin., Johan., 2013. Pengaruh Pemberian Heparin Subkutan sebagai Profilaksis Trombosis Vena Dalam (TVD) terhadap Jumlah Trombosit pada Pasien Sakit Kritis di ICU RSUP DR Kariadi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.

Wijayati R., Rosyid A., 2015. Efek Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium Sativum* L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Wongphoom J et al., 2015. *Aloe Vera* Attenuates Oxidative Stress in Rats with Non alcoholic Steatohepatitis. *Thai J Gastroenterol* 2015 Vol.16, No.3, Sep-Dec 2015.

Wulandari M.Y., Isfandistri M.A., 2015. Kaitan Sindrom Metabolik dan Gaya Hidup dengan Gejala Komplikasi Mikrovaskuler. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, Vol. 1, No. 2, September: 224-233.

Xiong F., Dai C.H., Hou F.R., Zhu P.P., He R.H., Ma H.L., 2018. Study on the Ageing Method and Antioxidant Activity of Black Garlic Residues. *Czech J. Food Sci.*, 36, 2018 (1): 88–97.

Yadav N., Sharma S., 2016. Reactivr Oxygen Species, Oxidative stress and ROS scavenging system in plants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(5):595-604. ISSN : 0975-7384.

Yustika R.A., Aulanni'am., Prasetyawan S., 2013. Kadar Malondialdehid (Mda) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Pasca Induksi *Cylosporine-A*. *Kimia Student Journal*, Vol. 1, No. 2, pp. 222-228, 14 Januari.

Zaki I., Juhan A., Suci N., 2015. Pengaruh pemberian jus mangga terhadap profil lipid dan *malondialdehyde* pada tikus yang diberi minyak jelantah. *Jurnal Gizi Indonesia*, (ISSN : 1858-4942) Vol. 3, No. 2, Juni: 108-115.

Zulham. 2009. *Penuntun Praktikum Histoteknik*. Departemen Histologi FKUSU.