

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG UMBI PORANG
(*Amorphophallus muelleri*) TERHADAP KADAR RADIKAL
BEBAS PADA HEPAR DAN PLASMA DARAH
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

oleh:

**FAJAR DINIARI
0810910042-91**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG UMBI PORANG
(*Amorphophallus muelleri*) TERHADAP KADAR RADIKAL
BEBAS PADA HEPAR DAN PLASMA DARAH
TIKUS (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam bidang Biologi

oleh:
FAJAR DINIARI
0810910042-91



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG UMBI PORANG *(Amorphophallus muelleri)* TERHADAP KADAR RADIKAL BEBAS PADA HEPAR DAN PLASMA DARAH TIKUS (*Rattus norvegicus*)

oleh:
FAJAR DINIARI
0810910042-91

Telah dipertahankan di depan Majelis Pengaji
Pada tanggal 17 Juli 2012
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Biologi

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Sri Widayarti, M.Si.
NIP. 19670525 199103 2 001

Dr. Sri Rahayu, M.Kes.
NIP. 19620528 198701 2 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : FAJAR DINIARI

NIM : 0810910042-91

Jurusan : Biologi

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Tepung Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) Terhadap Kadar Radikal Bebas pada Hepar dan Plasma Darah Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri, dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka skripsi ini, semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 26 Juli 2012

Yang menyatakan,

Fajar Diniari
NIM. 0810910042

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipannya hanya dapat dilakukan sejauh penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



KATA PENGANTAR

Puji syukur bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul **Pengaruh Pemberian Tepung Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) terhadap Kadar Radikal Bebas pada Hepar dan Plasma Darah Tikus (*Rattus norvegicus*)** ini dapat diselesaikan dengan baik. Penyusunan skripsi ini banyak pihak yang telah membantu penulis. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Sri Widayati, M.Si. dan Dr. Sri Rahayu, M.Kes selaku dosen pembimbing skripsi, atas ilmu, koreksi, dan kesabaran dalam membimbing penyelesaian skripsi ini.
2. Drs. Sofy Permana, M.Sc., D.Sc selaku dosen penguji atas saran dan koreksi skripsi ini sehingga layak untuk diajukan sebagai syarat kelulusan penulis.
3. Widodo, MSi., PhD.MMed.Sc. selaku Ketua Jurusan Biologi.
4. I-MHERE Universitas Brawijaya melalui Staff Research Grant a.n Dr. Sri Rahayu, M.Kes dan Student Research Grant a.n A'liyatur Rosyidah dan Fajar Diniari atas bantuan dana penelitian.
5. Bapak, ibu, dan keempat kakak tercinta yang telah memberikan dukungan moril, spirituial, dan materiil secara jasmani dan rohani sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Laboran Laboratorium Fisiologi, Struktur dan Perkembangan Hewan serta Laboratorium Biologi Sel dan Molekuler Jurusan Biologi, beserta rekan satu tim atas kesediaannya membantu jalannya penelitian.
7. Arif Setiawan, teman-teman Biologi 2008, K.A 126 dan pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang senantiasa memberikan semangat dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan selanjutnya. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan semua pihak.

Malang, 26 Juli 2012

Penulis

**PENGARUH PEMBERIAN TEPUNG UMBI PORANG
(*Amorphophallus muelleri*) TERHADAP KADAR RADIKAL
BEbas PADA HEPAR DAN PLASMA DARAH**

TIKUS (*Rattus norvegicus*)

Fajar Diniari, Sri Widayarti, Sri Rahayu

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian tepung umbi porang terhadap kadar radikal bebas serta mengetahui perbedaan kadar radikal bebas hepar dan plasma darah tikus dengan pemberian tepung umbi porang yang berasal dari Sumber Baru, Klangon, dan Sumber Bendo. Pemberian tepung umbi porang dilakukan setiap hari secara oral selama 3 bulan dengan dosis 6 mg/100 gram berat badan tikus. Kadar radikal bebas dianalisa melalui pengukuran kadar *Malondialdehyde* (MDA) dengan menggunakan uji TBARS. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA ($\alpha < 0,05$) menggunakan SPSS 16.0 for Windows. Berdasarkan analisis statistik diketahui bahwa pemberian tepung umbi porang dapat meningkatkan kadar radikal bebas hepar dan plasma darah. Pemberian tepung umbi porang yang berasal dari Sumber Baru, Klangon, dan Sumber Bendo tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap peningkatan kadar radikal bebas hepar dan plasma darah. Kadar radikal bebas terendah pada hepar ($0,919 \pm 0,098$ mg/ml) terdapat pada tikus dengan pemberian umbi porang Sumber Baru sedangkan pada plasma darah ($0,997 \pm 0,202$ mg/ml) terdapat pada tikus dengan pemberian umbi porang Klangon.

Kata kunci: hepar, MDA, plasma darah, porang, radikal bebas

EFFECT OF PORANG TUBER FLOUR
(Amorphophallus muelleri) TO LIVER AND BLOOD PLASMA
FREE RADICAL OF RAT (*Rattus norvegicus*)

Fajar Diniari, Sri Widyarti, Sri Rahayu

Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural
Science, University of Brawijaya

ABSTRACT

The aim of this research is to know the effect of porang tuber flour to free radical levels and the differences of free radical in liver and in blood plasma. Porang taken from Sumber Baru, Klangon, and Sumber Bendo. Porang flour were given per oral (6 mg/ 100 g BW), daily for 3 months. The free radical was analyzed by measuring the Malondialdehyde (MDA) level using TBARS assay. The data were analyzed by ANOVA test ($\alpha < 0,05$) using SPSS 16.0 for Windows. Results show that tuber porang flour can increase the free radical in liver and in blood plasma. Porang tuber flour treatment from Sumber Baru, Klangon, and Sumber Bendo is not significant to liver and blood plasma free radical. The lowest liver free radical ($0,919 \pm 0,098$ mg/ ml) observed on rats that given porang tuber flour from Sumber Baru whereas the blood plasma ($0,997 \pm 0,202$ mg/ml) observed on rats that given porang tuber flour from Klangon.

Key words: **blood plasma, free radical, liver, MDA, porang**

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	2
1.3.Tujuan	2
1.4.Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1.Porang (<i>Amorphophallus muelleri</i>) dan Kandungannya	4
2.2.Toksisitas Garam-garam Oksalat	6
2.3.Hepar	7
2.4.Sintesis Oksalat Endogenus di Hepar	9
2.5.Plasma Darah	10
2.6.Radikal Bebas	10
2.7.Kerangka Berpikir	13
BAB III METODE PENELITIAN	15
3.1.Waktu dan Tempat	15
3.2.Prosedur Kerja Penelitian	15
3.2.1.Deskripsi Hewan Coba dan Estimasi Besar Sampel	15
3.2.2.Deskripsi Perlakuan dan Rancangan Percobaan	15
3.2.3.Pembuatan Larutan Porang	16
3.2.4.Pembuatan Larutan Kalsium Oksalat Sintetik	16
3.2.5.Perlakuan Hewan Coba	16
3.2.6.Analisis Kadar Radikal Bebas Menggunakan Metode TBARS	17
3.2.6.1.Pembuatan Kurva Standar MDA	17
3.2.6.2.Pengukuran Kadar MDA Plasma Darah	17
3.2.6.3.Pengukuran Kadar MDA Organ Hepar	17

3.2.7. Analisis Data.....	18
3.2.8. Skema Kerja Penelitian.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
BAB V PENUTUP	27
5.1.Kesimpulan	27
5.2.Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	34



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1.Porang (<i>Amorphophallus muelleri</i>)	4
Gambar 2.2.Komposisi kimia oksalat	6
Gambar 2.3.Anatomi hepar	8
Gambar 2.4.Struktur lobulus pada hepar	8
Gambar 2.5.Jalur biosintesis oksalat endogenus di hepar	10
Gambar 2.6.Kerangka Berpikir	14
Gambar 3.1.Skema Kerja Penelitian	19
Gambar 4.1.Kadar MDA plasma darah tikus pasca pemberian tepung umbi porang	20
Gambar 4.2.Kadar MDA hepar tikus pasca pemberian tepung umbi porang	21
Gambar L2.Kurva standar MDA	35



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Kadar Kalsium (Ca) Tepung Umbi Porang	34
Lampiran 2. Kurva Standar MDA	35
Lampiran 3. Hasil Uji Statistik Kadar MDA Hepar	36
Lampiran 4. Hasil Uji Statistik Kadar MDA Plasma Darah ...	38



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Porang (*Amorphophallus muelleri*) merupakan tanaman umbi yang termasuk dalam famili Araceae (Sumarwoto, 2005) dengan kadar glukomanan tinggi yaitu sekitar 67% (Wahyuni dkk, 2004). Glukomanan adalah suatu zat turunan karbohidrat yang sangat baik untuk kesehatan terutama untuk menurunkan obesitas (Keithley dan Swanson, 2005). Dalam bidang medis, glukomanan beserta turunannya digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol dan gula dalam darah, melancarkan kerja usus, dan fungsi imun (Vuksan *et al.*, 1999). Selain itu umbi porang memiliki banyak kandungan serat dan tidak mengandung kolesterol sehingga menjadi salah satu komoditi ekspor terutama di Jepang. Umbi porang di Jepang dimanfaatkan sebagai bahan pembuat konyaku dan shirataki serta sebagai pengganti agar-agar (Imelda dkk, 2008).

Selain mengandung glukomanan yang baik untuk kesehatan, porang mempunyai kandungan kalsium oksalat yang sangat tinggi seperti halnya kebanyakan tanaman dari famili Araceae (Nakata, 2003). Umbi porang mengandung kalsium oksalat yang dapat berbentuk kristal dan terdapat sekitar 85% pada tumbuhan (Li *et al.*, 2003). Menurut Holloway *et al.* (1989), oksalat dalam tanaman terdapat dalam bentuk terlarut (potassium oksalat, sodium oksalat dan ammonium oksalat) dan tidak terlarut (kalsium oksalat).

Oksalat dalam bahan makanan yang masuk ke dalam tubuh dapat berakibat buruk bagi kesehatan manusia (Noonan dan Savage, 1999) karena oksalat adalah antinutrien, bersifat toksik, dan dapat menyebabkan terbentuknya batu ginjal (Stamatelou *et al.*, 2003). Selain itu hewan ternak sering teracuni oleh kandungan oksalat yang tinggi pada beberapa tanaman seperti rhubarb dan tanaman padang rumput (Çaliskan, 2000). Asam oksalat dan kristal kalsium oksalat dalam jumlah tinggi dapat menyebabkan aberasi mekanik dari saluran pencernaan (Brown, 2000) serta meningkatkan produksi radikal bebas dalam sel epitel renal (Scheid *et al.*, 1996).

Semua bahan makanan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna akan dibawa melalui vena porta ke hepar setelah diserap oleh epitel usus. Oleh sebab itu, hepar menjadi organ yang

sangat potensial menderita keracunan sebelum organ lain (Robbin dan Kumar, 1995). Sampai saat ini belum ada penelitian yang menyebutkan bahwa metabolisme kalsium oksalat dapat terjadi di hepar.

Umbi porang yang tumbuh liar cenderung mengandung kadar kalsium oksalat yang lebih rendah daripada umbi porang yang tumbuh di lahan budidaya (Azrianingsih dkk, 2008). Besarnya kandungan kalsium oksalat dapat dipengaruhi oleh lingkungan pertumbuhan umbi porang, seperti suhu, curah hujan, prosentase penutupan gulma, dan pH tanah (Indriyani dkk, 2009). Sehingga diduga sampel umbi porang yang berasal dari daerah berbeda dapat menyebabkan perbedaan kadar radikal bebas pada organ.

Sampai saat ini belum ada penelitian mengenai pengaruh umbi porang terhadap radikal bebas pada hepar dan plasma darah. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka perlu dilakukan uji toksisitas umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) berdasarkan peningkatan radikal bebas hepar dan plasma darah hewan coba yang telah diberi umbi porang yang berasal dari ketiga daerah berbeda, dan sudah diuji karakter protein alergenitasnya.

1.2. Rumusan masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

- 1) Apakah pemberian tepung umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) dapat meningkatkan kadar radikal bebas pada hepar dan plasma darah tikus (*Rattus norvegicus*)?
- 2) Apakah terdapat perbedaan kadar radikal bebas pada hepar dan plasma darah tikus dengan pemberian tepung umbi porang yang berasal dari Sumber Baru, Klangon, dan Sumber Bendo?

1.3. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah

- 1) Mengetahui pengaruh pemberian tepung umbi porang terhadap peningkatan kadar radikal bebas hepar dan plasma darah tikus.
- 2) Mengetahui perbedaan kadar radikal bebas pada hepar dan plasma darah tikus dengan pemberian tepung umbi porang

yang berasal dari Sumber Baru, Klangon, dan Sumber Bendo.

1.4. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada masyarakat dan para ilmuwan, yaitu

1. Memberikan informasi mengenai gambaran pengaruh pemberian umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) terhadap kadar radikal bebas pada organ hepar dan plasma darah sehingga dapat dipakai sebagai landasan bagi penelitian lain yang berkaitan dengan toksisitas umbi porang.
2. Memberikan informasi mengenai keamanan pangan umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) sehingga dapat lebih dieksplorasi dan dimanfaatkan secara luas.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Porang (*Amorphophallus muelleri*) dan Kandungannya

Porang merupakan tanaman umbi (Gambar 2.1.b) yang termasuk dalam famili Araceae yang tumbuh pada ketinggian 1000 m di atas permukaan laut dengan suhu 25-35°C. Daun porang berwarna hijau muda hingga hijau tua dan tangkai daun mempunyai bercak putih kehijauan (Gambar 2.1.a) (Sumarwoto, 2005). Menurut Raharjo (2007) dalam Amalia (2010), bercak-bercak putih kehijauan pada tangkai daun porang berbentuk prisma dan ini yang membedakan dengan suweg. Menurut Sumarwoto (2005), ciri lain dari porang adalah adanya bulbil (katak atau umbi daun) yang terletak pada percabangan tulang daun dan anak daun serta di atas percabangan tangkai daun pada umbi batang. Bulbil ini berbentuk bulat simetris dengan permukaan halus-kasar serta berwarna coklat di bagian luarnya.



(a)



(b)

Gambar 2.1. Porang (*Amorphophallus muelleri*), (a) tanaman dewasa (Kozminski, 1997); (b) umbi (Sumarwoto, 2005)

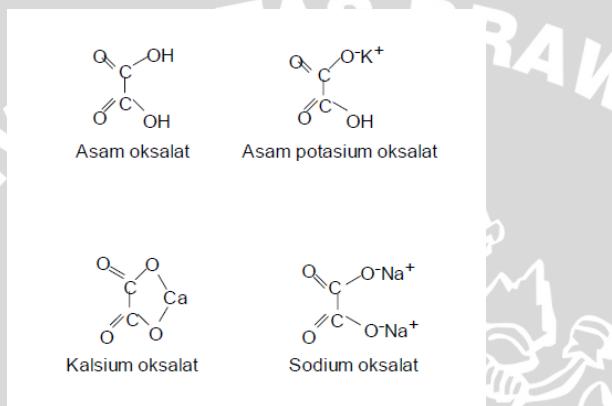
Klasifikasi porang menurut Govaert (2003) adalah :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Alismatales
Famili	: Araceae
Genus	: <i>Amorphophallus</i>
Spesies	: <i>A. muelleri</i> Blume

Porang (*Amorphophallus muelleri*) banyak dikembangkan di Indonesia karena kandungan glukomanannya yang tinggi, yakni sekitar 40% (Imelda dkk, 2008). Glukomanan memiliki beberapa kelebihan, diantaranya merupakan serat bersifat larut dalam air, tidak mengandung lemak gula, tepung atau protein, mengandung karbohidrat kompleks, tembus cahaya, dan bersifat seperti agar-agar dan tidak berbau, serta dapat disimpan di bawah suhu ruangan selama satu tahun (Sufiani, 1993). Beberapa kelebihan itulah yang membuat umbi porang menjadi komoditi ekspor terutama ke Jepang kurang lebih 3000 ton per tahun (Martanti dan Poerba, 2008). Di Negara Jepang, umbi porang dimanfaatkan sebagai bahan pembuat konyaku dan shirataki serta sebagai pengganti agar-agar (Imelda dkk, 2008). Potensial porang sangat baik jika dikembangkan di Indonesia karena mudah ditemukan dan mempunyai kadar glukomanan yang cukup tinggi (Jansen *et al.*, 1996 *dalam* Sumarwoto, 2004). Umbi porang mempunyai kandungan air sebanyak 83,3%; kalsium oksalat 0,19%; protein 0,92%; pati 7,65% (Arifin, 2001 *dalam* Amalia, 2010). Selain glukomanan, porang juga mengandung kalsium oksalat berbentuk kristal dan pada tumbuhan terdapat sekitar 85% kalsium oksalat yang terdeposit pada vakuola (Li *et al.*, 2003).

Sebagai anggota famili Araceae, porang mengandung asam oksalat yang didepositkan sebagai kristal kalsium oksalat (Bown, 2000). Kristal kalsium oksalat adalah persenyawaan antara kalsium dan asam oksalat yang tersebar pada berbagai organ tanaman, yaitu batang, daun, bunga, buah, biji (Franceschi dan Horner, 1980) dan umbi (Bradbury dan Nixon, 1998). Kristal kalsium oksalat juga berperan dalam penyimpanan dan penyerapan kembali kalsium pada kondisi tertentu, karena kalsium dibutuhkan pada saat pertumbuhan sel tanaman (Jansen *et al.*, 1996). Menurut Holloway *et al.* (1989),

oksalat di dalam tanaman terdapat dalam bentuk terlarut seperti potassium oksalat, sodium oksalat dan ammonium oksalat, serta dalam bentuk tak larut, seperti kalsium oksalat (Gambar 2.2). Terdapat 4 macam bentuk kristal kalsium oksalat pada umbi porang, yaitu 1) druse, 2) rafida pendek tersusun seperti kubus, 3) rafida pendek tersusun seperti serabut, dan 4) rafida panjang terusun seperti berkas memanjang (Indriyani, 2011).



Gambar 2.2. Komposisi kimia oksalat (Widodo, 2011)

2.2. Toksisitas Garam-garam Oksalat

Oksalat adalah suatu molekul dengan reaktifitas tinggi yang tersedia melimpah pada sebagian besar tumbuhan. Namun pada sel manusia, ketika oksalat berada pada jumlah berlebih maka dapat menyebabkan kerusakan oksidatif, penghabisan glutation, mengaktifkan sistem imun cascade inflamasi, dan bentukan kristal yang dihubungkan dengan penyakit batu ginjal. Umumnya tidak banyak oksalat yang diserap dari diet, tetapi tingkat penyerapan berhubungan dengan kondisi usus. Banyak literatur medis menyebutkan ketika usus terinflamasi maka kelebihan oksalat dari makanan yang dikonsumsi dapat diserap dari saluran gastrointestinal dan menjadi beresiko untuk sel-sel lainnya di dalam tubuh, meskipun penyerapan oksalat dari gastrointestinal tergolong rendah, yakni sekitar 10-15 % (Anonymous, 2011).

Garam oksalat dalam jumlah berlebih yang masuk ke dalam tubuh dapat berakibat buruk bagi kesehatan karena oksalat adalah

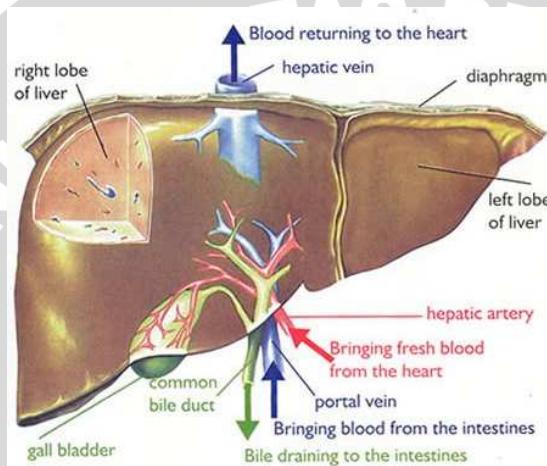
antinutrien yang mempengaruhi tidak tersedianya kalsium yang diperlukan bagi tubuh manusia, dan pada beberapa kasus hewan ternak dapat teracuni oleh tumbuhan yang mengandung oksalat (Nakata, 2003). Namun sebagian hewan ternak ruminansia mempunyai kemampuan untuk mendetoksifikasi oksalat dengan mengubahnya ke dalam bentuk karbonat dan bikarbonat dalam rumen. Hal itu yang menyebabkan hewan ternak ruminansia relatif lebih tahan terhadap toksitas oksalat (Andrews, 1971). Berlebihnya konsumsi oksalat dapat timbul dari makanan yang kaya oksalat dan dari prekursor utama metabolismik *glycollate*, *glyoxilate* dan asam askorbat yang dapat menyebabkan toksitas oksalat akut (Naseemaa, 2000). Menurut Selvam dan Kurien (1987), injeksi sodium oksalat dan kalsium oksalat pada intraperitoneal tikus dapat meningkatkan peroksidasi lipid, meningkatkan aktivitas SOD, serta menurunkan aktivitas katalase pada hepar.

2.3. Hepar

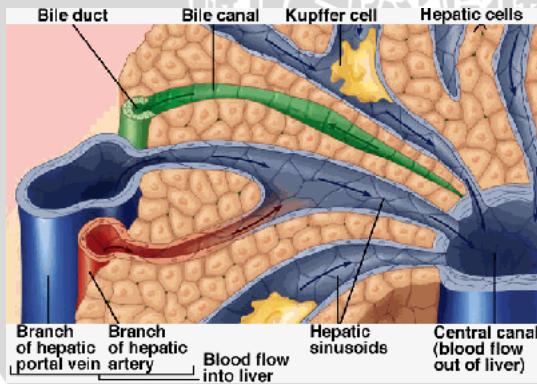
Semua bahan makanan yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran cerna akan dibawa melalui vena porta ke hepar setelah diserap oleh epitel usus (Robbin dan Kumar, 1995). Hepar menjadi perantara antara sistem pencernaan dan darah. Sekitar 70% - 80% darah di hepar berasal dari vena porta sedangkan sisanya berasal dari arteri hepatica. Dalam sistem sirkulasi, fungsi hepar adalah optimal untuk menampung, mengubah, dan mengumpulkan metabolit serta untuk menetralisir dan mengeluarkan bahan yang bersifat toksik (Junqueira *et al.*, 1995).

Hepar mempunyai dua lobus utama, yaitu lobus kanan dan lobus kiri (Gambar 2.3.). Komponen struktural utama hepar adalah hepatosit. Hepatosit berkelompok membentuk lempeng-lempeng yang saling berhubungan. Diantara lempeng tersebut terdapat celah yang mengandung kapiler yaitu sinusoid hepar (Gambar 2.4.). Sinusoid merupakan pembuluh yang melebar secara tidak teratur, terdiri dari sel-sel endotel bertingkap yang membentuk lapisan tidak utuh. Sel endotel dipisahkan dari hepatosit di bawahnya oleh celah subendotelial yang disebut celah Disse. Celah Disse mengandung mikrovili dari hepatosit. Hal ini yang menyebabkan cairan darah dapat dengan mudah mengalir melalui dinding endothel dan berhubungan langsung dengan permukaan hepatosit. Hal tersebut

memungkinkan pertukaran makromolekul dengan mudah dari lumen sinusoid menuju sel hepar dan sebaliknya. Selain itu sinusoid juga mengandung sel fagositik yaitu sel Kupffer (Junqueira *et al.*, 1995). Hepatosit menghasilkan berbagai protein plasma seperti albumin, protrombin, fibrinogen, dan lipoprotein. Protein-protein tersebut secara tetap dilepaskan hepatosit ke dalam aliran darah (Junqueira *et al.*, 1995).



Gambar 2.3. Anatomi hepar (Liverdoctor, 2012)

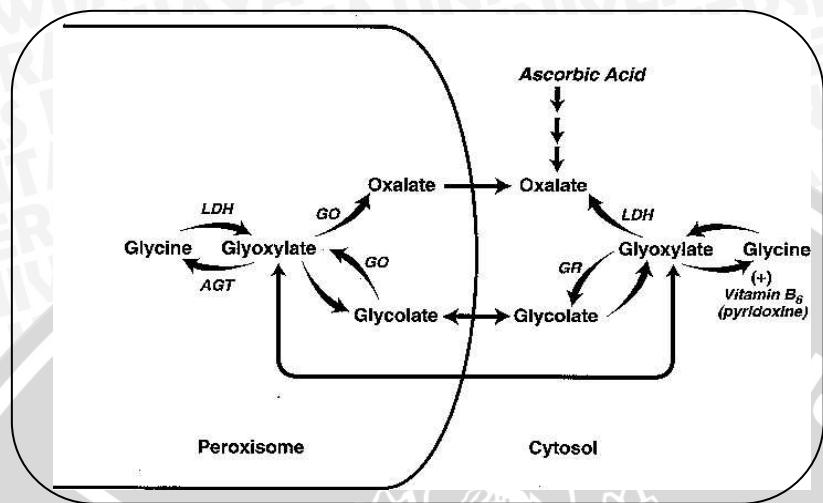


Gambar 2.4. Struktur lobulus pada hepar (Theencyclopediaofscience, 2012)

2.4. Sintesis Oksalat Endogenus di Hepar

Selain dari bahan makanan, oksalat dapat disintesis dari sumber endogenus sebagai tambahan terhadap penyerapan usus pada diet oksalat (Williams dan Smith, 1968). Hepar menjadi tempat utama dari sintesis oksalat endogenus (Fry dan Richardson, 1979 dalam Naseema, 2000). Oksalat endogenus secara alami dapat berasal dari metabolisme glisin, etanolamin, *glycoaldehyde*, *glyoxilate*, *glycollate*, serin, triptofan, hidroksiprolin, purin dan asam askorbat yang dapat meningkatkan ekskresi asam oksalat (Gambar 2.5.) (Williams and Smith, 1968). Terdapat dua enzim utama yang berperan penting dalam sintesis oksalat endogenus, yaitu *glycollic acid oxidase* (GAO) dan *lactate dehydrogenase* (LDH). *Glycollate* dapat diubah secara langsung menjadi oksalat oleh *dehidrogenase acid glycollic* (GAD) yang ada dalam hepar manusia dan tikus (Fry dan Richardson, 1979 dalam Naseema, 2000). *Glyoxylate* dioksidasi menjadi oksalat di dalam sitosol melalui LDH dan GAO di dalam peroxisomes (Naseemaa, 2000). *Glyoxylate* dapat dibentuk dari serin melalui dekarboksilasi membentuk *glycolaldehyde* yang kemudian dapat dikonversi menjadi asam oksalat. Reaksi ini dikatalis oleh *glycollic acid oxidase*. Ketika konsentrasi *glyoxylate* sangat tinggi itulah yang akan dikonversi menjadi asam oksalat (Weinhouse, 1955 dalam Naseemaa, 2000).

Prekursor utama produksi oksalat hepar adalah metabolisme *glyoxalate* dalam peroksisom hepar. Perubahan metabolismik ini diperantarai oleh enzim alanin-glyoxalate aminotransferase. Dalam keadaan normal, metabolisme *glyoxalate* menjadi *glycollate* dan glisin menentukan perubahan *glyoxalate* menjadi oksalat. *Glyoxalate* juga dimetabolisme menjadi *glycollate* oleh enzim D-glycerate dehydrogenase (Holmes and Assimos, 1998). Menurut Harambat *et al.* (2011), dilaporkan bahwa hepar juga memainkan peran penting dalam metabolisme *glyoxylate* dan oksalat pada penderita Hyperoxaluria Primer (PH) akibat kekurangan enzim hepar alanin-spesifik, yaitu glioksilat aminotransferase (AGT). AGT mengkatalisis glioksilat transaminase piruvat menjadi glisin kemudian dikonversi menjadi alanin, sedangkan GR / HR mengkatalisis reduksi glioksilat menjadi glikolat.



Gambar 2.5. Jalur biosintesis oksalat endogenus di hepar (Ruml *et al.*, 1997)

2.5. Plasma Darah

Darah adalah jaringan hidup yang bersirkulasi mengelilingi seluruh tubuh dengan perantara jaringan arteri, vena dan kapilaris. Darah berfungsi membawa nutrisi, oksigen, antibodi, elektrolit dan vitamin ke jaringan seluruh tubuh (WebMD, 2010). Darah sebagai sarana penyebaran bagi hormon, memungkinkan pertukaran pesan kimia antara organ-organ yang berjauhan untuk fungsi sel-sel yang normal. Darah juga berperan dalam mengatur suhu badan dan dalam keseimbangan asam basa dan keseimbangan osmosis (Junqueira *et al.*, 1995). Dua komponen utama darah adalah komponen padat (eritrosit, leukosit, trombosit) dan komponen cair (plasma darah). Plasma darah terdiri dari 90% air dan 7-8% protein (albumin, globulin, fibrinogen). Plasma darah juga mengandung beberapa komponen lain seperti garam-garam, karbohidrat, lipid, dan asam amino (ProImmune, 2009).

2.6. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang paling tidak sedikitnya terdapat satu elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan cenderung bereaksi

dengan molekul yang lain untuk mencari pasangannya elektronnya menjadi bentuk yang lebih stabil (Siswonoto, 2008). Radikal bebas dapat bereaksi dengan berbagai molekul, terutama lipid membran, protein dan DNA, sehingga dapat merubah struktur dan fungsinya, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel (Halliwell, 1991). Selain itu dapat pula terbentuk radikal baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya (Ivanova dan Ivanov, 2000).

Radikal bebas memiliki sifat reaktifitas yang tinggi dan cenderung membentuk radikal yang baru sehingga terjadi reaksi berantai dan akan berhenti apabila dapat diremed oleh antioksidan. Metabolit oksigen utama yang dihasilkan melalui reduksi satu elektron adalah *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS) yang terdiri dari superoksida (O_2^-), radikal bebas hidroksil (OH^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), serta radikal peroksil ($RCOO^-$). Semua molekul yang tergolong ROS merupakan oksidan kuat dengan derajat yang berbeda. Radikal hidroksil (OH^-) merupakan molekul yang paling reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid serta molekul lain sehingga dapat merubah struktur serta menimbulkan kerusakan jaringan (Halliwell, 1991). *Reaktif Oksigen Spesies* (ROS) yang dihasilkan dalam jumlah yang besar akan mengakibatkan timbulnya stress oksidatif. Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh (Trilaksani, 2003). Apabila senyawa-senyawa hasil ROS tidak diremed, maka oksigen akan berbalik menjadi racun bagi tubuh (Suryohudoyo, 2000).

Peroksidasi lipid khususnya asam lemak tak jenuh ganda merupakan suatu reaksi berantai radikal bebas. Reaksi tersebut dicetuskan oleh sebuah senyawa radikal bebas, yaitu radikal hidroksil (OH^-) yang mengekstraksi satu hidrogen dari lemak *polyunsaturated* (LH) sehingga terbentuk *Malondialdehyde* (MDA), *9-hidroksi-nonenal*, *etana* (C_2H_6) dan *pentana* (C_5H_{12}) suatu radikal bebas yang merupakan metabolit reaktif peroksidasi lipid sehingga dapat digunakan sebagai indeks peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid mengakibatkan gangguan pada fluiditas dan permeabilitas membran, kerusakan membran sel dan organela, kerusakan sitoskeleton, hambatan pada metabolisme sel dan gangguan transpor ion. Kerusakan mitokondria juga dapat terjadi

yang menyebabkan produksi ROS bertambah. Beberapa hasil dari peroksidasi lipid adalah MDA, HNE dan acrolein (Siswonoto, 2008).

Malondialdehyde (MDA) adalah suatu senyawa yang sangat reaktif yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid (De Zwart *et al.*, 1999) dan banyak digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan stres oksidatif (Siswonoto, 2008). MDA merupakan produk peroksidasi lipid yang relatif konstan terhadap proporsi peroksidasi lipid, sehingga merupakan indikator yang tepat untuk mengetahui kecepatan proses peroksidasi lipid *in vivo* (Janero, 1990; Cherubini *et al.*, 2005).

Zat-zat toksik dapat menginduksi pembentukan senyawa oksigen reaktif sehingga dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh jamak yang terdapat dalam lipid membran sel hepatosit (Jaeschke, 1995 ; Jaeschke *et al.*, 1999). Sumber utama ROS pada hepar ditunjukkan oleh mitokondria dan enzim sitokrom P450 di dalam hepatosit, melalui sel Kupffer dan neurotrofil (Cesaratto *et al.*, 2004).

Kalsium oksalat yang terkandung dalam makanan jika terakumulasi akan membentuk endapan kristal dalam ginjal (Jansen *et al.*, 1996). Akumulasi kalsium oksalat pada organ dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Kristal kalsium oksalat akan menginduksi kerusakan membran ginjal yang dimediasi oleh reaksi peroksidasi lipid sehingga menyebabkan timbulnya radikal bebas. Timbulnya radikal bebas dapat diketahui dari peningkatan kadar MDA yang merupakan salah satu produk dari peroksidasi lipid (Selvam, 2002). Pada kondisi hiperkalsinuria, akumulasi kalsium oksalat diatur oleh aktivitas *oxalate binding protein* yang bertindak sebagai penangkap dari nukleasi serta pengumpulan kalsium oksalat. *Oxalate binding protein* akan mengikat kalsium oksalat monohidrat yang ada di ginjal. Aktivitas *oxalate binding protein* berbanding lurus terhadap peningkatan peroksidasi lipid pada ginjal (Kalaiselvi dan Selvam, 2003).

Selain itu, oksalat dalam bentuk asam oksalat yang berasal dari metabolisme asam askorbat maupun dari sumber endogenus lainnya dapat membentuk radikal bebas melalui *oxalate oxidase pathway*. Dengan keberadaan oksigen, enzim *oxalate oxidase* akan mengkatalis konversi oksalat menjadi karbodioksida dan hidrogen peroksid (Winestrard *et al.*, 2009). Menurut Hoppe *et al.* (2005),

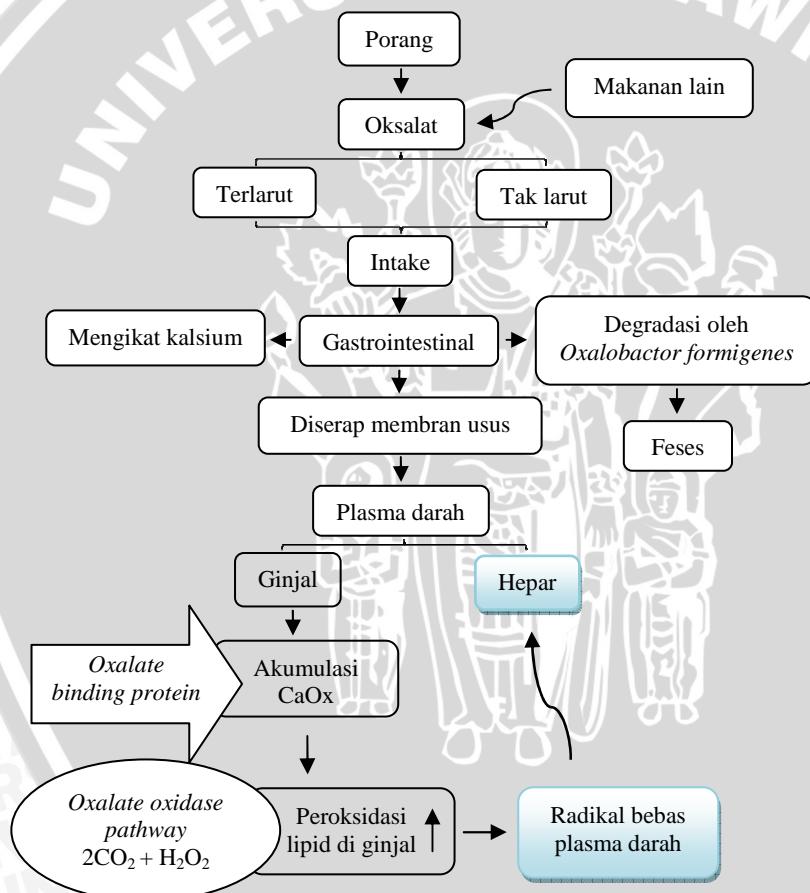
oxalate oxidase terutama digunakan dalam analisis klinis, seperti tes untuk pengukuran kadar oksalat dalam darah dan urin pada penderita hyperoxaluria.

Menurut Cherubini *et al.* (2005), pengukuran radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan, dikarenakan radikal bebas tidak menetap lama, mempunyai paruh waktu yang pendek dan menghilang dalam hitungan detik. Berbagai substansi biologis dikembangkan sebagai *biomarker* stres oksidatif. Substansi yang sudah dikenal dan banyak dipakai sebagai penanda biologis peroksidasi lipid dan stres oksidatif adalah *Malondialdehyd* (MDA). Menurut Punchard (1996), pengukuran kadar MDA dapat dilakukan dengan uji *thiobarbituric acid-reactive substance* (TBARS). Hal ini didasarkan pada reaksi spektrofotometrik sederhana, dimana satu molekul MDA akan terpecah menjadi 2 molekul 2-asam *thiobarbiturat*. TBA akan memberikan warna pink-chromogen yang dapat diperiksa secara spektrofotometri.

2.7. Kerangka Berpikir

Umbi porang mengandung oksalat dalam bentuk terlarut dan tak larut. Ketika oksalat tersebut masuk ke dalam tubuh bersama dengan oksalat dari makanan lain maka akan melalui saluran pencernaan dari lambung hingga usus sebelum dibawa ke hepar. Oksalat tersebut secara normal akan didegradasi oleh *Oxalobactor formigenes* di dalam saluran gastrointestinal. Oksalat terlarut yang didegradasi tersebut cenderung keluar dalam feses. Oksalat terlarut juga dapat mengikat kalsium yang dikonsumsi dari makanan ketika melewati lambung yang bersifat asam menuju usus yang bersifat alkali sehingga merubah konformasi oksalat menjadi bentuk tak larut. Namun, jika oksalat terlarut tidak dapat didegradasi atau mengikat kalsium yang dikonsumsi dari makanan, maka oksalat tersebut dapat diserap melalui membran usus. Setelah diserap dalam membran usus, oksalat akan dibawa darah menuju ginjal dan hepar. Pada ginjal akan terjadi akumulasi kalsium oksalat yang diatur oleh aktivitas *oxalate binding protein* yang bertindak sebagai penangkap dari nukleasi serta pengumpulan kalsium oksalat. Selain itu, oksalat dalam bentuk asam oksalat yang berasal dari metabolisme asam askorbat maupun dari sumber endogenus lainnya dapat membentuk radikal bebas melalui *oxalate oxidase pathway*. Dengan keberadaan

oksin, enzim *oxalate oxidase* akan mengkatalis konversi oksalat menjadi karbodioksida dan hidrogen peroksida. Sehingga akan meningkatkan peroksidasi lipid di ginjal. Peroksidasi lipid di ginjal akan dibawa darah sehingga diduga pecahan dari kalsium oksalat menjadi sebab terbentuknya radikal bebas plasma darah. Sampai saat ini belum ada literatur yang menyebutkan bahwa oksalat dapat dimetabolisme di hepar. Sehingga diduga terbentuknya radikal bebas hepar merupakan efek tidak langsung yang diakibatkan oleh radikal bebas ginjal yang dibawa oleh darah.



Gambar 2.6. Kerangka berpikir

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan September 2010 hingga Februari 2012, bertempat di Laboratorium Fisiologi, Struktur dan Perkembangan Hewan dan Laboratorium Biologi Sel dan Molekuler, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2. Prosedur Kerja Penelitian

3.2.1. Deskripsi Hewan Coba dan Estimasi Besar Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar umur 2-3 bulan, dalam keadaan sehat (bergerak aktif dan bulu tidak rontok), dengan berat badan 150-190 gram. Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 5 ulangan, sehingga dalam penelitian ini digunakan 25 ekor tikus.

3.2.2. Deskripsi Perlakuan dan Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan dengan 5 ulangan. Perlakuan terdiri dari kontrol negatif, kontrol positif, dan umbi porang yang berasal dari 3 daerah, yaitu Sumber Baru, Sumber Bendo, serta Klangon. Kontrol negatif diberi perlakuan dengan akuades sedangkan kontrol positif dengan kalsium oksalat sintetik.

Tikus dipelihara dalam kandang plastik dengan anyaman kawat sebagai penutup. Kandang ditempatkan dalam ruangan yang memiliki ventilasi dan mendapat cahaya matahari secara tak langsung. Tikus diaklimatisasi selama 2 minggu sebelum diberi perlakuan untuk menyesuaikan dengan kondisi laboratorium. Pemberian tepung porang dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde yang dilakukan setiap hari selama 3 bulan dengan dosis 6 mg/100 gram berat badan tikus. Dosis tersebut berdasarkan diet glukomanan minimal untuk manusia (Kraemer dkk, 2007). Parameter utama yang diamati adalah kadar radikal bebas dengan cara mengukur kadar Malondialdehida (MDA) pada organ hepar dan plasma darah tikus. MDA banyak digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid serta stres oksidatif karena

MDA adalah suatu senyawa yang sangat reaktif yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan suatu reaksi berantai radikal bebas.

3.2.3. Pembuatan Larutan Porang

Porang yang sudah berbentuk chips digerus dengan menggunakan mortar dan pestle hingga berbentuk tepung kemudian disaring dengan kain tipis. Masing-masing jenis porang ditimbang sesuai dengan dosis dan dimasukkan dalam *microtube*. Kemudian ditambahkan 1 ml akuades hangat dan dihomogenasi. Larutan porang selanjutnya dimasukkan dalam *syringe* 1 ml sesuai dengan dosis yang akan diberikan pada tikus.

3.2.4. Pembuatan Larutan Kalsium Oksalat Sintetik

Kalsium oksalat yang digunakan adalah kalsium oksalat sintetik (CaOx) dengan merk Nacalai tesque 95 % produksi Cina. Pemberian kalsium oksalat sintetik berdasarkan rata-rata kadar kalsium pada masing-masing umbi porang kemudian dikonversikan ke dalam dosis sonde tepung umbi porang (6 mg/100 gram berat badan tikus). Sehingga dosis kalsium oksalat sintetik menjadi 0,0018 mg/ 100 gram berat badan tikus. Kalsium oksalat sintetik dibuat stok larutan dengan cara melarutkan CaOx sintetik dengan akuades lalu dilakukan homogenasi dengan vortex. Larutan CaOx sintetik selanjutnya dimasukkan dalam *syringe* 1 ml sesuai dengan dosis yang akan diberikan pada tikus.

3.2.5. Perlakuan Hewan Coba

Berat badan tikus ditimbang setiap hari untuk mengetahui dosis larutan porang yang diberikan. Dosis yang digunakan adalah 6 mg/100 gram berat badan tikus. Pemberian tepung porang dilakukan setiap hari secara oral dengan menggunakan sonde yang dilakukan setiap hari selama 3 bulan, sedangkan kelompok kontrol negatif disonde dengan akuades dan kontrol positif disonde dengan kalsium oksalat sintetik. Setelah disonde, tikus diberi pakan dan minum setiap hari.

3.2.6. Analisis Kadar Radikal Bebas Menggunakan Metode TBARS

3.2.6.1. Pembuatan Kurva Standar MDA

Kit MDA dengan konsentrasi 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 mg/mL diambil masing-masing 100 μL , dimasukkan dalam *microtube* yang berbeda, kemudian ditambahkan 550 μL aquades. Masing-masing *microtube* yang berisi sampel tersebut ditambahkan 100 μL TCA 100 %, 250 μL HCl 1N dan 100 μL Na-Thio 1 %, kemudian dihomogenkan dengan vortex. Sampel kemudian diinkubasi dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 30 menit. Setelah itu, didinginkan pada suhu ruangan. Larutan standar kemudian dibaca pada panjang gelombang maksimum (533 nm) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar MDA dibuat dengan membuat persamaan regresi antara absorbansi dan konsentrasi MDA.

3.2.6.2. Pengukuran Kadar MDA Plasma Darah

Pengukuran kadar MDA plasma darah tikus berdasarkan NWLSS™ Malondialdehyde Assay yang telah dimodifikasi. Tikus didislokasi leher, direntangkan pada papan paraffin dan dilakukan *sectio*. Darah dari jantung diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan spuit kemudian dimasukkan ke dalam tabung appendorf yang berisi 0.05 gram EDTA, dan dihomogenkan. Plasma darah diambil sebanyak 100 μL dan dilarutkan dengan 900 μL buffer tris pH 7 kemudian divortex. Ditambahkan TCA 100 % sebanyak 50 μL dan HCl 1 N sebanyak 125 μL kemudian divortex. Setelah homogen sampel disentrifugasi pada 1800 rpm dengan suhu 4 °C selama 20 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan dimasukkan dalam *microtube* serta ditambah 50 μL Na-Thio 1 % kemudian divortex. Sampel kemudian dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 100 °C selama 30 menit. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang. Nilai absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimum (533 nm).

3.2.6.3. Pengukuran Kadar MDA Organ Hepar

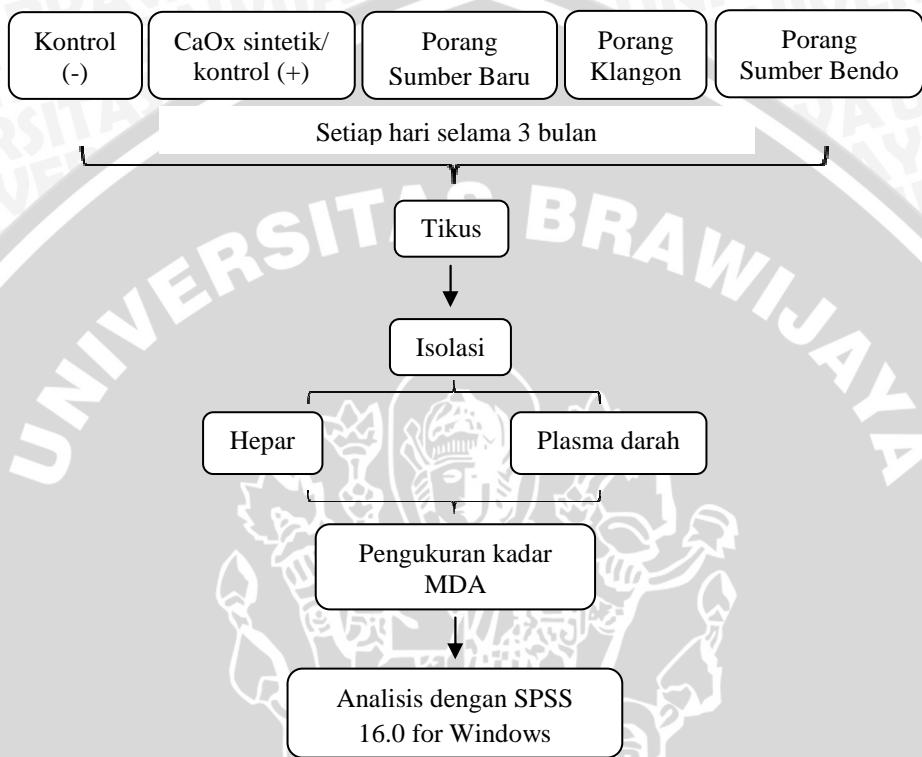
Pengukuran kadar MDA organ hepar tikus berdasarkan NWLSS™ Malondialdehyde Assay yang telah dimodifikasi. Hepar tikus diisolasi dengan terlebih dahulu melakukan *sectio* pada hewan coba. Tikus didislokasi leher, direntangkan pada papan paraffin dan dilakukan *sectio* pada bagian abdominal kemudian diisolasi organ

hepar lobus kanan. Hepar dibilas dengan larutan PBS hingga sisa darah hilang. Sampel organ hepar segar diambil sebanyak 0,2 gram dan digerus pada mortar dingin dengan menambahkan 500 μL *buffer tris* dengan pH 7. Hasil gerusan dimasukkan ke dalam *microtube* dan disentrifugasi pada 1800 rpm dengan suhu 4 °C selama 20 menit. Diambil supernatan hasil sentrifugasi sebanyak 100 μL dan dimasukkan dalam *microtube* serta ditambah dengan 100 μL aquades dan 100 μL TCA 100 %. Sampel dihomogenkan dengan vortex, selanjutnya ditambah dengan 250 μL HCl 1N dan dihomogenkan kembali dengan vortex. Sampel disentrifugasi pada 1800 rpm dengan suhu 4 °C selama 20 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan dimasukkan dalam *microtube* serta ditambah 100 μL *Na-Thio* 1 %, dihomogenkan. Sampel kemudian dipanaskan dalam penangas air pada suhu 100 °C selama 30 menit. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang. Nilai absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang maksimum (533 nm).

3.2.7. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA selang kepercayaan 95%. Data yang digunakan berupa kadar MDA pada organ hepar dan plasma darah tikus. Apabila terdapat beda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Tukey HSD. Analisis data menggunakan program SPSS 16.0 for Windows.

3.2.8. Skema Kerja Penelitian

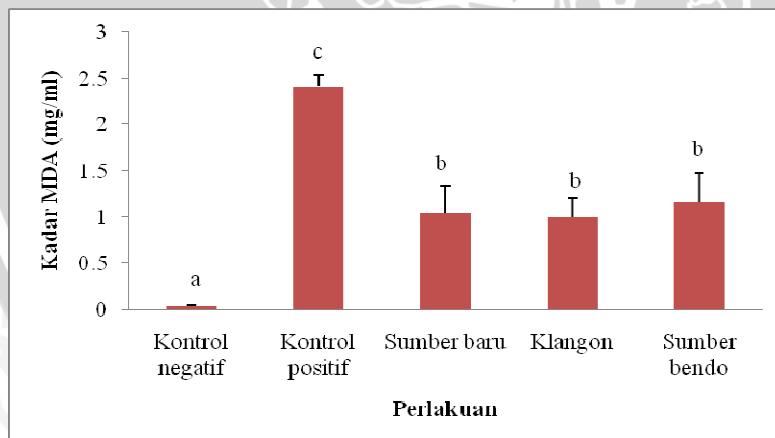


Gambar 3.1. Skema kerja penelitian

BAB IV

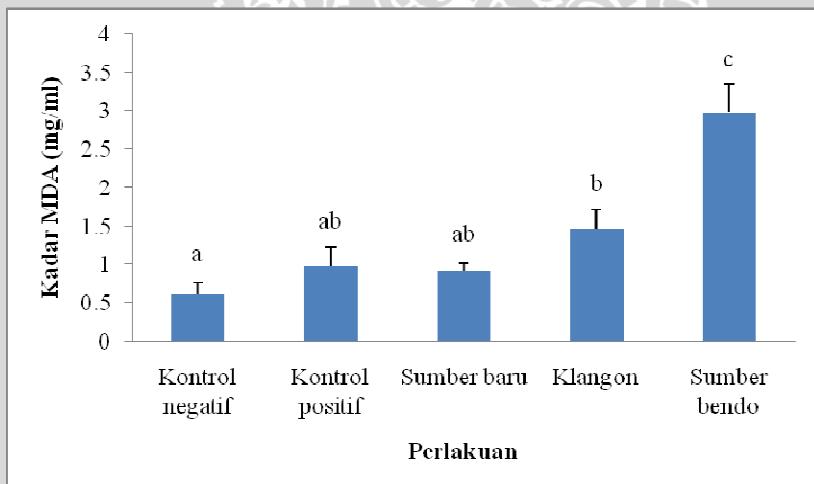
HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan data yang diperoleh diketahui bahwa pemberian tepung umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) dapat meningkatkan kadar radikal bebas plasma darah tikus (Gambar 4.1). Plasma darah pada perlakuan kontrol positif dan perlakuan umbi porang yang berasal dari ketiga daerah berbeda mempunyai kadar radikal bebas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif. Diantara kelima perlakuan, rata-rata kadar radikal bebas plasma darah tikus yang paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol negatif sebesar $0,045 \pm 0,009$ mg/ ml. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Sumber Baru lebih tinggi daripada kontrol negatif, yakni sebesar $1,051 \pm 0,292$ mg/ ml. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Sumber Bendo lebih tinggi daripada kontrol negatif, yakni sebesar $1,166 \pm 0,311$ mg/ ml. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Klangon lebih tinggi daripada kontrol negatif, yakni sebesar $0,997 \pm 0,202$ mg/ ml. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung umbi porang dapat meningkatkan kadar radikal bebas plasma darah tikus tanpa melihat daerah asal umbi porang.



Gambar 4.1. Kadar MDA plasma darah tikus pasca pemberian tepung umbi porang

Plasma darah pada perlakuan umbi porang yang mempunyai kadar radikal bebas paling tinggi terdapat pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Sumber Bendo, sedangkan paling rendah terdapat pada perlakuan Sumber Baru. Peningkatan kadar radikal bebas plasma darah pasca pemberian tepung umbi porang yang berasal dari tiga daerah berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Antar perlakuan umbi porang yang berasal dari tiga daerah berbeda tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap peningkatan kadar radikal bebas plasma darah. Diantara kelima perlakuan diketahui bahwa perlakuan kontrol positif mempunyai kadar radikal bebas yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol negatif dan umbi porang yang berasal dari ketiga daerah berbeda. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan kontrol positif sebesar $2,415 \pm 0,122$ mg/ ml. Peningkatan kadar radikal bebas plasma darah pada perlakuan kontrol positif berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol negatif dan perlakuan tepung umbi porang.



Gambar 4.2. Kadar MDA hepar tikus pasca pemberian tepung umbi porang

Pemberian tepung umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) dapat meningkatkan kadar radikal bebas hepar tikus (Gambar 4.2).

Rata-rata kadar radikal bebas hepar tikus yang paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol negatif jika dibandingkan dengan kadar radikal bebas pada keempat perlakuan lain, yaitu sebesar $0,618 \pm 0,154$ mg/ ml. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Sumber Baru lebih tinggi daripada kontrol negatif, yakni sebesar $0,919 \pm 0,098$ mg/ml. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Sumber Bendo lebih tinggi daripada kontrol negatif, yakni sebesar $2,982 \pm 0,376$ mg/ ml. Rata-rata kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Klangon lebih tinggi daripada kontrol negatif, yakni sebesar $1,462 \pm 0,25$ mg/ ml. Sedangkan pada perlakuan kontrol positif memberikan peningkatan kadar radikal bebas hepar sebesar $0,977 \pm 0,245$ mg/ ml dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian umbi porang dapat meningkatkan kadar radikal bebas hepar tikus tanpa melihat daerah asal umbi porang. Rata-rata kadar radikal bebas hepar tikus yang paling tinggi terdapat pada perlakuan umbi porang yang berasal dari Sumber Bendo. Peningkatan kadar radikal bebas hepar pasca pemberian umbi porang yang berasal dari tiga daerah berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol negatif, kecuali pada perlakuan porang yang berasal dari Sumber Baru. Antar perlakuan umbi porang yang berasal dari tiga daerah berbeda memberikan perbedaan yang nyata terhadap peningkatan kadar radikal bebas hepar, kecuali pada perlakuan umbi porang Sumber baru. Peningkatan kadar radikal bebas hepar pada perlakuan umbi porang yang berasal dari ketiga daerah berbeda dibandingkan dengan perlakuan kontrol negatif didukung dengan adanya sel-sel hepatosit yang mengalami nekrosis (Lestari, 2012).

Berdasarkan Gambar 4.1. dan Gambar 4.2. diketahui bahwa kadar radikal bebas plasma darah dan hepar tidak berhubungan dengan kadar kalsium yang ada pada masing-masing umbi porang. Hal ini dikarenakan besarnya kadar radikal bebas hepar dan plasma darah akibat pemberian tepung umbi porang yang berasal dari 3 daerah berbeda tidak seiring dengan besarnya kadar kalsium pada masing-masing umbi porang (Lampiran 1). Peningkatan kadar radikal bebas plasma darah dan hepar pasca pemberian tepung umbi porang diduga diakibatkan oleh adanya kandungan kalsium oksalat dalam tepung umbi porang. Menurut Nakata (2003), umbi porang

mempunyai kandungan kalsium oksalat yang sangat tinggi, seperti halnya kebanyakan tanaman dari famili Araceae. Oksalat dalam bahan makanan yang masuk ke dalam tubuh dapat berakibat buruk bagi kesehatan. Hal ini juga didukung dengan tingginya kadar radikal bebas pada perlakuan kontrol positif, yakni pada tikus yang diberi kalsium oksalat sintetik. Menurut Selvam dan Kurien (1987), injeksi sodium oksalat dan kalsium oksalat pada intraperitoneal tikus dapat meningkatkan peroksidasi lipid, meningkatkan aktivitas SOD, serta menurunkan aktivitas katalase pada hepar tikus urolithiasis.

Adanya peningkatan kadar radikal bebas pada perlakuan umbi porang diduga juga disebabkan oleh kandungan oksalat telarut pada umbi porang, mengingat dalam penelitian ini tidak dilakukan ekstraksi kalsium oksalat dari umbi porang. Selain oksalat tak larut seperti kalsium oksalat, umbi porang juga mengandung oksalat dalam bentuk terlarut. Menurut Holloway *et al.* (1989), umbi porang juga mengandung oksalat dalam bentuk tak larut seperti potassium oksalat, sodium oksalat dan ammonium oksalat.

Ketika bahan toksik dalam hal ini oksalat terlarut maupun tak larut dari umbi porang masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan, akan dibawa ke hepar melalui vena porta setelah diserap oleh epitel usus. Menurut Tamaro (2006), oksalat dalam makanan yang masuk ke dalam tubuh manusia, baik dalam bentuk oksalat terlarut maupun tak larut secara normal akan didegradasi di dalam saluran gastrointestinal oleh bakteri anaerob *Oxalobactor formigenes*. Oksalat terlarut yang didegradasi di dalam saluran gastrointestinal cenderung keluar dalam feses. Oksalat terlarut dapat juga mengikat kalsium yang dikonsumsi dari makanan, dan menjadikannya tak larut. Namun, jika oksalat terlarut tidak dapat didegradasi atau mengikat kalsium maka oksalat tersebut dapat diserap melalui membran usus. Menurut Hatch dan Freel (2005), penyerapan oksalat di dalam usus halus terjadi melalui transport aktif sedangkan penyerapan pasif terjadi di sepanjang saluran gastrointestinal.

Oksalat terlarut dalam tubuh dapat membentuk oksalat tak larut seperti kalsium oksalat ketika melalui saluran pencernaan, yakni dari lambung hingga di dalam usus. Lambung dan usus mempunyai kisaran pH yang berbeda sehingga dapat merubah konformasi bentuk oksalat. Menurut Savage dan Martensson (2010), lambung

mempunyai pH berkisar 1,5 - 2,0 sedangkan rata-rata pH usus senilai 8,1. Menurut Siener *et al.* (2001), pembentukan kembali oksalat tak larut terjadi ketika oksalat terlarut melewati lambung yang bersifat asam menuju usus yang bersifat alkali. Tingginya pH mungkin memicu penurunan penyerapan oksalat selama proses pembentukan kembali kristal kalsium oksalat tak larut ini. Ketika oksalat terlarut melewati saluran pencernaan menuju usus yang bersifat alkali, beberapa akan membentuk oksalat tak larut kembali dan kemudian tidak akan terjadi penyerapan.

Menurut Hughes dan Norman (1992), Dobbins dan Binder (1977), Modigliani *et al.* (1978), serta Hofmann *et al.* (1983) *dalam* Noonan (1999), kalsium bergabung dengan oksalat membentuk kalsium oksalat di dalam lumen usus sehingga menjadi kalsium yang tidak dapat diserap, kemudian kalsium oksalat diekskresikan dalam feses. Sedangkan oksalat terlarut diserap melalui difusi pasif di dalam kolon manusia. Studi comparatif antara individu sehat dengan ileostomi mengindikasikan bahwa kolon merupakan bagian utama untuk penyerapan oksalat. Menurut Shirley dan Knut (2009), tikus putih (*Rattus norvegicus*) tidak dapat memetabolisme oksalat, hanya setengah dari total oksalat yang diinjeksikan yang dapat didegradasi. Oksalat kemudian diekskresikan setengahnya ke dalam urin sedangkan sisanya dalam feses. Menurut Osweiler dkk (1985) yang disitasi oleh Noonan (1999), kalsium oksalat tidak diserap di dalam aliran darah dan tetap tidak larut dalam saluran pencernaan.

Penyerapan oksalat dari saluran gastrointestinal secara normal sangat rendah. Individu normal hanya 5-10 % dari dosis oral oksalat yang disekresikan akan diserap dalam usus (Binder, 1974 *dalam* Naseema, 2000). Penyerapan oksalat terutama melalui difusi pasif. Mekanisme difusi difasilitasi oleh oksalat binding protein yang bersifat spesifik dalam sitosol (Pinto and Pateman, 1978 *dalam* Naseema, 2000). Bagian peroksisomal usus halus adalah bagian utama dalam penyerapan oksalat (Prenen dkk, 1984 *dalam* Naseema, 2000). Penyerapan oksalat pada tikus jantan dua kali lebih besar daripada laki-laki normal (Thind dkk, 1985 *dalam* Naseema, 2000). Oksalat dapat ditranspor melewati epithelium melalui aktif dan pasif pathway. Transport oksalat melewati membran sel dimediasi oleh pertukaran anion protein transport (Verkoelen and Romijm, 1996 *dalam* Naseema, 2000). Oksalat ditranspor melalui usus halus dalam

dua tahap. Pertama, penyerapan oksalat oleh sel-sel *brush border*, dan ke dua melalui sistem *binding oxalate* (Pinto dan Pateman, 1978 dalam Naseema, 2000).

Sampai saat ini belum ada penelitian yang menyebutkan bahwa metabolisme kalsium oksalat terjadi di hepatosit karena diduga yang menjadi organ target oksalat adalah ginjal. Menurut Scheid *et al.* (1996), kalsium oksalat berhubungan dengan radikal bebas kultur sel ginjal, yang mana keberadaan oksalat dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas dalam sel epitel renal. Sehingga diduga bahwa terbentuknya radikal bebas hepar karena efek tidak langsung dari oksalat yang membentuk radikal bebas di ginjal, yang dibawa oleh plasma darah. Menurut Rosyidah (2012), pemberian tepung umbi porang dapat meningkatkan kadar radikal bebas pada organ ginjal. Menurut Lestari (2012), pemberian tepung umbi porang dapat menyebabkan nekrosis pada sel-sel ginjal yang diakibatkan oleh adanya kandungan oksalat dalam umbi porang. Berdasarkan uraian tersebut, mekanisme keluarnya radikal bebas dari sel-sel ginjal diduga terjadi ketika membran sel rusak dan mengeluarkan isinya, sehingga molekul radikal bebas ikut keluar dan berdifusi ke dalam pembuluh darah. Darah kemudian akan beredar ke seluruh tubuh, salah satunya menuju hepar. Komponen utama hepar adalah sel-sel hepatosit. Selain itu juga terdapat sel-sel endotel yang disebut dengan sinusoid (celah mengandung kapiler). Menurut Junqueira *et al.* (1995), antara sel-sel hepatosit dengan sinusoid dipisahkan oleh celah Disse yang mengandung mikrovili dari hepatosit. Hal ini yang menyebabkan plasma darah dapat dengan mudah mengalir melalui dinding endothel dan berhubungan langsung dengan permukaan hepatosit. Sehingga memungkinkan pertukaran molekul radikal bebas dengan mudah dari lumen sinusoid menuju sel-sel hepar.

Terdapat suatu fenomena yang mana perlakuan kontrol positif (kalsium oksalat sintetik) pada plasma darah mempunyai kadar radikal bebas yang hampir sama dengan kadar radikal bebas hepar pada perlakuan tepung umbi porang Sumber Bendo. Selain itu keduanya mempunyai kadar radikal bebas yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini diduga karena antara kalsium oksalat sintetik dan umbi porang Sumber Bendo mempunyai bentuk kristal kalsium oksalat yang sama. Kemungkinan bentuk-bentuk kristal kalsium oksalat mempunyai efek yang berbeda terhadap

kadar radikal bebas pada hepar dan plasma darah. Namun sampai saat ini belum ada literatur yang menyebutkan bahwa bentuk kristal kalsium oksalat berpengaruh terhadap besarnya kadar radikal bebas pada beberapa organ.

Terbentuknya radikal bebas tidak hanya berasal dari sumber eksogen seperti zat-zat toksik, obat, radiasi, dan lain-lain. Tubuh secara normal juga memproduksi radikal bebas. Menurut Langseth (1995) dalam Aji (2009), radikal bebas diproduksi secara terus menerus dalam jumlah kecil di dalam tubuh sebagai akibat proses metabolisme normal, seperti sisa proses metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi, dan sebagainya. Radikal bebas terbentuk pada mitokondria ketika mitokondria yang terdapat pada setiap sel memproses glukosa dan oksigen menjadi energi melalui reaksi enzimatik. Radikal bebas oksigen inilah yang terbanyak ditemukan di dalam tubuh sebagai hasil sampingan dari rantai pernapasan di mitokondria. Radikal bebas juga dihasilkan oleh fagosit sebagai bagian dari reaksi inflamasi. Oleh karena itu dalam penelitian ini tikus dengan perlakuan kontrol negatif yang diberi perlakuan akuades tetap memproduksi radikal bebas yang terukur melalui kadar MDA plasma darah dan hepar.

Peningkatan kadar MDA hepar pasca pemberian tepung umbi porang sepertinya tidak seiring dengan besarnya kadar MDA plasma darah. Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.1. dan Gambar 4.2. Kadar MDA plasma darah pada perlakuan kontrol negatif terlihat lebih sedikit daripada yang ada di hepar. Pada perlakuan tepung umbi porang yang berasal dari ketiga daerah berbeda, kadar MDA antara hepar dan plasma darah cenderung sama. Kadar MDA plasma darah dan hepar pada perlakuan umbi porang Sumber bendo cenderung selalu lebih tinggi daripada perlakuan Klangon dan Sumber baru. Selain itu kadar MDA plasma darah pada kontrol positif jauh lebih tinggi daripada yang ada di hepar. Dalam kasus ini sepertinya fungsi hepar dan plasma darah dalam membentuk radikal bebas terlihat berbeda jika didasarkan pada ketidakseiringan kadar MDA pada setiap perlakuan.

BAB V PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Pemberian tepung umbi porang (*Amorphophallus muelleri*) dapat meningkatkan kadar radikal bebas hepar dan plasma darah tikus. Pemberian tepung umbi porang yang berasal dari Sumber Baru, Klangon, dan Sumber Bendo tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap kadar radikal bebas hepar dan plasma darah tikus.

5.2. Saran

Sampai saat ini belum ada literatur yang menyebutkan mekanisme terbentuknya radikal bebas hepar dan plasma darah akibat pemberian tepung umbi porang. Hal ini dikarenakan yang menjadi organ target oksalat adalah ginjal, dengan pendugaan yang menjadi sebab terbentuknya radikal bebas adalah oksalat umbi porang. Sehingga diperlukan adanya pengujian kandungan oksalat terlarut dan tak larut pada urin dan feses agar diketahui apakah keberadaan oksalat umbi porang yang tidak dimetabolisme di hepar akan diekskresikan melalui urin dan feses.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, W. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Tablet Effervescent Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Dewandaru (*Eugenia Uniflora L*) dan Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* [Burm.F.] Ness) dengan Metode DPPH. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Amalia, I.R. 2010. Prediksi Alergenitas pada Tepung Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri Blume*) Olahan Menggunakan Teknik IgE- Immunoblotting. Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Andrews, E. J. 1971. Oxalate Nephropathy in A Horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 159: 49.
- Anonymous. 2011. Low Oxalate Diet. <http://lowoxalate.info/>. Diakses pada tanggal 17 Desember 2011.
- Azrianingsih, R., Wahono, T., dan Ekowati, G. 2008. Varian-varian Porang (*Amorphophallus oncophyllus* Hook.) yang Ditemukan di Jawa Timur. Laporan Research Grant IM-HERE. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Bradbury, J. H. dan R. W. Nixon. 1998. The Acridity of Raphides from the Edible Aroids. *Journal Science Food Agriculture* **76**: 608-616.
- Brown, D. 2000. Aroids : Plants of the Arum Famili, Second Edition. Timber Press. Portland Oregon.
- Caliskan, M. 2000. The Metabolisme of Oxalic Acid. *Turk J Zool* **24**: 103–106.
- Cesaratto, L. Carlo, V., Sebastian, C., dan Gianluca, T. 2004. The Important of Redox State in Liver Damage. *Annals of Hepatology* **3(3)**: 86-92.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., dan Mecocci, P. 2005. Potensial Marker of Oxidative Stress in Stroke. *Free Radic Biol Med* **39**: 841-52.
- De Zwart, L.L., Meerman. J.H.N., Commandeur, J.N.M., dan Vermulen, N.P.E. 1999. Biomarker of Free Radical Damage: Application in Experimental Animal and Human. *Free Rad Biol Med*. **26**: 202-260.

- Franceschi, V. R. dan H. T. Horner. 1980. Calcium Oxalate Crystals in Plants. *Botany Review* **46**: 361-427.
- Govaert, R. 2003. Taxonomic of *Amorphophallus muelleri* Blume. <http://culturesheet.org/araceae:amorphophallus:muelleri>. Diakses pada tanggal 07 Juni 2012.
- Halliwell, B. 1991. Reactive Oxygen Species in Living system, Source, Biochemistry and Role in Human Disease. *Am J Med* **91**: 14-21.
- Harambat, J., Sonia, F., Justine, B., Cecile, A., dan Pierre, C. 2011. Primary Hyperoxaluria. International Journal of Nephrology. Volume 2011, Article ID 864580, 11.
- Hatch, M. dan Freel, R.W. 2005. Intestinal Transport of an Obdurate Anion: Oxalate. *Urol Res* **33**: 1-18.
- Holloway, W.D., M.E. Argall, W.T. Jealous, J.A. Lee dan J.H. Bradbury. 1989. Organic Acids and Calcium Oxalate in Tropical Root Crops. *J. Agric. Food Chem.* **37(2)**: 337-341.
- Holmes, R.P., dan Assimos, D.G. 1998. Glyoxylate Synthesis, and Its Modulation and Influence on Oxalate Synthesis. *J Urol* **160**: 1617-1624.
- Hoppe, B., Von, U.G., Laube, N., Hesse, A., and Sidhu, H. 2005. Oxalate Degrading Bacteria: New Treatment Option for Patients with Primary and Secondary Hyperoxaluria? *Urol Re.* **33**: 372-75.
- Imelda, M., Aida, W., dan Poerba, Y.S. 2008. Regenerasi Tunas dari Kultur Tangkai Daun Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Biodiversitas* **9 (3)**: 173-176.
- Indriyani, S. 2011. Pola Pertumbuhan Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) dan Pengaruh Lingkungan terhadap Kandungan Oksalat dan Glukomanan Umbi. Disertasi. Program Studi Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Program Pascasarjana. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Indriyani, S., Endang, A., Tatik, W., dan Hery, P. 2009. Hubungan Faktor Lingkungan Habitat Porang (*Amorphophallus muelleri* Blume) pada Lima Agroforestri di Jawa Timur dengan Kandungan Oksalat Umbi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.

- Ivanova, E., dan Ivanov, B. 2000. Mechanisms of the Extracellular Antioxidant Defent. *Exp Pathol and Parasitol* **4**: 49-59.
- Jaeschke, H. 1995. Mechanisms of Oxidant Stress-Induced Acute Tissue Injury. Reactive Oxygen-Induced Tissue Injury. *The Society for Experimental Biology and Medicine*. 104-111.
- Jaeschke, H., Ho, Y.S. Fisher, M.A., Lawson, J.A., dan Farhood, A. 1999. Reactive Oxygen and Inflammatory Liver Injury. In: Cells of The Hepatic Sinusoid. Leiden: *Kupffer Cell Foundation* **7**: 211-215.
- Janero, D. 1990. Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid Reactivity As Diagnostic Indices Of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissue Injury. *Free. Rad. Biol.Med* **9**: 515- 40.
- Jansen, P. C. M., E. Wetsphal dan H. Wulijarni-Soetjipto. 1996. Plant Resoursces of South Asia **9**: Plants Yielding Non-Seed Carbohydrates. Prosea Foundation. Bogor.
- Junqueira, L.C., Jose, C., dan Kelley, R.O. 1995. Histologi Dasar Edisi ke-8. Alih Bahasa Jan Tambayong. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kalaiselvi, P., dan Selvam, R. 2003. Oxalate Binding Protein in Calcium Oxalate Nephrolithiasis. *Urol Res* **31**: 2422-256
- Keithley, J., and Swanson, B. 2005. Glucomannan and Obesity: a Critical Review. *Altern Ther Health Med* **11**: 30-34.
- Kozminski, K. 1997. *Amorphophallus muelleri* Bl. <http://www.kozminski.com/>. Diakses pada tanggal 04 November 2011.
- Kraemer, W. J., Vingren, J. L., Silvestre, R., Spiering, B. A., Haldfield, D. L., Ho, J. Y., Fragala, M. S., Maresh, C. M., dan Volek, J. S. 2007. Effect of Adding Exercise to a Diet Containing Glucomanan. *Metabolisme* **56 (8)**: 1149-1158.
- Lestari, S. 2012. Pengaruh Pemberian Tepung Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) Terhadap Struktur Jaringan Ginjal Dan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*). Skripsi Belum Dipublikasikan. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Li, X., Zang, D., Lynch-Holm, V.J., Okita, T.W., dan Fransceschi, V.R. 2003. Isolation of a Crystal Matrix Protein Associated with Calcium Oxalate Precipitation in Vacuoles of Specialized Cells. *Plant Physiol* **133**:549-559.

- Liverdoctor. 2012. The Liver and Detoxification. <http://www.liverdoctor.com>. Diakses pada tanggal 03 Juli 2012.
- Martanti, D., dan Poerba, Y.S. 2008. Keragaman Genetik Berdasarkan Marka Random Amplified Polymorphic DNA pada *Amorphophallus muelleri* Blume di Jawa. *Biodiversitas* **9 (4)**: 245-249.
- Nakata, P.A. 2003. Advances in Our Understanding of Calcium Oxalate Crystal Formation and Function in Plants. *Plant Science*. **164**: 901-909.
- Naseema, A. 2000. Biochemical Effect of Dicarboxylic Acids on Oxalate Metabolism in Experimental Rats and Studies on Oxalate Degrading Bacteria. Thesis. Department of Biotechnology Cochin University of Science and Technology Cochin. India.
- Noonan, S.C. dan Savage, G.P. 1999. Oxalate Content of Foods and its Effect on Humans. *Asia Pacific J Clin Nutr* **8 (1)**: 64-74.
- ProImmune. 2009. Protocols for the Preparation of Blood Plasma and Serum. www.proimmune.com. Diakses pada tanggal 27 Juni 2012.
- Punchard, N. A., dan Kelly, F. J. 1996. Free Radical. A Practical Approach. Oxford University Press. New York.
- Robbin, S.L. dan V.M.D Kumar. 1995. *Patologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Rosyidah, A. 2012. Pengaruh Pemberian Tepung Umbi Porang (*Amorphophallus muelleri*) terhadap Akumulasi Kalsium Oksalat dan Peningkatan Kadar Radikal Bebas pada Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*). Skripsi Belum Dipublikasikan. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Ruml, L.A., Margaret, S.P., dan Charles, Y.C. 1997. Medical Therapy : Calcium Oxalate Urolithiasis. *Urologic Clinics of North America* **24 (1)** : 117-133.
- Savage, G.P. and Martensson, L. 2010. Comparison of The Estimates of The Oxalate Content of Taro Leaves and Corns and A Selection of Indian Vegetables Following Hot Water, Hot Acid and in Vitro Extraction Methods. *Journal of Food Composition and Analysis*. In press.

- Scheid, C., Hari, K., Adam, H., Judy, L.N., Lori, K. Thomas, H., Julie, J., dan Mani, M. 1996. Oxalate Toxicity in LLC-PK1 Cells: Role of Free radicals. *Kidney International* **49**: 413-419.
- Selvam, R. 2002. Calcium Oxalate Stone Disease: Role of Lipid Peroxidation and Antioxidants. *Urol Res* **30**: 35-47
- Selvam, R. dan T. Biji, K. 1987. Induction of Lipid Peroxidation by Oxalate in Experimental Rat Urolithiasis. *J. Biosci* **12 (4)** : 367-373.
- Shirley, E.K. dan Knut, S.N. 2009. Oxalate Metabolisme in the Pack Rat, Sand Rat, Hamster, and White Rat. The Journal of Nutrition. <http://jn.nutrition.org>. Diakses pada tanggal 16 Mei 2012.
- Siener, R., Heynck, H. dan Hesse, A. 2001. Calcium-Binding Capacities of Different Brans under Simulated Gastrointestinal pH Conditions. In Vitro Study with 45Ca. *Journal of agricultural and food chemistry* **49 (9)**: 4397-4401.
- Siswonoto, S. 2008. Hubungan Kadar Malondialdehid Plasma dengan Keluaran Klinis Stroke Iskemik Akut. Tesis. Program Pasca Sarjana Magister Ilmu Biomedik Dan Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Saraf. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Stamatelou, K.K., Francis, M.E., Jones, C.A., Nyberg, L.M., dan Curhan, G.C. 2003. Time Trends in Reported Prevalence of Kidney Stones in the United States: 1976–1994. *Kidney Int* **63**:1817–23.
- Sufiani, S. 1993. Iles-iles (*Amorphophallus*). Jenis, Syarat Tumbuh, Budidaya, dan Standar Mutu Ekspor. *Media Komunikasi Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. **12**: 11-15.
- Sumarwoto. 2004. Pengaruh Pemberian Kapur dan Ukuran Bulbil terhadap Pertumbuhan Iles-iles (*Amorphophallus muelleri Blume*) pada Tanah ber-AI tinggi. *Ilmu Pertanian* **11 (2)**: 45-53.
- Sumarwoto. 2005. Iles-iles (*Amorphophallus muelleri Blume*) Deskripsi dan Sifat-sifat Lainnya. *Biodiversitas* **6 (3)**: 186-190.

- Suryohudoyo, P. 2000. Antioksidan dan Radikal Bebas dalam Ilmu Kedokteran Molekuler. Kapita Selekta. Jakarta
- Tamaro, C. 2006. Vitamin K Deficiency as a Cause of Autistic Symptoms. September 16, 2006. Tamaro_VitaminK.pdf. Diakses pada tanggal 21 Mei 2012.
- Theencyclopediaofscience. 2012. Liver. <http://www.daviddarling.info>. Diakses pada tanggal 03 Juli 2012
- Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. Institute Pertanian Bogor. Bogor. hal 1-12.
- Vuksan, V., Jenkins, D. J. A., Spadafora, P., Stevenpiper, J. L., Owen, R., dan Vidgen, E. 1999. Konjacmannan (Glucosmannan) Improves Glycemia And Other Associated Risk Factors For Coronary Heart Disease In Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 22:913-919.
- Wahyuni, S., E. A. Hadad, Hobir dan A. Denian. 2004. Plasma Nutfaf Aneka Tanaman Perkebunan. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Perkembangan Teknologi TRO 16 : 28-42.
- WebMD. 2010. Heart Health Center. <http://www.webmd.com>. diakses pada tanggal 27 Juni 2012.
- Widodo, W. 2011. Tanaman beracun dalam kehidupan ternak. wahyuwidodo.staff.umm.ac.id. Diakses pada tanggal 30 November 2011.
- Williams, H. E. dan Smith, L. H. Jr. 1968. L-Glyceric aciduria. A new Genetic Variant of Primary Hyperoxaluria. *N. Engl. J. Med* 278, 233.
- Winestrland, S., Nils-Olof, N., and Leif J.J. 2009. The Effects of Oxyanions on the Activity of Oxalate Oxidase. *The Open Enzyme Inhibition Journal* 2: 36-40.

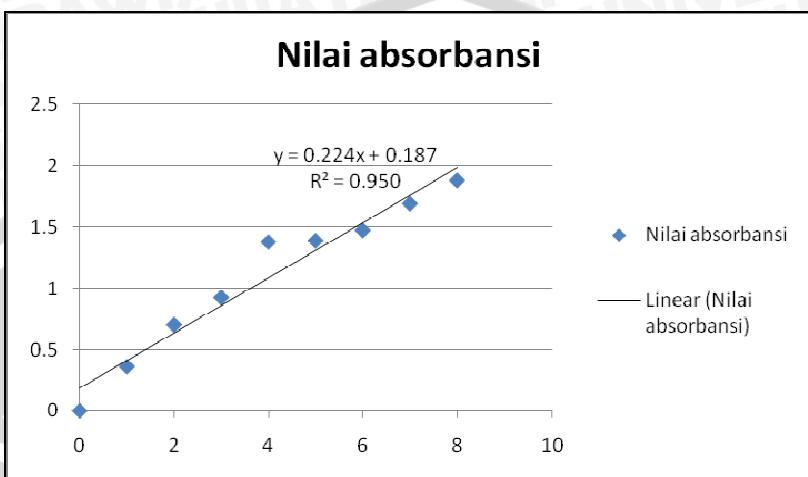
LAMPIRAN

Lampiran 1. Kadar Kalsium (Ca) Tepung Umbi Porang

No.	Daerah Asal Umbi Porang	Kadar Ca (mg/gr)
1.	Sumber baru	$0,33 \pm 0,00055$
2.	Klangon	$0,43 \pm 0,00037$
3.	Sumber bendo	$0,20 \pm 0,00012$



Lampiran 2. Kurva Standar MDA



Gambar L2. Kurva Standar MDA

Lampiran 3. Hasil Uji Statistik Kadar MDA Hepar

Uji normalitas kadar MDA hepar

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar MDA Hepar
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	1.39200
	Std. Deviation	.893332
Most Extreme Differences	Absolute	.242
	Positive	.242
	Negative	-.149
Kolmogorov-Smirnov Z		.936
Asymp. Sig. (2-tailed)		.345

a. Test distribution is Normal.

Nilai homogenitas variansi kadar MDA hepar

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA Hepar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.763	4	10	.573

Nilai signifikansi kadar MDA hepar

ANOVA

Kadar MDA Hepar

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.577	4	2.644	44.433	.000
Within Groups	.595	10	.060		
Total	11.173	14			

Uji Tukey HSD kadar MDA hepar

Kadar MDA Hepar

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol negatif	3	.61867		
Sumber baru	3	.91967	.91967	
Kontrol positif	3	.97767	.97767	
Klangon	3		1.46200	
Sumber bendo	3			2.98200
Sig.		.423	.120	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 4. Hasil Uji Statistik Kadar MDA Plasma Darah

Uji normalitas kadar MDA plasma darah

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar MDA Darah
N		15
Normal Parameters ^a	Mean	1.13493
	Std. Deviation	.803459
Most Extreme Differences	Absolute	.135
	Positive	.135
	Negative	-.128
Kolmogorov-Smirnov Z		.522
Asymp. Sig. (2-tailed)		.948

a. Test distribution is Normal.

Nilai homogenitas variansi kadar MDA plasma darah

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA Darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.321	4	10	.327

Nilai signifikansi kadar MDA plasma darah

ANOVA

Kadar MDA Darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.561	4	2.140	44.859	.000
Within Groups	.477	10	.048		
Total	9.038	14			

Uji Tukey HSD kadar MDA plasma darah

Kadar MDA Darah

Tukey HSD

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kontrol negatif	3	.04500		
Klangon	3		.99700	
Sumber baru	3		1.05133	
Sumber bendo	3		1.16633	
Kontrol positif	3			2.41500
Sig.		1.000	.871	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

