

**PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGANTAWAS
TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE* (MDA)
DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

Oleh :

MUHAMMAD WADDRANNUDIN

155130100111032



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN TAWAS
TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA)
DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUSPUTIH(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

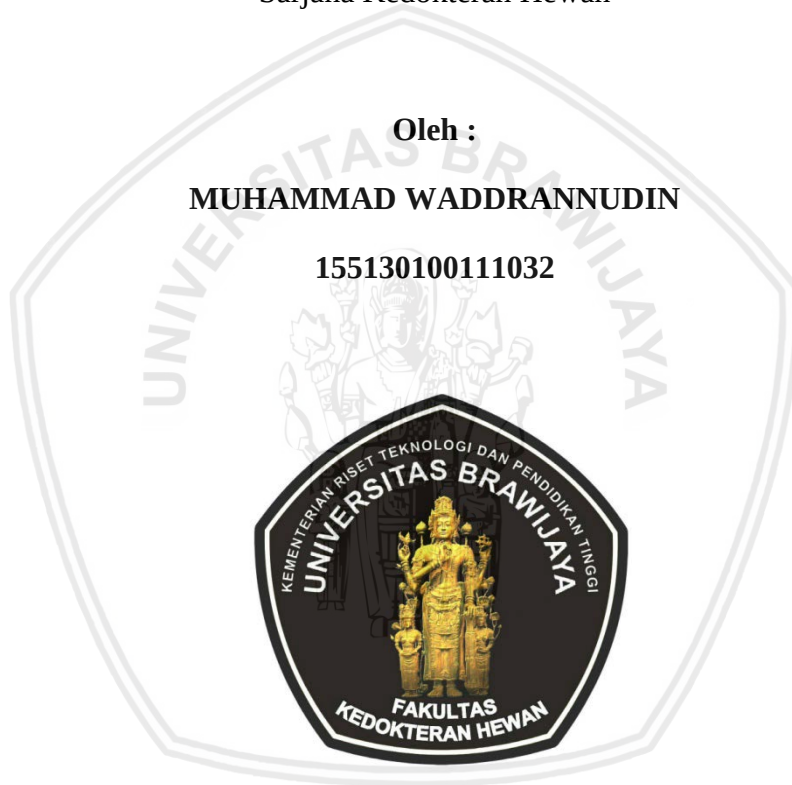
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

MUHAMMAD WADDRANNUDIN

155130100111032



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN TAWAS
TERHADAP KADAR *MALONDIALDEHYDE*(MDA)
DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Oleh :

**MUHAMMAD WADDRANNUDIN
155130100111032**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 9 Oktober 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

drh. Dyah Ayu Oktavanie A.P., M.Biotech **drh. Ajeng Erika P.H., M.Si**
NIP. 19841026 200812 2 004 NIP. 19890516 201504 2 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc
NIP. 19631216 1988031 002

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad Waddrannudin

Nim : 155130100111032

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul : **PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN TAWAS TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar karya saya sendiri dantidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isidan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasiljiplakan, maka saya bersedia menanggung segala risiko yang ada.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 9 Oktober2019

Yang menyatakan,

Muhammad Waddrannudin
NIM.155130100111032

PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM DENGAN TAWAS TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) DAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADATIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

ABSTRAK

Peningkatan populasi di Indonesia menyebabkan kebutuhan air menjadi semakin tinggi. Masyarakat memanfaatkan tawase sebagai penjernih air tanpa mengetahui bahaya yang ditimbulkan oleh tawase terhadap kesehatan tubuh. Jika tawase dikonsumsi lebih banyak dapat merusak tubuh dan menimbulkan kondisi stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air minum dengan tawase terhadap kadar MDA dan gambaran histopatologi hepar padatikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini memiliki lima kelompok perlakuan antara lain, kontrol negatif diberikan air minum yang tidak mengandung tawase dan empat kelompok perlakuan air minum dengan konsentrasi tawase 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000 ppm. Parameter yang diamati pada penelitian ini yaitu kadar MDA yang diukur dengan spektrofotometri dan histopatologi hepar yang diwarnai dengan *Haematoxylin-Eosin* (HE). Data hasil kadar MDA dianalisis secara kuantitatif menggunakan uji *One Way ANOVA* dilanjutkan uji *Beda Nyata Jujur* dengan *software SPSS for Windows* dengan kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$) dan preparat hepar dianalisis secara deskriptif menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100x dan 400x. Hasil penelitian ini, tikus yang diberi paparan air minum tawase menunjukkan peningkatan kadar MDA yang signifikan pada kelompok P2 (1500 ppm), P3 (1750 ppm), dan P4 (2000 ppm). Paparan air minum tawase mempengaruhi histopatologi hepar dengan menimbulkan kerusakan pada sel hepatosit. Kesimpulan dari penelitian ini adalah paparan air minum yang mengandung tawase dapat meningkatkan kadar MDA dan mempengaruhi gambaran histopatologi hepar.

Kata kunci: Air minum, Hepar, Histopatologi, MDA, Tawase.

**THE EFFECT OF ALUMINIUM SULPHATE IN WATER ON
MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVEL AND HEPAR
HISTOPATHOLOGY IN WHITE RAT
(*Rattus norvegicus*)**

ABSTRACT

The increasing population in Indonesia causes water need increase in life. People use aluminium sulphate as a coagulant substance to improve the quality of water without knowing the risk for body health. If this substance gets inside the body with high amount it will make a condition called stress oxidative. This research aims to know the effect of alum in water against the malondialdehyde level and the hepar histopathology image of white rat (*Rattus norvegicus*). In this research the rats divided into five groups which is the negative control that given only water, and the other four is the group that given alum in water for drinking with concentration 1250 ppm, 1500, 1750 ppm, and 2000 ppm. The parameters to observed are MDA level measured using spectrophotometer and the hepar histopathology with Haematoxylin- Eosin (HE). MDA data level analyze quantitatively using One Way ANOVA test, continue with Tukey test with SPSS for Windows with 95% confidence level ($\alpha = 5\%$) and hepar histopathology observed with light microscope descriptively with magnification 100x and 400x. The result of this study showed that the exposure of alum drinking water increase the MDA level significantly in P2 (1500 ppm), P3 (1750 ppm), and P4 (2000 ppm) groups and also exposure to alum drinking water affecting hepar histopathology by damaging the hepatocyte cell. The conclusion is the exposure to drinking water containing alum can increase MDA level and damaging the hepar.

Keywords: Alum, Hepar, Histopathology, MDA, Water.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Air Minum Dengan Tawas Terhadap Kadar Malondialdehyde(MDA) dan Gambaran Histopatologi Hepar Pada Tikus Putih(*Rattus norvegicus*)”**.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis mengalami berbagai macam halangan dan rintangan, sehingga dalam penulisannya melibatkan banyak pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH UB tercinta.
2. drh. Dyah Ayu Oktavianie A.P., M. Biotech dan Dr. Sasangka Prasetyawan, MS. selaku pembimbing I dan drh. Ajeng Erika P.H., M.Si selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, nasehat, dan arahan kepada penulis.
3. drh. Albiruni Haryo, M.Sc. dan drh Mira Fatmawati, M. Si selaku penguji I dan drh. Tiara Widyaputri, M.Si., selaku penguji II yang telah banyak memberikan saran, nasehat, dan arahan kepada penulis.
4. Aruman dan Laili Inayati selaku orang tua dan keluarga besar yang telah memberikan semangat, doa dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis selama menempuh kuliah di FKH UB.
5. Anggota dalam penelitian skripsi ini Bayu Hendra Laksmna, Annisa Larasati, dan Tiara Anggraeni, yang telah memberikan dukungan, doa, dan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Kepada keluarga besar FKH UB 2015 A “Asique Class” yang telah memberikan dukungan dan semangat yang tiada hentinya.
7. Kepada Gusti Aulia, Debora S, dan sahabat “kontrakan berencana” yang telah membantu dalam memberikan semangat, doa, dan pengoreksian skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi penulis dan para pembaca pada umumnya, semoga Allah SWT meridhoi dan dicatat sebagai ibadah disisi-Nya, Amin.

Malang, 9 Oktober2019

Muhammad Waddrannudin

NIM. 155130100111032



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1Tawas	5
2.1.1Definisi Tawas	5
2.1.2Sifat Fisika dan Kimia Tawas	6
2.1.3Metabolisme Tawas di dalam Tubuh	6
2.1.4 Toksisitas Tawas	7
2.2Hepar	9
2.2.1 Anatomi Hepar	9
2.2.2FisiologiHepar.....	10
2.2.3Histologi Hepar	11
2.3Radikal Bebas.....	12
2.4 Peroksidasi Lipid.....	14
2.5 <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	15
2.6 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	16
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	18
3.1 Kerangka Konsep	18

3.2 Hipotesis Penelitian.....	20
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	21
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21
4.2 Alat dan Bahan.....	21
4.3 Tahapan Penelitian	22
4.4 Rancangan Penelitian.....	22
4.5 Variabel Penelitian.....	23
4.6 Prosedur Kerja	24
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	24
4.6.2 Pembuatan Air Minum dengan Tawas.....	24
4.6.3 Pemberian Air Minum dengan Tawas	25
4.6.4 Isolasi Organ Hepar.....	25
4.6.5 Pengukuran Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Hepar	26
4.6.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Hepar Pewarnaan <i>Haematoksin- Eosin</i>	27
4.6.7 Analisis Data	30
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
5.1 Pengaruh Pemberian Air Minum Tawas Terhadap Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	31
5.2 Pengaruh Pemberian Air Minum Tawas Terhadap Histopatologi Hepar	35
BAB 6 PENUTUP.....	43
6.1 Kesimpulan	43
6.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	48

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air merupakan sumberdaya alam yang sangat besar yang berada di bumi, terdapat 70% air yang menutupi permukaan bumi dan memiliki beberapa bentuk seperti cair, padat, dan gas. Air memiliki manfaat yang sangat besar bagi kehidupan makhluk hidup, seperti manusia, hewan, dan tanaman (Effendi, 2003). Makhluk hidup membutuhkan air sebagai salah satu kebutuhan hidup, seperti kebutuhan air minum, dengan peningkatan penduduk yang semakin tinggi menyebabkan masyarakat mencari cara agar mendapatkan sumber air, salah satunya adalah menggunakan air yang bersumber dari keran untuk dikonsumsi atau diberikan kepada hewan peliharaan, dimana air tersebut masih belum memiliki syarat yang layak untuk dikonsumsi.

Kebutuhan air yang meningkat bagi kehidupan mengakibatkan kegiatan untuk pengadaan sumber air, seperti mencari sumber air baru, mengolah air atau menyehatkan kembali sumber air yang kotor yang telah tercemar (Widiyanti *et al.*, 2004). Untuk meningkatkan kualitas air, banyak masyarakat yang melakukan segala cara seperti, peningkatan kualitas fisik dengan melakukan penjernihan pada air yang kotor, bahan yang sering digunakan untuk penjernihan air adalah tawas, tawas sangat mudah didapatkan dengan harga yang cukup ekonomis, sehingga banyak masyarakat yang menggunakan bahan tersebut. Tawas adalah salah satu bahan kimia yang digunakan dalam penjernihan karena tawas memiliki sifat sebagai koagulan, yaitu dengan memadatkan kotoran yang berada didalam

air, sehingga kotoran dapat diambil dengan mudah. Tawas atau aluminium sulfat merupakan penjernih air yang sangat umum dijual di pasaran (Azizet *al.*, 2013).

Dikarenakan harga tawas yang cukup terjangkau oleh masyarakat dan mudah sekali ditemukan, menyebabkan masyarakat kurang memahami bahaya dalam penggunaan tawas dalam kehidupan sehari-hari. Penggunaan tawas yang berlebihan dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada tubuh, karena tubuh akan mengalami kelebihan Aluminium (Al), sehingga berdampak mengakibatkan keracunan tawas yang dapat menyerang organ, terutama organ hepar, seperti pada penelitian Ananda dan Ismail (2016) yang menggunakan tawas pada pakan hewan terjadi kerusakan pada hepar yang menyebabkan degenerasi, dan peradangan.

Hepar merupakan organ didalam tubuh makhluk hidup yang memiliki fungsi sebagai organ detoksifikasi, yaitu menetralkan racun yang masuk kedalam tubuh. Jika mengkonsumsi agen tertentu dengan dosis yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada hepar yang disebut dengan hepatoksisitas. Hepatoksisitas merupakan kerusakan yang terjadi di organ hepar akibat bahan kimia. Bahan kimia yang dapat menyebabkan kerusakan pada hepar disebut dengan hepatotoksin. Hepatotoksin sering menyebabkan kerusakan yang subklinis pada hepar, yaitu dengan bermanifestasi pada hasil enzim hepar yang abnormal (Panditet *al.*, 2012). Kerusakan sel hepar terjadi pada asam lemak tidak jenuh fosfolipid membran sel, sehingga membentuk peroksida lipid. Pada akhir proses degradasi peroksida lipid, akan menghasilkan MDA. *Malondialdehyde*(MDA) adalah salah satu marker dari radikal bebas didalam tubuh. Radikal bebas adalah suatu molekul yang terbentuk akibat kerusakan oksidatif (Matsuzakiet *al.*,

2009). Dalam kerusakan hepar akibat paparan bahan kimia berupa tawas. *Malondialdehyde* (MDA) ini dapat menjadi sebuah indikator dari peningkatan peroksida lipid yang terbentuk akibat radikal bebas (Cochrane, 1991).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang penulis diatas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah air minum dengan tawas dapat mempengaruhi kadar MDA tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Apakah air minum dengan tawas dapat mempengaruhi histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang penulis diatas, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan, strain *Wistar*, yang didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya, berumur 8-12 minggu dan berat badan berkisar antara 150-180 gram. Penggunaan hewan coba pada penelitian ini sudah mendapatkan sertifikat layak etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya No. 1024-KEP-UB.
2. Air yang digunakan untuk air minum adalah *aquadest* yang dicampur dengan tawas.

3. Tawas yang digunakan untuk penelitian ini memiliki bentuk kristal dengan merk *Merck*[®], memiliki nomor katalog 414 A868102 dan didapatkan dari CV. Sari Kimia Raya, Malang.
4. Pemberian paparan air minum dengan tawas menggunakan sonde lambung dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 1250ppm, 1500ppm, 1750ppm, dan 2000ppm sebanyak dua kali sehari selama 21 hari dengan volume 3 ml dalam satu kali pemberian.
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar MDA dan histopatologi hepar.

1.4 Tujuan penelitian

Berdasarkan latar belakang dilakukannya penelitian ini, didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh air minum dengan tawas terhadap kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh air minum dengan tawas terhadap histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat bagi konsumen air minum sebagai informasi mengenai pengaruh dari air minum yang mengandung tawas sebagai penjernih air terhadap kesehatan tubuh.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tawas

2.1.1 Definisi Tawas

Tawas atau yang sering disebut aluminium sulfat merupakan bahan koagulan yang sering digunakan dalam industri kimia karena ekonomis, mudah didapatkan, serta mudah dalam penyimpanan. Aluminium sulfat banyak digunakan untuk proses air bersih dan pengolahan air limbah. Aluminium sulfat jarang ditemukan dalam bentuk garam *anhydrous*, tetapi aluminium sulfat ditemukan dalam bentuk *heksadecahydrate*. Penggunaan tawas tidak terlepas dari sifat kimiawi yang dikandung oleh air. Aluminium dan garam-garam besi adalah bahan kimia yang efektif dalam kondisi air yang mengandung alkalin. Semakin banyak dosis tawas yang digunakan, maka pH air akan semakin turun, karena menghasilkan asam sulfat, sehingga perlu dosis tawas yang efektif antara pH 5,8-7,4. Dosis tersebut digunakan apabila alkalinitas alami dari air tidak seimbang dengan dosis tawas (Desviani, 2012).

Pada proses penjernihan air kotor menjadi air bersih bahan kimia tawas sering digunakan sebagai zat koagulan yang bekerja dengan cara mengendapkan kotoran-kotoran yang berada didalam air kotor, pada saat proses penjernihan air dilakukan, bahan kimia tawas akan terurai menjadi dispersi koloid yang memiliki muatan positif Al^{3+} , selanjutnya akan mengikat partikel koloid yang memiliki muatan negatif, sehingga partikel yang ada didalam air tersebut akan mengendap (Aziz *et al.*, 2013).

2.1.2 Sifat Fisik dan Kimia Tawas

Tawas atau aluminium sulfat seperti (**Gambar 2.1**) memiliki beberapa bentuk kristal maupun bubuk. Tawas memiliki warna putih dan memiliki rumus kimia ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$). Tawas mudah larut didalam air sekitar 700 g/L dan dapat bereaksi dengan asam kuat, tawas juga bersifat korosif, tidak mudah terbakar, serta tahan panas. Jika tawas yang berbentuk bubuk terhisap, akan menimbulkan rasa nyeri pada saluran pernafasan. Larutan tawas juga berbahaya bagi mata dan kulit yang dapat menimbulkan rasa perih apabila terkena larutan tersebut (Desviani, 2012).



Gambar 2.1.Kristal Tawas (Antoniraj, 2014).

2.1.3 Metabolisme Tawas didalam Tubuh

Metabolisme tawas di dalam tubuh meliputi beberapa mekanisme meliputi:

1. Absorpsi

Alumunium diserap didalam tubuh oleh saluran pencernaan, yaitu *intestinum tenue*. Penyerapan alumunium didalam usus terjadi secara transport

aktif dan pasif. Presentasi alumunium yang diserap oleh tubuh sebanyak 0,3% melalui oral (Yokel, 2001).

2. Distribusi

Tawas yang telah diabsorbsi oleh usus akan masuk ke dalam aliran darah. Dalam aliran darah tawas akan terdistribusi ke berbagai organ dalam tubuh. Alumunium terakumulasi pada tulang, hati, limpa, ginjal, serta otak (Domingo, 2003).

3. Ekskresi

Alumunium diekskresikan dalam saluran urinaria sekitar 95% dan 5% di dalam feses. Ekskresi alumunium dapat mengurangi fungsi ginjal dan beresiko terakumulasi dalam ginjal. Eliminasi alumunium juga terjadi pada empedu sekitar 2% (Yokel, 2002).

2.1.4 Toksisitas Tawas

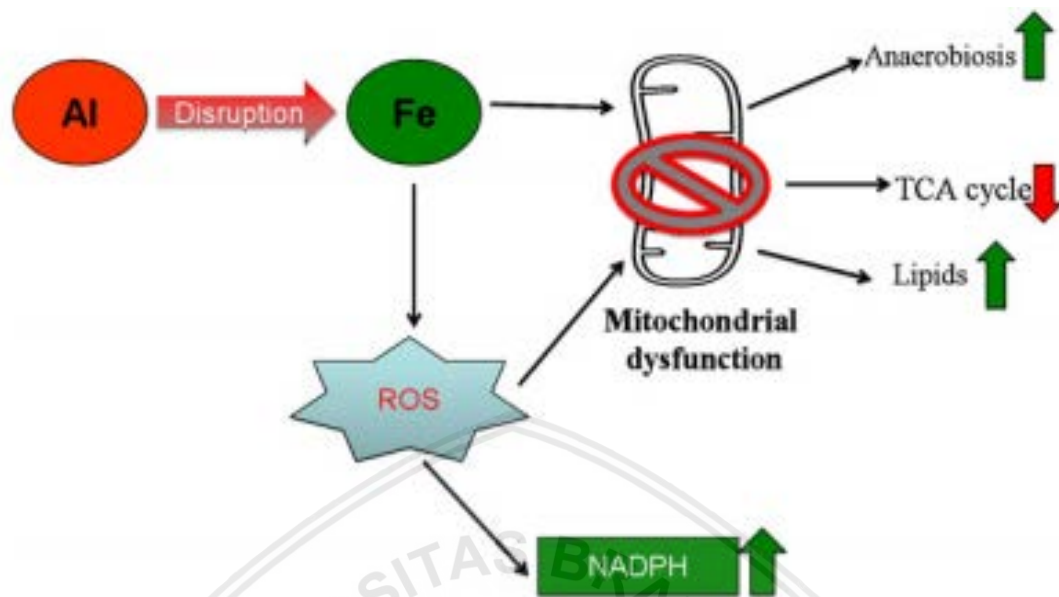
Tawas masuk kedalam tubuh melalui oral, kemudian melewati saluran pencernaan dan akan diserap oleh usus. Selanjutnya tawas yang mengandung alumunium akan masuk kedalam aliran darah dan terdistribusi ke organ detoksifikasi, yaitu hepar. Alumunium sulfat merupakan senyawa ion logam. Jika ion logam terdapat dalam jaringan akan berikatan dengan protein pengikat logam, yaitu gugus sulfidril dari protein metalotionein (Cheng *et al.*, 2001).

Mekanisme toksisitas tawas dalam tubuh terdapat beberapa cara, yaitu dengan meningkatkan stress oksidatif, mengganggu fungsi membran, mengganggu signaling sel, dan mengganggu aktivitas enzim dalam tubuh

(Pandey, 2013). Tawas memiliki kemampuan pro-oksidan dalam tubuh, sehingga mengganggu homeostasis zat besi (Fe), meningkatkan pembentukan ROS, dan merusak DNA dalam sel. Paparan alumunium dapat menyebabkan toksisitas, seperti apoptosis hepatosit, penumpukan asam empedu, penghambatan sistem enzim sitokrom P⁴⁵⁰, serta terjadi ketidakseimbangan antioksidan dan reaksi inflamasi. Mekanisme kerusakan tersebut menyebabkan disfungsi dari organ hepar (Feibo *et al.*, 2017).

Toksisitas alumunium dalam mengganggu signaling sel, yaitu menurunkan sinyal Ca²⁺ dalam jalur sinyal sel. Sinyal Ca²⁺ berfungsi untuk mengatur proses seluler, sehingga jika terdapat hambatan sinyal Ca²⁺, maka kerja sel akan terganggu (Kurniawan, 2017).

Alumunium akan menggantikan Mg²⁺ dan Fe³⁺ didalam tubuh yang akan menyebabkan gangguan interseluler dan gangguan pertumbuhan sel. Tawas akan mengganggu ikatan Fe dengan *transferrin*, kemudian alumunium akan mengakibatkan kenaikan stress oksidatif dan gangguan Fe dalam siklus *tricarboxylic acid* (TCA) dan menonaktifkan aerobik produksi ATP mitokondria (**Gambar 2.2**) (Mailloux *et al.*, 2011).



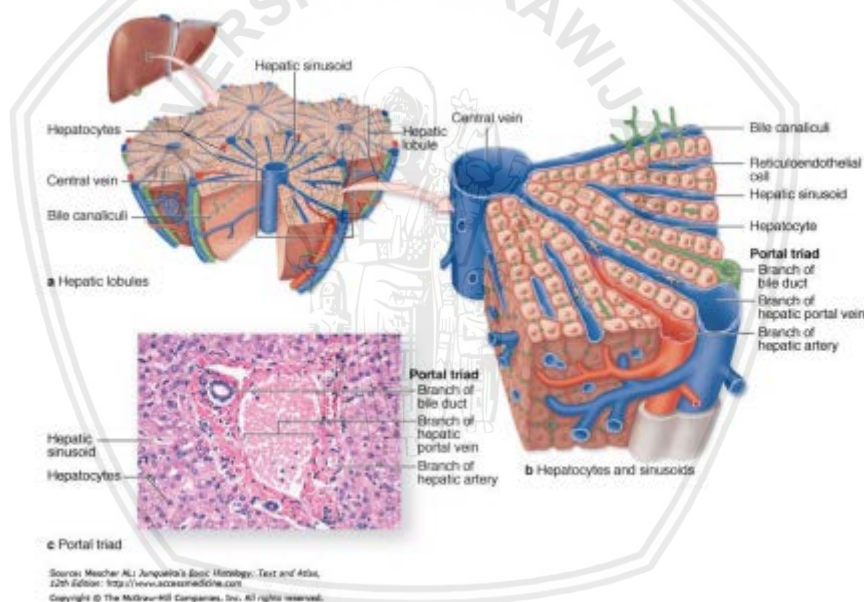
Gambar 2.2. Tawas Merusak Mitokondria Sel(Mailloux, 2011).

2.2 Hepar

2.2.1 Anatomi Hepar

Hepar (**Gambar 2.3**) merupakan organ terbesar didalam rongga perut. Hepar merupakan organ parenkim yang berada didalam tubuh makhluk hidup yang paling besar dan memiliki fungsi yang sangat penting untuk mempertahankan fungsi hidup dan berperan dalam hampir setiap proses metabolisme tubuh (Tellingan, 2003). Hepar dibagi menjadi 4 bagian lobus, yaitu lobus dextra, lobus caudatus, lobus sinistra, dan quadratus. Hepar memiliki lapisan jaringan ikat tipis yang disebut kapsula Glisson dan pada bagian luar ditutupi oleh peritoneum (Sulaiman *et al.*, 2007). Hepar memiliki tekstur yang lunak, lentur, dan terletak pada bagian atas dari cavitas abdominalis tepat dibawah diafragma (Snell, 2006).

Suplai darah didalam hepar sebesar 70%-80% berasal dari vena porta yang berasal dari lambung, usus, dan limpa, kemudian 20%-30% darah didalam hepar disuplai oleh arteri hepatica. Zat-zat yang diserap hepar dari usus melalui vena porta hepatica. Hepar merupakan organ yang sangat optimal dalam menampung, mengubah, dan mengumpulkan metabolit dari darah. Pengeluaran tersebut terjadi didalam empedu. Empedu adalah suatu sekret eksokrin dari hepar yang penting dalam pencernaan lipid di usus. Hepar juga menghasilkan protein plasma, seperti albumin, dan fibrinogen (Mescher, 2007).



Gambar 2.3 Histologi Organ Hepar (Mescher, 2010).

2.2.2 Fisiologi Hepar

Hepar merupakan organ metabolik yang sangat penting yang terdapat didalam tubuh makhluk hidup, organ hepar dilihat sebagai pabrik biokimia utama (Sherwood, 2012). Fungsi hepar sebagai organ metabolik, antara lain:

1. Metabolisme karbohidrat

Fungsi hepar dalam sistem metabolisme karbohidrat adalah dengan menyimpan glikogen dalam jumlah besar, kemudian mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, dan membentuk banyak senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat (Guyton dan Hall, 2008).

2. Metabolisme lemak

Hepar dalam metabolisme lemak adalah dengan mengeksresikan garam empedu yang membantu dalam pencernaan lemak melalui efek emusifikasi, sehingga dapat mempermudah penyerapan lemak dan ikut serta dalam pembentukan misel (Sherwood, 2012).

3. Metabolisme protein

Fungsi hepar dalam metabolisme protein adalah dengan deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan ammonia dari cairan didalam tubuh, dan interkonversi beragam asam amino untuk membentuk senyawa lain dari asam amino (Guyton dan Hall, 2008).

4. Sintesis protein plasma

Hepar banyak memproduksi protein, dimana kebanyakan protein tersebut merupakan protein fase akut yaitu protein yang diproduksi dan di sekresikan ke dalam plasma apabila terjadi rangsangan stress. Protein lain yang diproduksi oleh hepar seperti albumin, orosomukoid, dan antiprotease α_1 (Ganong, 2008).

2.2.3 Histologi Hepar

Hepar memiliki sel-sel hati atau hepatosit, sel hepatosit ini menghasilkan sel epitel yang berkelompok dengan membentuk lempeng-lempeng yang saling berhubungan. Hepatosit terdiri dari ribuan lobules hati kecil polyhedral, merupakan unit fungsional dari hepar dan merupakan struktural organ hepar. Dalam kumpulan sel hepatosit, memiliki tiga sampai enam area portal di bagian perifer dan vena yang disebut dengan vena sentral dibagian pusat. Zona portal di sudut lobules terdiri dari jaringan ikat dengan vena (cabang vena portal), arteriol (cabang arteri hepatica), dan duktus epitel kuboid (cabang sistem duktus biliaris), ketiga struktur tersebut disebut dengan trias porta (Mescher, 2007).

Hepatosit adalah sel eksokrin dan endokrin dari lobules hepatis. Hepatosit membentuk suatu struktur dinding tebal yang membatasi rongga yang disebut dengan sinusoidal. Darah yang berasal dari vena portal dan arteri hepatis mengalir ke sinusoid dan bermuara di vena sentral. Hepatosit memiliki 2 bagian, yaitu basolateral dan apical. Pada bagian basolateral mengandung banyak mikrovili dan pada bagian apikal hanya membatasi kanalikulis biliaris (Kierszenbaum dan Tres, 2012). Sinusoid merupakan celah antar sel hepatosit, terdiri atas lapisan diskontinu sel endotel bertingkat. Sel-sel endotel ini terpisah dari hepatosit yang dibagian bawah terdapat suatu lamina basal tipis yang tidak kontinu dan suatu celah perisinusoid (celah Disse) yang sangat sempit. Mikrovili dari hepatosit mengarah kedalam celah tersebut yang berfungsi sebagai tempat pertukaran antara sel tersebut dan plasma. Pertukaran ini sangat penting secara fisiologis karena banyak makromolekul (lipoprotein, albumin, fibrinogen) yang disekresi kedalam darah oleh hepatosit dan juga hepar sebagai organ metabolisme (Mescher, 2007).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas atau yang sering disebut dengan ROS merupakan atom dengan elektron yang tidak berpasangan pada lapisan luar. Radikal bebas adalah bentuk radikal yang sangat reaktif, jika radikal bebas tidak diinaktivasi, maka tingkat reaktivitas dapat merusak makromolekuler seluler, seperti karbohidrat, protein, lipid, dan asam nukleat. Radikal bebas dapat merusak jaringan normal terutama apabila jumlah terlalu banyak didalam tubuh. Mekanisme terbentuk radikal bebas dapat terjadi melalui endogen maupun eksogen. Sumber endogen seperti hasil dari metabolisme aerob didalam tubuh, enzim-enzim didalam tubuh, dan proses sel fagositik yang menggunakan jumlah oksigen yang besar. Sumber eksogen berasal dari obat-obatan, radiasi, sinar UV, pelarut industry, pestisida, dan asap rokok (Kumar *et al.*, 2012).

Radikal bebas secara umum diperlukan untuk beberapa proses fisiologis di dalam tubuh, terutama pada proses transportasi elektron. Radikal bebas didalam dalam keadaan normal dibutuhkan oleh tubuh dalam perkembangan sel dan membantu sel darah putih atau leukosit dalam menghancurkan kuman yang masuk kedalam tubuh, namun apabila terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang disebut dengan *stress oxidative*, maka akan mengganggu kerja sistem imun. Secara alami di dalam tubuh terdapat mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas, yaitu dengan antioksidan endogen intrasel yang terdiri dari enzim-enzim yang disintesis oleh tubuh seperti *Superoksida dismutase* (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (Venkataramanet *al.*, 2004).

Mekanisme terbentuk radikal bebas terdapat tiga proses menurut Winarsi (2007), antara lain:

1. Inisiasi, merupakan tahapan dalam pembentukan awal radikal bebas.
2. Propagasi, merupakan tahapan pembentukan radikal bebas yang akan mengakibatkan terbentuk radikal baru dengan reaksi rantai.
3. Terminasi, reaksi rantai yang terjadi akan berhenti pada tahap ini, ketika radikal bebas bergabung dengan radikal bebas yang lain, sehingga tidak membentuk radikal bebas yang baru.

Reaksi selanjutnya merupakan peroksidasi lipid pada membran dan sitosol yang dapat mengakibatkan terjadi serangkaian reduksi asam lemak, sehingga terjadi kerusakan membran dan organel sel.

2.4 Peroksidasi Lipid

Radikal bebas menimbulkan terjadi reaksi peroksidasi lipid membran sel. Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi pada saat radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA. Peroksidasi lipid dapat dideteksi dari produk yang dihasilkan antara lain MDA (Marciniak *et al.*, 2009).

Peroksidasi lipid terjadi melalui beberapa tahapan reaksi, antara lain adalah reaksi inisiasi, propagasi, dan terminasi. Lipid merupakan penyusun membran sel yang berupa asam lemak tidak jenuh ganda. Peroksidasi lipid dimulai (inisiasi) dari abstraksi atom hidrogen pada gugus metilen oleh ROS, kemudian membentuk radikal karbon (L^*). Jika radikal karbon tersebut bereaksi dengan oksigen, maka akan terbentuk radikal peroksil (LOO^*). Reaksi selanjutnya adalah abstraksi atom hidrogen lipid lain oleh radikal peroksil

membentuk lipid hidroperoksida yang bersifat sitotoksik (LO^{OH}), sehingga terjadi reaksi berantai. Reaksi peroksidasi lipid akan berhenti (terminasi) apabila radikal karbon yang terbentuk pada tahap inisiasi ataupun radikal lain yang terbentuk pada saat reaksi propagasi bereaksi dengan radikal lain menjadi produk non-radikal (Setiawan dan Suhartono, 2007).

Oksidasi lipid merupakan hasil kerja dari radikal bebas. Peroksidasi lipid merupakan inisiasi reaksi berantai oleh radikal hidrogen atau oksigen, yang menyebabkan teroksidasi asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA). *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) sangat rentan terhadap reaksi radikal bebas dibandingkan dengan asam lemak tidak jenuh. Jembatan metilen yang dimiliki PUFA merupakan sasaran utama bagi radikal bebas yang akan membentuk radikal alkil, peroksil, dan alkalosil (Winarsi, 2007).

2.5 *Malondialdehyde* (MDA)

Malondialdehyde (MDA) merupakan senyawa dialdehid yang berasal dari produk akhir peroksidasi lipid didalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. *Malondialdehyde* (MDA) juga merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentose, dan heksosa. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan produk hasil radikal bebas melalui reaksi ionisasi didalam tubuh dan juga produk samping biosintesis prostaglandin yang merupakan produk akhir oksidasi lipid membran. Konsentrasi MDA yang tinggi menunjukkan ada proses oksidasi dalam membran sel (Winarsi, 2007).

Malondialdehyde (MDA) merupakan senyawa hasil peroksidasi lipid yang terbentuk pada membran sel melalui reaksi radikal bebas (radikal hidroksi)

dengan PUFA. Reaksi tersebut terjadi secara berantai akan menghasilkan sejumlah radikal lipid dan senyawa yang sangat sitotoksik terhadap endotel. Eliminasi MDA dari sirkulasi dengan bantuan enzim aldehid dehydrogenase dan thioksinasi yang terjadi di hepar terjadi dalam waktu 2 jam pada tikus, namun 10-3-% melekat semi permanen pada protein dan dieliminasi dalam waktu 12 jam (Winarsi, 2007).

Toksisitas MDA meningkat karena memiliki reaktivitas yang tinggi terutama terhadap protein dan DNA. Kadar MDA sudah digunakan secara luas untuk indikator stress oksidatif pada lemak tidak jenuh dan sebagai indikator keberadaan radikal bebas. Metode untuk pengukuran kadar MDA sering menggunakan metode *Thio Barbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) menggunakan spektrofotometer atas dasar penyerapan warna yang terbentuk dari reaksi TBARS dan MDA. Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi anatar satu molekul MDA dengan dua molekul TBARS pada pH yang rendah. Reaksi ini akan terjadi pada suasana asam dengan suhu 90-100° C. *Thio Barbituric Acid Reactive Substance* (TBARS) akan memberikan warna merah muda- kromogen yang dapat diperiksa melalui spektrofotometer pada panjang gelombang 530-535 nm atau fluoresen pada panjang gelombang 553 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi akan menunjukkan jumlah peroksidasi lipid yang telah terjadi (Asni, 2012).

2.6 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Pada penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (**Gambar 2.4**) dengan jenis kelamin jantan. Keunggulan tikus putih (*Rattus norvegicus*) digunakan untuk penelitian adalah sangat mudah ditangani,

dapat ditinggal sendirian dalam kandang, dan berukuran cukup besar, sehingga memudahkan untuk pengamatan. Tikus putih(*Rattus norvegicus*) memiliki berat pada umur empat minggu sekitar 35-40 g, sedangkan untuk tikus putih(*Rattus norvegicus*) dewasa memiliki berat antara 200-250 g (Akbar, 2010).



Gambar 2.4Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)(Koolhas, 2010).

Klasifikasi tikus putih menurut Akbar (2010) sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Murinae

Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*

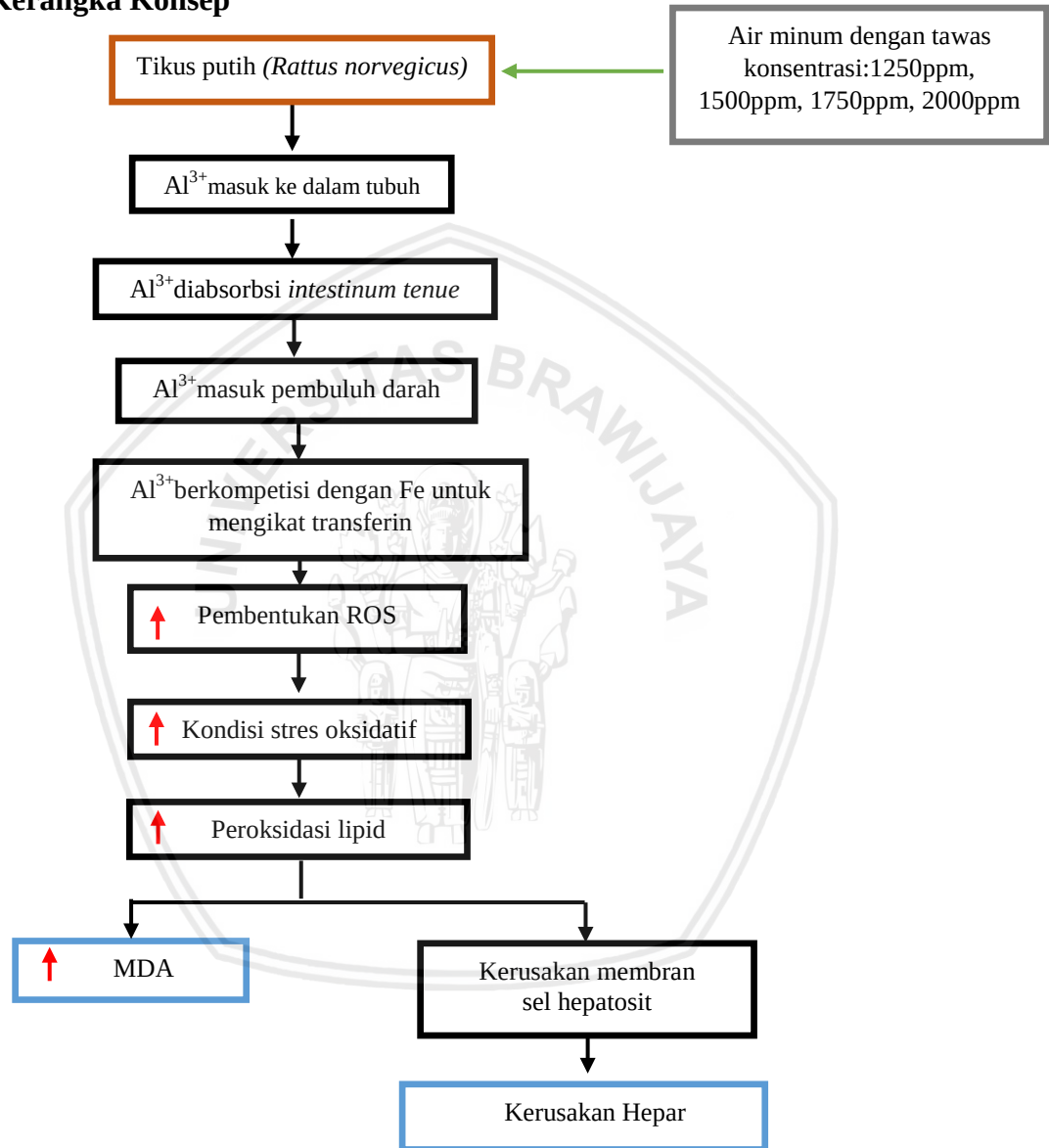
Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan coba yang paling sering digunakan karena mudah dalam perawatan, memiliki berat jantan 450-520 g dan betina 250-300 g, memiliki jangka waktu hidup 3-4 tahun, serta temperatur tubuh 36°C-40°C dengan frekuensi detak jantung 250-450 kali/menit dan frekuensi pernafasan 70-115 kali/menit. Kebutuhan makan dan minum untuk tikus

putih(*Rattus norvegicus*) yaitu untuk makan 5-10 g/100 g berat badan dan minum 10 ml/100 g berat badan (Wolfenshon and Lloyd, 2013).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- : Variabel bebas

 : Hewan model

↑ : Peningkatan
- : Variabel terikat

 : Menstimulus

Tawas merupakan aluminium sulfat yang diberikan ke hewan coba tikus putih melalui sonde lambung yang dilarutkan dalam *aquadest*. Ketika Al^{3+} masuk kedalam tubuh akan diserap oleh *intestinum tenue*, kemudian akan berkompetisi dengan zat besi untuk berikatan dengan *transferrin*. Zat besi yang tidak dapat berikatan dengan *transferrin* akan membentuk radikal bebas radikal hidroksil dan akan meningkatkan jumlah radikal bebas yang masuk kedalam tubuh, reaksi yang terjadi disebut dengan *fenton reaction*.

Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena molekul ini memiliki elektron yang tidak berpasangan, sehingga akan berusaha untuk menarik elektron dari molekul lain dan dapat berikatan secara kovalen dengan protein, lipid, dan DNA. Radikal bebas merupakan salah satu bentuk spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* /ROS). Radikal bebas yang paling berbahaya adalah radikal hidroksil ($OH^{\cdot}$) karena memiliki reaktifitas yang sangat tinggi sehingga dapat merusak tiga senyawa penting didalam sel, yaitu protein, lipid, dan DNA.

Akibat jumlah radikal bebas yang tinggi didalam tubuh dan tidak diimbangi dengan antioksidan, maka akan menyebabkan kondisi stress oksidatif. Semakin bertambahnya radikal bebas didalam tubuh, maka radikal bebas tersebut akan mengikat *Poly Unsaturated Fatty Acid*(PUFA), reaksi tersebut merupakan reaksi peroksidasi lipid. Hasil dari reaksi peroksidasi lipid akan menghasilkan senyawa aldehid yaitu MDA, sehingga MDA didalam hepar akan meningkat.

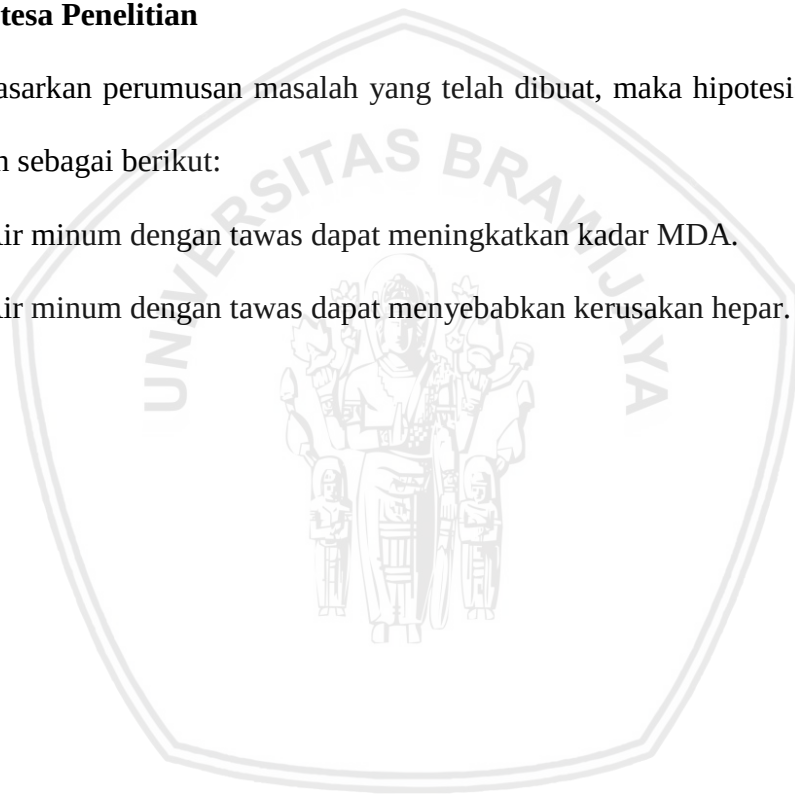
Peroksidasi lipid menyebabkan gangguan komposisi lipid membran sel terganggu, kemudian mempengaruhi permeabilitas membran sel, sehingga proses

transport ion menjadi terganggu, menyebabkan ionik sel tidak seimbang dan juga akan berdampak pada aktivitas didalam sel yang mempengaruhi pembentukan ATP oleh mitokondria. Jika kondisi ini terjadi secara kontinyu akan menyebabkan kerusakan pada sel-sel di hepar, sehingga pada pengamatan histopatologi hepar dapat ditemukan kerusakan.

3.2 Hipotesa Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah yang telah dibuat, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Air minum dengan tawas dapat meningkatkan kadar MDA.
2. Air minum dengan tawas dapat menyebabkan kerusakan hepar.





BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2018 sampai Januari 2019, yang bertempat di beberapa laboaratorium, antara lain:

1. Pemeliharaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FK UB).
2. Pembuatan air minum dengan tawas dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB.
3. Pengujian kadar MDA dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB.
4. Pembuatan preparat histopatologi hepar dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB dan pembacaan preparat di Laboratorium Histologi FKH UB.

4.2 Alat dan Bahan

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan adalah kandang tikus, pakan, air minum *aquadest*, *masker*, *glove*, *dissecting set*, sekam kayu, tempat minum, alat sonde, *disposable syringe* 3ml, timbangan digital, spatula, *beakerglass*, spatula kaca, cawan petri, pot sampel, spidol, kertas label, mortar, tabung sentrifus, sentrifus (*Thermoscientific Sorvall Primo R Centrifudge*), spektrofotometer, *microtube*, *micropipette*, inkubator, tabung *eppendorf*, vorteks, penangas air, *cooler ice box*, *object glass*, *cover glass*, mikroskop cahaya (Olympus BX51).



Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, strain *Wistar*, dengan berat badan antara 18-220 gram, umur 8-12 minggu, pakan tikus putih (*Rattus norvegicus*), *aquadest*, NaCl fisiologis, alkohol 70%, tawas, standar MDA, TCA 100%, Na-Thio 1%, HCL, formalin 10%, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, 100%), xylol bertingkat (I, II, III), paraffin cair, pewarna HE, dan *Canadian balsam*.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Rancangan penelitian
2. Persiapan hewan coba
3. Pembuatan air minum dengan tawas
4. Perlakuan pemberian air minum dengan tawas pada kelompok perlakuan
5. Euthanasi, nekropsi, dan isolasi organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*)
6. Pengukuran kadar MDA hepar dengan spektrofotometri
7. Pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi hepar dengan pewarnaan HE
8. Analisis data

4.4 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimental laboratorik dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan apabila ragam satuan percobaan yang digunakan homogen atau seragam. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada penelitian ini dibagi menjadi 5

kelompok dengan masing-masing 4 ulangan berdasarkan rumus $t(n-1) \geq 15$ (Montgomery and Kowalsky, 2011) sebagai berikut:

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

Keterangan:

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

t : Jumlah perlakuan

$$5n - 5 \geq 15$$

n : Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Tabel 4.1 Rancangan Penelitian

Perlakuan	Ulangan			
	1	2	3	4
Kelompok P1 (kontrol negatif)				
Kelompok P2 (1250 ppm)				
Kelompok P3 (1500 ppm)				
Kelompok P4 (1750 ppm)				
Kelompok P5 (2000 ppm)				

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini antara lain adalah:

1. Variabel bebas: dosis tawas pada air minum.
2. Variabel terikat: kadar MDA dan histopatologi hepar.

3. Variabel kontrol: homogenitas tikus putih (*Rattus norvegicus*) (strain, jenis kelamin, berat badan, dan umur), pakan, air minum *aquadest*, kandang plastik dengan penutup kawat, metode, waktu, dan volume paparan air minum dengan tawas.

4.6 Prosedur Kerja

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*), jantan, strain *Wistar* berumur, 8-12 minggu, dengan berat badan antara 180-220 gram. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diadaptasi dengan lingkungan selama tujuh hari sebelum digunakan dalam penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberikan pakan sebanyak 10% berat badan dan diberikan sebanyak dua kali sehari. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan dengan setiap kelompok berisi empat ekor tikus dalam satu kandang. Kandang tikus yang digunakan terbuat dari bahan plastik dengan penutup kawat dan diberikan alas berupa sekam kayu untuk menjaga kelembapan didalam kandang. Pemeliharaan tikus (*Rattus norvegicus*) untuk penelitian ini bertempat di Laboratorium Farmakologi FK UB.

4.6.2 Pembuatan Air Minum dengan Tawas

Pembuatan air minum dengan tawas untuk penelitian ini menggunakan tawas dengan bentuk kristal yang didapatkan dari CV. Sari Kimia Raya. Pembuatan air minum dengan tawas dilakukan dengan menyiapkan *aquadest* dalam wadah penampung air, ditambahkan dengan tawas yang sudah dihaluskan

dengan berbagai konsentrasi, dan diaduk hingga tawas terlarut. Konsentrasi yang digunakan merupakan modifikasi dari penelitian Ananda (2016) dan didapatkan air minum yang ditambahkan tawas dengan konsentrasi 1250 ppm, 1500 ppm, 1750 ppm, dan 2000 ppm, perhitungan dosis terdapat pada **Lampiran 3**.

4.6.3 Pemberian Air Minum dengan Tawas

Pemberian air minum dengan tawas terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan metode sonde lambung, sehingga senyawa aluminium dapat langsung masuk kedalam lambung, diabsorpsi, serta dimetabolisme oleh tubuh tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pemberian air minum dengan tawas ini diberikan terhadap empat perlakuan P2, P3, P4 dan P5 sesuai dengan dosis masing-masing perlakuan, diberikan sebanyak 6 ml/ekor/hari dengan diberikan sebanyak dua kali dalam sehari selama 3 minggu, dan diberikan air minum *aquadestadlibitum* setelah pemberian kedua air minum dengan tawas.

4.6.4 Isolasi Organ Hepar

Pengambilan organ hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dilakukan pada hari ke- 29 setelah 21 hari dilakukan perlakuan pemberian air minum dengan tawas terhadap kelompok tikus P2, P3, P4, P5 dan K(-) yang tidak diberikan air minum dengan tawas. Sebelum dilakukan pengambilan organ, tikus di euthanasi dengan metode anastesi kemudian diputus jalur pernafasan agar oksigen tidak tersalurkan kepada organ-organ, setelah tikus (*Rattus norvegicus*) dalam keadaan mati dilakukan pembedahan. Tikus putih yang di bedah diposisikan diatas papan bedah dengan posisi rebah dorsal dan bagian *extremitas* difiksasi dengan jarum.

Pembedahan dilakukan dengan penyayatan pada bagian abdomen tikus putih (*Rattus norvegicus*), setelah bagian abdomen terbuka, organ hepar sudah terlihat maka dilakukan isolasi pada organ hepar tersebut. Organ hepar dibagi menjadi dua untuk pengujian MDA dan pembuatan histopat hepar yang diisolasi dan dicuci menggunakan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) kemudian dimasukkan kedalam pot sampel. Untuk pembuatan preparat histopat organ hepar di simpan dalam pot sampel yang berisi formalin 10% yang bertujuan untuk memfiksasi organ. Fiksasi organ bertujuan untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme secara cepat, mengawetkan komponen sitologis dan histologis, dan jaringan dapat terwarnai sehingga mudah untuk diamati.

4.6.5 Pengukuran Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Hepar

Sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar MDA adalah organ hepar, organ hepar digerus dengan menggunakan mortar dingin, ditambahkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 500 μ l, dan dilakukan homogenasi. Hasil homogenasi diambil dan dimasukkan kedalam tabung ependorf. Selanjutnya, dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit dan setelah 20 menit diambil supernatan. Supernatan yang diambil dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 100 μ l, kemudian tabung reaksi tersebut ditambahkan 550 μ l, 100 μ l TCA, 100 μ l HCL 1 N, 100 μ l Na-Thio 1 %, dan dilakukan homogenasi kembali. Setelah dihomogenkan dilakukan sentrifugasi kembali dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit dan setelah di sentrifugasi dipanaskan dalam *water bath* 100 °C selama 30 menit. Sampel diukur

absorbansinya dengan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum 532 nm (Aulanni'am *et al.*, 2012).

4.6.6 Pembuatan dan Pembacaan Preparat Histopatologi Hepar Pewarnaan *Haematoksin- Eosin* (HE)

Tahapan pembuatan preparat histopatologi organ terdapat beberapa rangkaian proses yang dilakukan menurut Juliati (2017), antara lain:

1. Fiksasi

Fiksasi merupakan tahapan yang bertujuan untuk mempertahankan morfologi jaringan seperti kondisi awal. Fiksasi ini bertujuan agar tidak terjadi perubahan apapun meskipun jaringan tersebut telah melewati rangkaian proses. Secara umum bahan yang digunakan untuk fiksasi adalah larutan formalin 10% selama 12-24 jam.

2. Dehidrasi

Proses selanjutnya setelah fiksasi adalah dehidrasi. Dehidrasi merupakan proses dimana air yang berada di dalam jaringan dikeluarkan menggunakan larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 100%) masing-masing 1 jam. Tujuan dari penggunaan alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah menuju konsentrasi yang tinggi adalah agar proses dehidrasi tidak terlalu cepat yang dapat merusak mukosa jaringan yang akan mengganggu pada saat mengamati preparat.

3. *Clearing*

Proses *clearing* merupakan tahapan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan mengganti dengan larutan yang dapat berikatan dengan paraffin. Larutan yang umum digunakan adalah xylol bertingkat (I, II, III). Proses mengeluarkan alkohol dari jaringan sangat penting karena jika masih terdapat alkohol didalam jaringan akan mengakibatkan paraffin tidak dapat masuk kedalam jaringan dan akan menyebabkan jaringan menjadi sulit untuk dipotong dengan mikrotom.

4. *Embedding*

Tahapan selanjutnya adalah dengan mengeluarkan cairan xylol menggunakan paraffin cair, kemudian dilakukan proses *embedding*, yaitu proses pembuatan blok preparat dengan menanamkan atau memasukkan jaringan kedalam cetakan untuk memudahkan proses penyayatan dengan alat mikrotom. Tujuan proses ini adalah untuk membuat blok paraffin menjadi preparat permanen. Proses ini harus dilakukan dengan cepat agar paraffin cair tidak segera memadat.

5. *Sectioning*

Proses *sectioning* atau pemotongan merupakan proses pemotongan blok paraffin dengan alat mikrotom. *Sectioning* bertujuan untuk mendapatkan preparat dari blok paraffin menjadi bagian yang tipis, dengan alat ini potongan yang didapatkan memiliki ketebalan 5-7 mikron. Setelah didapatkan bagian yang tipis, preparat diletakkan pada *waterbath* dengan suhu 40-50° C. Setelah itu dilakukan *floating* yaitu penempelan preparat tipis tersebut pada *object glass* agar jaringan dapat menempel di *object glass*.

6. Pewarnaan

Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang sudah dipotong dan menempel di *object glass* untuk memudahkan pada saat pengamatan menggunakan mikroskop. Sebelum dilakukan pewarnaan, *object glass* yang sudah direkatkan dengan pita paraffin tipis berisi jaringan dimasukkan kedalam oven agar sisa-sisa paraffin hilang. Zat warna yang sering digunakan untuk pembuatan preparat HE. Pada pewarnaan HE digunakan dua macam zat warna yaitu *haematoxylin* yang akan memberikan warna biru pada inti sel dan *eosin* yang akan memberikan warna merah muda pada sitoplasma sel.

7. Mounting

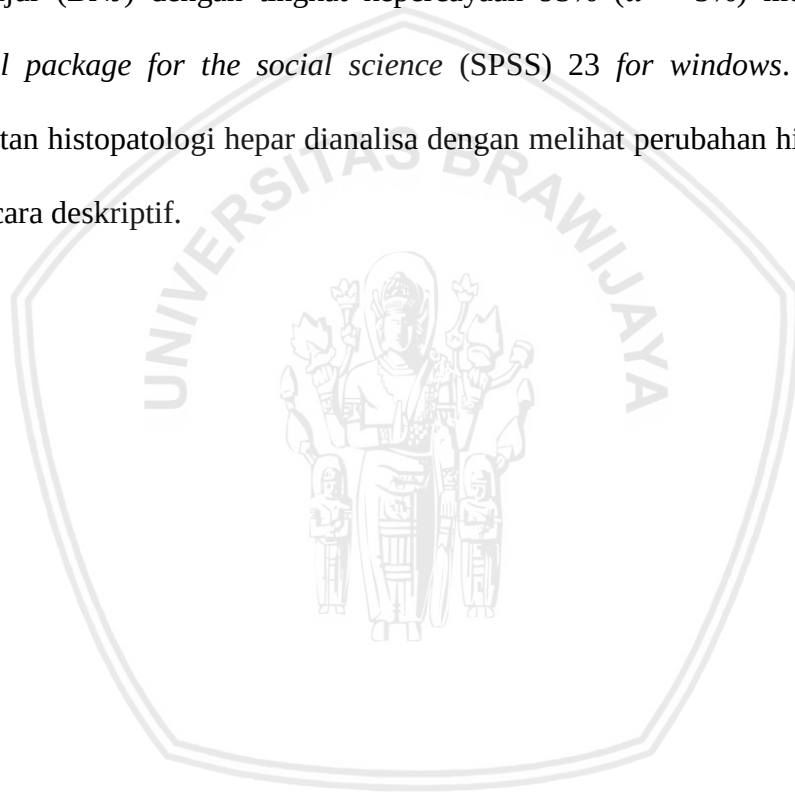
Setelah proses pewarnaan selesai, maka dilakukan proses *mounting* dengan meneteskan preparat menggunakan entellan atau balsam, kemudian ditutup dengan *deck glass*. Tujuan *mounting* adalah agar preparat lebih tahan lama dan tidak tergores.

8. Pembacaan Preparat

Setelah preparat selesai dibuat, diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran mulai dari terkecil 40x, 100x, dan 400x. Pada pembacaan preparat diamati kerusakan yang terjadi pada organ tersebut yang meliputi inflamasi, degenerasi, dan peradangan.

4.6.7 Analisa Data

Data Hasil pengukuran kadar MDA dianalisa kuantitatif, dengan ragam statistik uji *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 5\%$) menggunakan *statistical package for the social science* (SPSS) 23 *for windows*. Data hasil pengamatan histopatologi hepar dianalisa dengan melihat perubahan histopatologi hepar secara deskriptif.



BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Air Minum Tawas Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA)

Air yang mengandung tawas atau alumunium sulfat dapat menyebabkan efek toksisitas apabila air tersebut dikonsumsi secara terus menerus terhadap kesehatan tubuh, seperti meningkatkan stress oksidatif didalam tubuh yang dapat diketahui dari kadar MDA yang terbentuk akibat proses peroksidasi lipid dari radikal bebas. Kadar MDA hepar pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dihitung menggunakan metode spektrofotometri dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 580 nm, selanjutnya kadar MDA dianalisa secara kuantitatif menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey*.

Kadar MDA merupakan hasil dari proses peroksidasi lipid yang menunjukkan jumlah radikal bebas didalam tubuh. Hasil pengukuran kadar MDA menggunakan uji TBA bertujuan untuk mengetahui pemberian air minum dengan tawas terhadap peningkatan kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*). Perhitungan kadar MDA pada penelitian ini menggunakan sampel organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diuji menggunakan uji TBA dan dibaca absorbansi yang terbentuk menggunakan spektrofotometri. *Malondialdehyde*(MDA) merupakan biomarker yang paling umum digunakan untuk melihat tingkat stress oksidatif, dimana MDA dihasilkan dari proses peroksidasi lipid antara radikal bebas dengan PUFA (Asni, 2012). Hasil ditunjukkan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata-rata Kadar *Malondialdehyde*(MDA) Tikus Putih

Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA (Unit/100mg)	Peningkatan Kadar MDA Terhadap K (-)
Kontrol Negatif (K-)	95,50 ± 14,47 ^a	-
Perlakuan 1 (Air minum dengan tawas 1250 ppm)	111,50 ± 18,55 ^a	16,75%
Perlakuan 2 (Air minum dengan tawas 1500 ppm)	171,50 ± 34,37 ^b	79,58%
Perlakuan 3 (Air minum dengan tawas 1750 ppm)	207,00 ± 22,58 ^{bc}	116,75%
Perlakuan 4 (Air minum dengan tawas 2000 ppm)	230,00 ± 29,35 ^c	140,83%

Keterangan: Perbedaan notasi a, b, c menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil kadar MDA yang dianalisa statistika pada **Tabel 5.1** menunjukkan kelompok kontrol negatif (K-) memiliki hasil rata-rata sebesar 95,50 ± 14,47 U/100mg. Kelompok kontrol negatif (K-) merupakan kelompok perlakuan yang diberikan air minum dan pakan normal. Kadar MDA pada kelompok kontrol negatif (K-)digunakan sebagai acuan peningkatan kadar MDA pada kelompok perlakuan dengan paparan air minum dengan tawas.

Kelompok perlakuan 1 (P1) merupakan perlakuan yang diberikan paparan air minum dengan tawas konsentrasi 1250 ppm memiliki nilai rata-rata kadar MDA sebesar 111,50 ± 18,55 U/100mg dengan peningkatan terhadap kontrol negatif sebesar 16,75 %, angka tersebut menunjukkan peningkatan yang tidak signifikan terhadap kelompok perlakuan kontrol negatif (K-) karena memiliki notasi yang sama. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan paparan air

minum dengan tawas konsentrasi 1500 ppm memiliki nilai rata-rata kadar MDA sebesar $171,50 \pm 34,37$ U/100mg dengan peningkatan terhadap kontrol negatif sebesar 79,68 % dan sudah menunjukkan hasil yang signifikan terhadap kontrol negatif (K-) dan memiliki notasi yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa tawas sebagai radikal bebas dapat menyebabkan peroksidasi lipid sehingga dapat meningkatkan kadar MDA pada konsentrasi 1500 ppm dalam air minum secara signifikan.

Kelompok perlakuan 3 (P3) merupakan perlakuan yang diberikan paparan air minum dengan tawas konsentrasi 1750 ppm memiliki nilai rata-rata kadar MDA sebesar $207,00 \pm 22,58$ U/100mg dengan peningkatan terhadap kontrol negatif sebesar 116,75 % dan pada kelompok perlakuan 4 (P4) yang diberikan paparan air minum dengan tawas konsentrasi 2000 ppm memiliki nilai rata-rata kadar MDA sebesar $230,00 \pm 29,35$ U/100mg dengan peningkatan terhadap kontrol negatif sebesar 140,83 %, P3 dan P4 menunjukkan hasil dengan perbedaan peningkatan yang signifikan terhadap kontrol negatif (K-) karena memiliki nilai yang berlebih.

Pada keadaan normal, radikal bebas didalam tubuh diproduksi dengan jumlah yang kecil melalui beberapa proses metabolisme. Proses metabolisme yang terjadi, seperti proses oksidasi yang berlangsung pada saat terjadi respirasi sel. Radikal bebas dalam tubuh diproduksi oleh komponen sel seperti mitokondria, membran plasma, lisosom, retikulum endoplasma, dan nukleus (Pham-Huy *et al.*, 2008). Radikal bebas yang diproduksi didalam tubuh tersebut merupakan bentuk radikal bebas superoksida yang akan bereaksi dengan

antioksidan tubuh yaitu enzim SOD untuk membentuk hidrogen peroksida. Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat didalam tubuh untuk melindungi dari serangan radikal bebas, antioksidan dalam kadar tertentu dapat menghambat kerusakan yang diakibatkan oleh proses oksidasi, seperti peroksidasi lipid. Akan tetapi, jika senyawa radikal bebas didalam tubuh berlebih dapat menyebabkan antioksidan tidak dapat mengimbangi dan menyebabkan proses peroksidasi lipid yang dapat merusak sel pada organ.

Dalam penelitian ini tawas merupakan senyawa yang memiliki rumus kimia $(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)$ (Desviani, 2012). Tawas akan terpecah pada saat dilarutkan dalam air menjadi Al^{3+} , Al^{3+} tersebut akan masuk kedalam tubuh dan diserap oleh *intestinum tenue*. Setelah Al^{3+} diserap akan masuk kedalam pembuluh darah dan didistribusikan ke organ-organ termasuk hepar selanjutnya Al^{3+} akan berikatan dengan protein *carrier*, yaitu transferin. Transferin secara fisiologis akan berikatan dengan besi (Fe), sehingga Al^{3+} yang berikatan dengan transferin akan menyebabkan peningkatan jumlah Fe bebas didalam sel, sehingga Fe tersebut menjadi radikal bebas. Selanjutnya, Al^{3+} didalam sel akan meningkatkan oksidasi biologis dengan membentuk *aluminium superoxide* (AlO_2^*) yang merupakan pro-oksidan dan mempercepat pembentukan H_2O_2 , sehingga akan meningkatkan jumlah radikal bebas dalam tubuh. Jika jumlah radikal bebas yang terus meningkat dan tidak diimbangi dengan antioksidan, maka akan menyebabkan kondisi yang dinamakan dengan stress oksidatif. Stress oksidatif dan peningkatan Fe bebas dapat menyebabkan terjadi peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid merupakan reaksi antara radikal bebas yang tidak berpasangan akan berusaha untuk menarik elektron dari *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang merupakan penyusun fosfolipid pada membrane sel. Proses peroksidasi lipid yang terjadi secara terus menerus akan mengganggu kerja dari membran sel yang meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan perubahan maupun kerusakan sel. Hasil dari peroksidasi lipid tersebut adalah MDA. *Malondialdehyde*(MDA) akan meningkat seiring dengan peningkatan proses peroksidasi lipid tersebut (Winarsi, 2007).

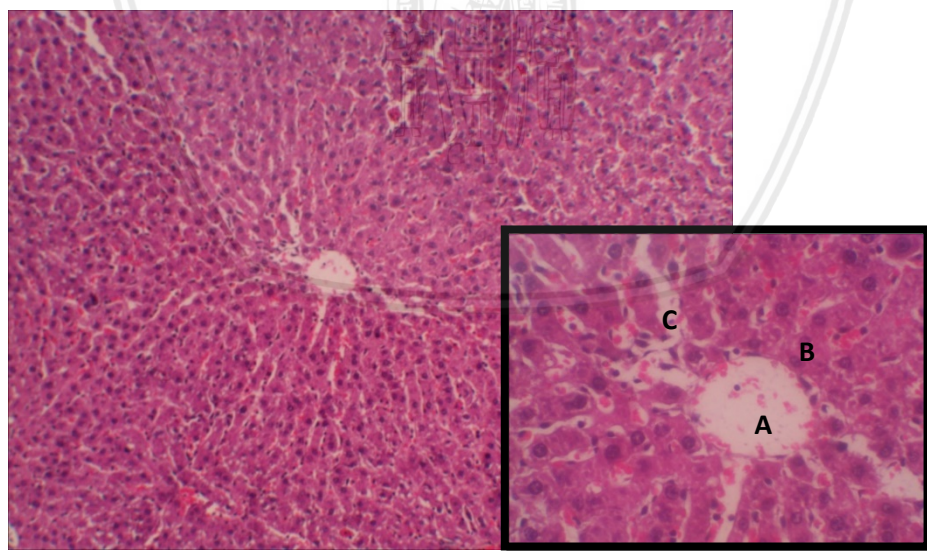
Pada perlakuan P4 yang mengalami peningkatan paling tinggi terhadap kontrol negatif (K-) dimana, merupakan perlakuan yang diberikan air minum dengan konsentrasi paling tinggi yaitu 2000 ppm. Dengan konsentrasi tersebut maka dapat terjadi peningkatan yang tinggi disebabkan jumlah radikal bebas yang masuk kedalam tubuh lebih banyak, sehingga menyebabkan terjadinya proses peroksidasi lipid yang lebih tinggi dan menghasilkan kadar MDA yang lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya.

5.2 Pengaruh Pemberian Air Minum dengan Tawas Terhadap Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Histopatologi jaringan adalah salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui perubahan terhadap sel yang terjadi. Pengamatan histopatologi organ hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan *Haematoksin-Eosin* menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100x dan 400x pada setiap kelompok perlakuan. Hepar merupakan kelenjar terbesar dan memiliki fungsi yang penting bagi tubuh. Hepar terletak pada bagian kranial dari abdomen dibawah diafragma

(Dyce *et al.*, 2002). Hepar memiliki fungsi sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin, metabolisme tubuh, sekresi empedu, detoksifikasi racun, dan membersihkan bakteri dalam darah (Lumanggo, 2008).

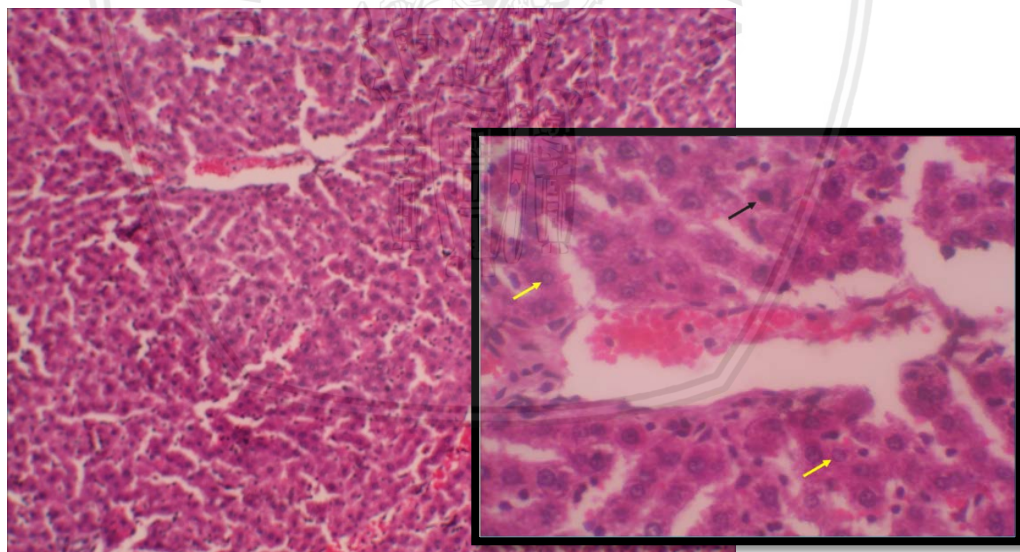
Hepar merupakan organ intraperitonial yang terdiri dari 4 lobus yang terdiri dari lobus dextra, lobus sinister, lobus caudal, dan lobus caudatus, dan lobus quadratus. Lobus hepar memiliki banyak unit fungsional yang disebut lobulus. Tiap lobulus hepar terdiri dari struktur berbentuk prisma polyhedral yang didalamnya terdapat sel-sel hepar yang disebut hepatosit, sel-sel hepatosit saling berhubungan secara tidak teratur yang membentuk rongga antar hepatosit yang disebut dengan sinusoid dan mengelilingi vena sentralis yang berada di tengah lobulus. Sinusoid merupakan tempat perlintasan darah dan memiliki sel fagositosis yang disebut sel kuppfer.



Gambar 5.1 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) kontrol negatif dengan pewarnaan *Haematoksilin-Eosin*, perbesaran 100x dan 400x

Keterangan: A: Vena sentralis, B: Sel hepatosit, C: Sinusoid

Gambaran pengamatan hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa tikus kelompok kontrol negatif (**Gambar 5.2**) merupakan perlakuan yang diberikan air minum dan pakan normal menunjukkan, gambaran histologi dalam keadaan normal yang meliputi sel hepatosit, vena sentralis, dan sinusoid dalam keadaan normal. Dalam pengamatan tersebut terlihat tidak mengalami kerusakan, karena sel hepatosit yang merupakan struktur penyusun organ hepar dapat terlihat tersusun dalam keadaan yang normal dengan inti sel ditengah dan berwarna keunguan. Pada vena sentralis terlihat lumen yang berbentuk bulat dan sinusoid dalam pengamatan tersebut juga dapat terlihat tersusun seperti celah beraturan, tidak melebar, dan tidak menyempit.



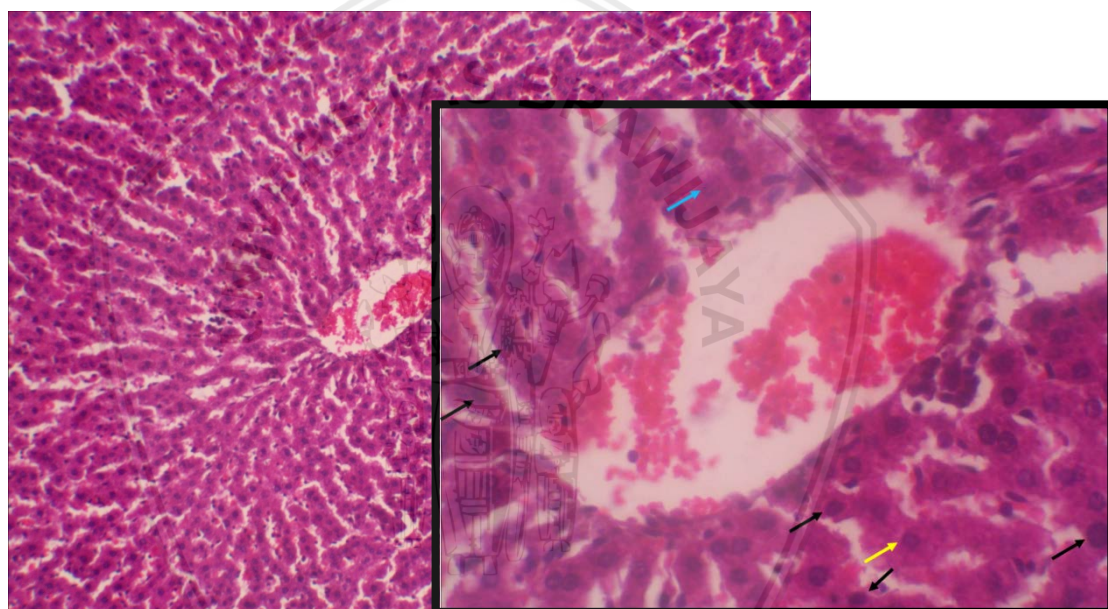
Gambar 5.2 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) perlakuan 1 (P1) dengan pewarnaan *Haematoksilin-Eosin*, perbesaran 100x dan 400x

Keterangan:

↑ Nekrosis piknotik

↑ Nekrosis kariolisis

Pengamatan histopatologi pada perlakuan 1 (P1) yang diberikan air minum dengan tawas konsentrasi 1250 ppm (**Gambar 5.2**) menunjukkan adanya kerusakan yang terjadi pada hepar jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan kontrol negatif (K-). Kerusakan yang terjadi pada kelompok perlakuan 1 (P1) berupa sel hepatosit dapat terlihat susunan sel menjadi tidak teratur kemudian sel hepatosit mengalami nekrosis piknotik dan kariolisis.



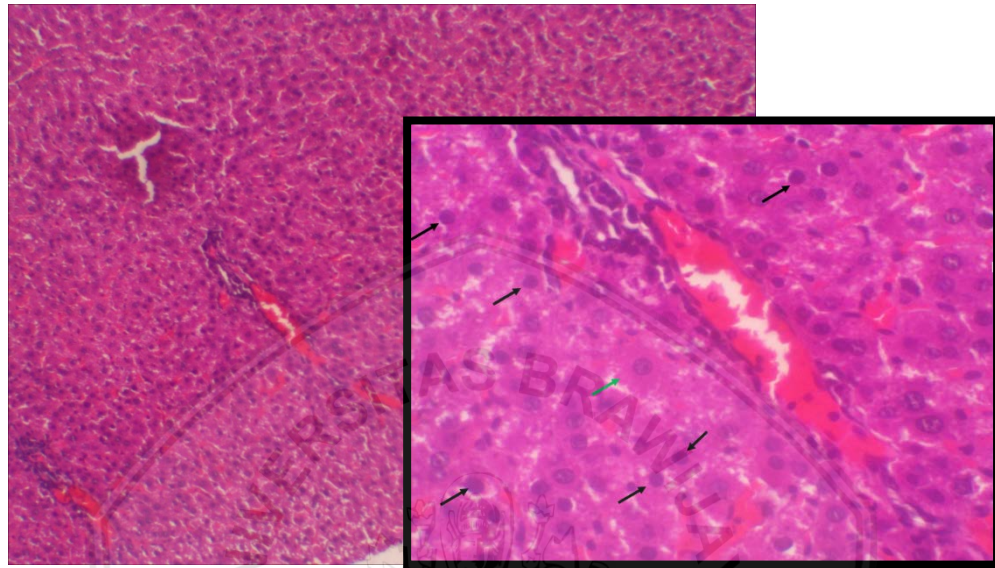
Gambar 5.3 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) perlakuan 2 (P2) dengan pewarnaan *Haematoksilin-Eosin*, perbesaran 100x dan 400x

Keterangan:

- ↑ Nekrosis piknotik
- ↑ Nekrosis kariolisis
- ↑ nekrosis karioreksis

Pengamatan organ hepar pada kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberikan air minum dengan tawas konsentrasi 1500 ppm (**Gambar 5.3**) menunjukkan kerusakan yang hampir sama dengan perlakuan 1 (P1) seperti sel hepatosit yang

tidak beraturan dan mengalami kematian yang disebut dengan nekrosis piknotik, karioreksis, dan kariolisis.



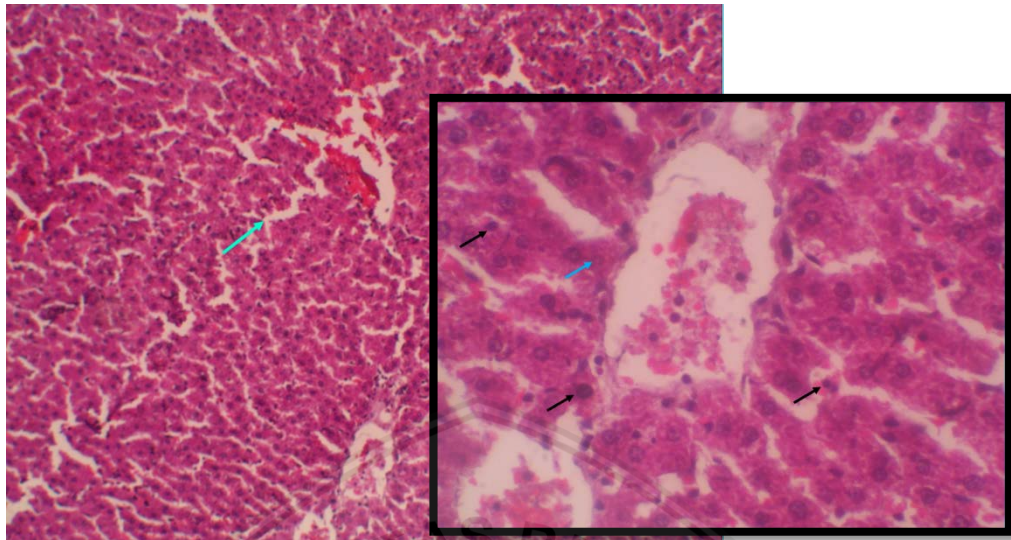
Gambar 5.4 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) perlakuan 3 (P3) dengan pewarnaan *Haematoksilin-Eosin*, perbesaran 100x dan 400x

Keterangan:

↑ Nekrosis piknotik

↑ Degenerasi hidropik sel hepatosit

Gambaran organ hepar kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberikan air minum dengan tawas konsentrasi 1750 ppm (**Gambar 5.4**) menunjukkan kerusakan yang lebih parah dibandingkan dengan kelompok perlakuan 2 (P2) dan juga pada kelompok perlakuan 1 (P1) karena semakin banyak sel hepatosit yang mengalami nekrosis piknotik serta pada perlakuan 3 sel hepatosit mengalami degenerasi hidropik.



Gambar 5.5 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) perlakuan 4 (P4) dengan pewarnaan *Haematoksilin-Eosin*, perbesaran 100x dan 400x

Keterangan:

- ↑ Nekrosis piknotik
- ↑ Nekrosis karioreksis

Pada kelompok perlakuan 4 (P4) (**Gambar 5.5**) merupakan gambaran organ hepar yang mengalami kerusakan dengan ditandai oleh sel hepatosit yang sudah tidak tersusun secara beraturan dan pada sel hepatosit mengalami nekrosis piknotik dan karioreksis, pada kelompok perlakuan 4 (P4) merupakan kerusakan yang paling parah dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan dan kontrol negatif.

Pada perlakuan P4 yang mengalami kerusakan paling parah terhadap kontrol negatif (K-) dimana, merupakan perlakuan yang diberikan air minum dengan konsentrasi paling tinggi yaitu 2000 ppm. Dengan konsentrasi tersebut maka dapat meningkatkan kerusakan yang terjadi akibat jumlah radikal bebas yang masuk kedalam tubuh lebih banyak, sehingga menyebabkan terjadinya proses

peroksidasi lipid yang lebih tinggi dan menghasilkan kadar MDA yang lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya.

Sel hepatosit merupakan unit struktural organ hepar yang tersusun membentuk polihedral, hepatosit memiliki retikulum endoplasma kasar dan halus, dalam hepatosit retikulum endoplasma halus tersebar didalam sitoplasma. Retikulum endoplasma halus ini memiliki fungsi sebagai tempat proses detoksifikasi zat toksik sebelum dikeluarkan oleh tubuh (Janqueira dan Carneiro, 1995). Kumpulan sel hepatosit di hepar memiliki 3 zona dimana, zona 1 terletak paling dekat dengan traktus portal sehingga paling banyak menerima darah yang kaya akan oksigen, sedangkan pada zona 3 terletak paling jauh dan hanya menerima sedikit oksigen, dan zona 2 terletak diantara zona 1 dan zona 3 (Junqueira *et al.*, 2007).

Pada perlakuan P1, P2, P3, dan P4 diberikan air minum tawar yang mengandung alumunium, ketika Al masuk kedalam tubuh akan diserap di *intestinum tenue* kemudian masuk kedalam pembuluh darah dan akan berkompetisi dengan Fe untuk berikatan dengan *transferrin*, menyebabkan penumpukan Fe dalam tubuh, Al dan Fe bebas didalam tubuh tersebut akan membentuk radikal hidroksil yang merupakan jenis radikal bebas yang paling reaktif. Radikal hidroksil tersebut akan berikatan dengan PUFA dimembran sel yang disebut proses peroksidasi lipid (Marciniak *etal.*, 2009). Proses peroksidasi lipid tersebut menyebabkan kerusakan pada membran hepatosit, kerusakan hepatosit yang terjadi pada penelitian ini ditandai dengan nekrosis, pembengkakan, dan pelebaran jarak antar sel hepatosit.

Nekrosis merupakan salah satu pola dari kematian sel. Nekrosis dapat terjadi akibat suplai darah hilang atau setelah terpapar toksin yang ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Hal ini dapat menyebabkan disfungsi dari suatu organ (Kumar dan Robbins, 2007). Menurut Lestari dan Agus (2011) nekrosis merupakan perubahan yang terletak pada inti dan memiliki tiga pola yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis. Kematian pada sel hepatosit terjadi pada semua kelompok perlakuan yang diberikan air minum dengan tawas diakibatkan oleh radikal bebas yang berikatan dengan membran sel hepatosit sehingga menyebabkan kerusakan pada sel dan pada akhirnya sel mengalami kematian.

Degenerasi hidropik yang terlihat pada perlakuan P3 diakibatkan oleh radikal bebas yang merusak membran sel sehingga mengganggu transport ion, rusak nya membran sel menyebabkan transport ion Na terganggu, Na didalam sel tidak dapat keluar sehingga konsentrasi Na di dalam sel tinggi, konsentrasi Na yang tinggi menyebabkan air yang bergerak dari konsentrasi rendah ke tinggi dapat masuk kedalam sel hepatosit yang dinamakan dengan osmosis, hal tersebut menyebabkan pembengkakan pada sel hepatosit. Kadar MDA pada perlakuan P4 memiliki jumlah yang terbanyak dibandingkan perlakuan lainnya karena pada P4 diberikan air minum tawas dengan konsentrasi tertinggi yaitu 2000 ppm.

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian tawas dalam air minum tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan dosis bertingkat dapat meningkatkan kadar MDA hepar pada perlakuan P1 (1250 ppm) dan peningkatan yang signifikan pada perlakuan P2 (1500 ppm), P3 (1750 ppm), dan P4 (2000 ppm).
2. Pemberian tawas dalam air minum tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan dosis bertingkat dapat menyebabkan perubahan patologi pada sel hepatosit seperti nekrosis piknotik, kariolisis, dan karioreksis serta terjadi degenerasi hidropik pada sel hepatosit pada perlakuan P3.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini agar dilakukan penelitian lanjutan mengenai pencegahan dan juga pengobatan terhadap pengaruh tawas yang dapat meningkatkan stress oksidatif dan menimbulkan kerusakan pada organ hepar.

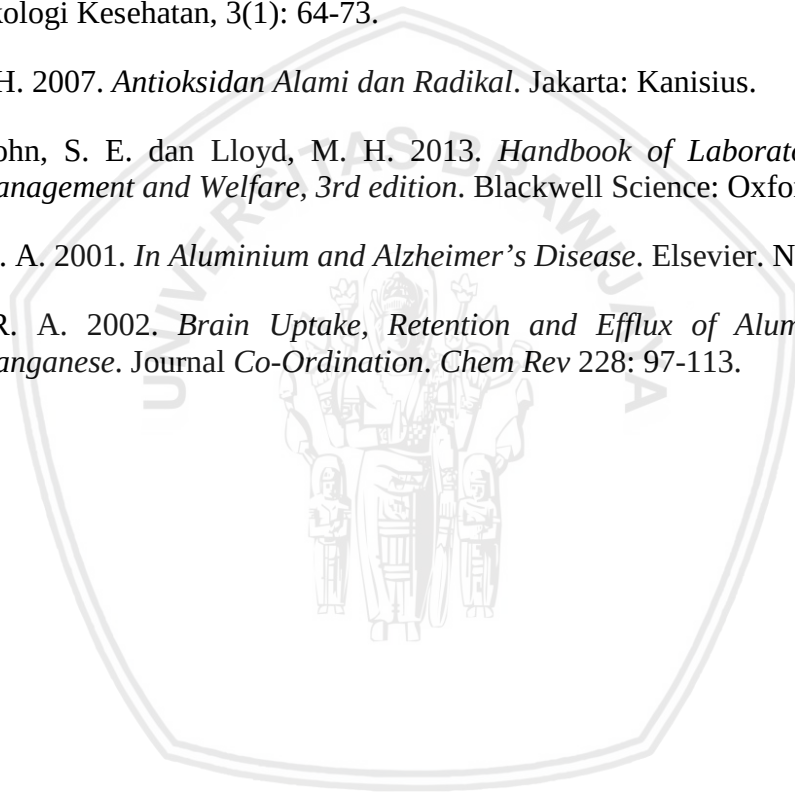
DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Ananda, P.R., A. Ismail. 2016. Pengaruh Pemberian Tawas dengan Dosis Bertingkat Dalam Pakan Selama 30 hari Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol 5 No. 3 Agustus 2016.
- Antoniraj. 2014. *How To Purify Muddy Water*. www.Instructables.com. [Diakses 15 Oktober 2018].
- Asni, Enikarmila, 2012. *Pengaruh Air Perasan Umbi Bawang Merah (Allium ascalonicum L.) Terhadap Malondialdehid (MDA) Plasma Mencit yang Di Induksi hiperkolesterolemia*. Lembaga Penelitian Universitas Riau, Riau.
- Aulanni'am, Roosdiana, Ana and N. L. Rahmah. 2012. The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in Rattus norvegicus. *Journal of Life Sciences* 6: 144-154.
- Aziz, T, Dwi Yahrinta Pratiwi, Lola Rethiana. 2013. Pengaruh Penambahan Tawas $Al_2(SO_4)_3$ Dan Kaporit $Ca(OCl)_2$ Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Air Sungai Lambidaro. *Jurnal Teknik Kimia* No. 3, Vol. 19.
- Cheng, R. C. K., Chan M. H.M., Ho, C.S., Lam C. W. K and Lau, E. L. K. 2001. *Heavy Metal Poisoning Clinical Significance and Laboratory Investigation*. Asia Pasific Analyte Notes. BD Indispensable To Human Health 7(I).
- Cochrane, G. C. 1991. Cellular Injury by Oxidant. *Am.J.Med*.
- Desviani, Amanda P. *Evaluasi Pemberian Dosis Koagulan Aluminium Sulfat Cair dan Bubuk Pada Sistem Dosing Koagulan di Instalasi Pengolahan Air Minum PT. Krakatau Tirta Industri*. [Skripsi] Institut Pertanian Bogor, 2012.
- Domingo, J.L. 2003. *Aluminium Toxicology*. United States: Elsevier.

- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. 2002. *Textbook of Veterinary Anatomy 3rd Ed.* USA: W.B. Saunders Company.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Kanisius. Yogyakarta.
- Feibo, X, Liu Y., ZhaoH., Yu K., Song M., Zhu Y., & Li Y. 2017. *Aluminum Chloride Caused Liver Dysfunction and Mitochondrial Energy Metabolism Disorder In Rat. Journal Of Inorganic Biochemistry* 17: 55-62.
- Ganong WF. 2008. *Review of Medical Physiology*. New York: The McGraw–Hill Companies.
- Guyton AC, Hall JE. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi ke-11*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Juliati. 2017. *Gambaran Mikroskopis Carcinoma Mammae Yang Difiksasi Dengan Netral Buffer Formalin 10% Dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin*. [Tesis]. Muhammadiyah University of Semarang.
- Junqueira, L.C., dan Carneiro, J. 1995. *Histologi Dasar*. Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Junqueira L.C., J.Carneiro, R.O. Kelley. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi ke-5. Tambayang J., penerjemah. Terjemahan dari Basic Histology. EGC. Jakarta.
- Kierszenbaum AL, Tres LL. 2012. *Histology and Cell Biology, 3rd ed.* United States of America: Elsevier Saunders.
- Koolhaas, J.M. 2010. *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals 8th Ed.* John Hopkins University Press, Baltimore, 311.
- Kumar S, Mishra CK, Ahuja A, Rani A, Nema RK. 2012. Phytoconstituents and pharmacological activities of *Musa paradisiaca* Linn. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. 4(2): 199–206.
- Kumar, V., Cotran, R.S., dan Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi. Edisi 7; ali Bahasa, Brahm U.* Pendt;editor Bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto, Nurwany Darmaniah, Nanda Wulandari-ed.7-Jakarta: EGC.
- Kurniawan, S. N. 2017. Sinyal Neutron Neuronal Signaling. *Mnj*, Vol. 01, No. 02, Juli 2015.
- Lestari, Ajeng S.P. dan Agus Mulyono. 2011. *Analisis Citra Ginjal untuk Identifikasi Sel Piknosis dan Sel Nekrosis*. *Jurnal Neutrino* Vol.4, No.1, p:48-66.

- Mailloux R.J., J.Lemire, V.D. Appanna. 2011. *Hepatic Response to Aluminium Toxicity: Dyslipidemia and Liver Diseases*. Elsevier Experimental Cell Research 317 (2011) 2231-2238.
- Marciniak, A., Brzezczynska, J., Gwozdzinski, K., Jegier, A. 2009. Antioxidant Capacity and Physical Exercise. *Biology of Sport*, Vol. 26 No3, 197-213.
- Marangoni, M.A. 2007. Renal function and histology after acute hemorrhage in rats under dexmedetomidine action. *Acta Cirurgica Brasileira*. 22(4): 291-298.
- Matsuzaki S, Szweda PA, Szweda LI, Humphries KM. 2009. Regulated Production of Free Radicals by the Mitochondrial Electron Transport Chain: Cardiac Ischemic Preconditioning. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009;61(14):1324-31.
- Mescher AL. 2007. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*, 12th ed. United States: Lange.
- Mescher, Anthony L. 2010. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. USA: The McGraw-Hill Companies.
- Pandey, G. 2013. A Review on Toxic Effect of Aluminium Exposure on Male Reproductive System and Probable Mechanism of Toxicity. *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology* 2012; 3 (3): 48-57.
- Pandit, Aashish; Sachdeva, Tarun dan Bafna, Pallavi., 2012. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02(05), 233-43.
- Pham-Huy LA, He H, & Pham-Huy C. 2008. *Free radicals, antioxidants in disease and health*. International Journal of Biomedical Science, 4(2), 89—96.
- Setiawan, B. dan E. Suhartono. 2007. *Peroksidasi Lipid dan Penyakit Terkait Stres Oksidatif pada Bayi Prematur*. Majalah Kedokteran Indonesia. 57(1): 10-14.
- Selvi, N.Z., M. Riau waty, H. Syawal. 2016. Histopatologi Kidney of *Pangasius hypophthalmus* That Are Immersed in Curcumin and Were Infected by *Aeromona hydrophila*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan* Vol 3. No 2. (2016)
- Sherwood L. 2012. *Anatomi dan Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC.
- Snell, Richard S. 2006. *Anatomi Klinik ed. 6*. EGC: Jakarta.

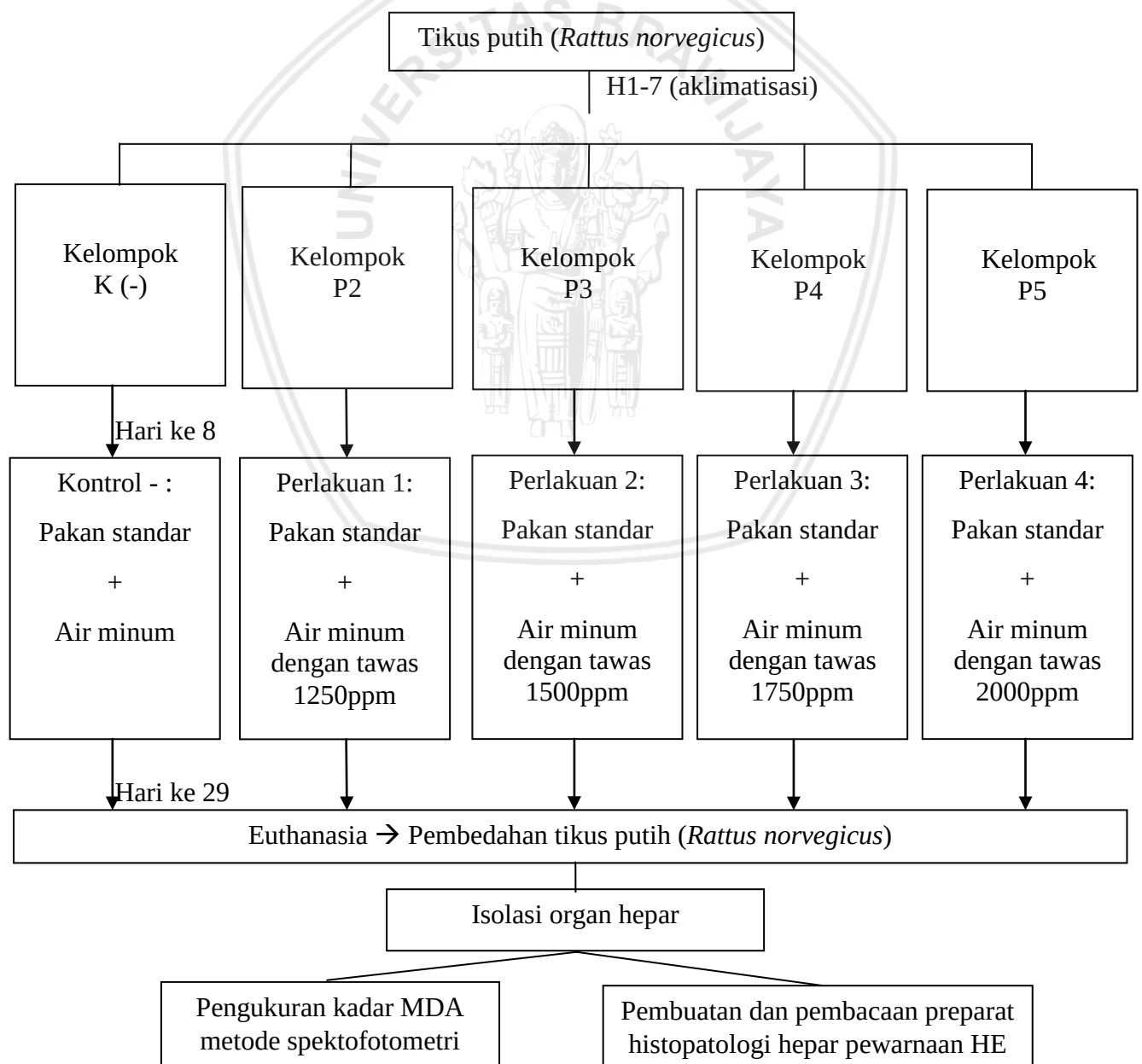
- Sulaiman HA, LA Lesmana, HMS Noer. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati Edisi Pertama*. Jakarta: Jayaabadi.
- Telling Christa van, M., 2003, *Organ Physiology from Phenomenological Point of View*. Driebergen. Louis Bolk Instituut; (3): 30.
- Venkataraman S, Schafer FQ, Buettner GR. 2004. *Detection of Lipid Radicals Using EPR*. Mary Ann Liebert, Inc. 2004;6(3).
- Widiyanti, Ni Luh Putu Manik., Ni Putu Ristiati. 2004 *Analisis Kualitatif Bakteri Koliform pada Depo Air Minum Isi Ulang di Kota Singaraja Bali*. Jurnal Ekologi Kesehatan, 3(1): 64-73.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal*. Jakarta: Kanisius.
- Wolfensohn, S. E. dan Lloyd, M. H. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 3rd edition. Blackwell Science: Oxford.
- Yokel, R. A. 2001. *In Aluminium and Alzheimer's Disease*. Elsevier. New York.
- Yokel, R. A. 2002. *Brain Uptake, Retention and Efflux of Aluminium and Manganese*. Journal Co-Ordination. Chem Rev 228: 97-113.

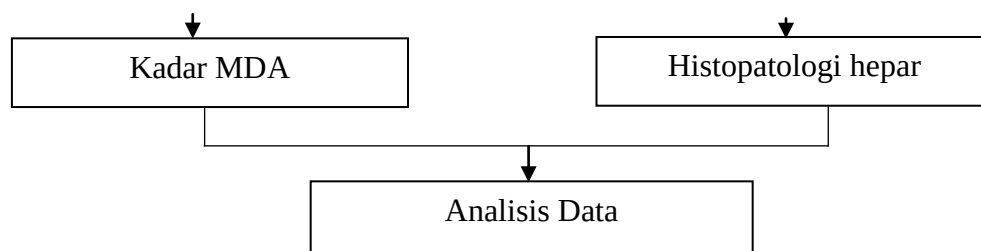




LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian





Lampiran 2. Perhitungan Dosis Tawas

Perhitungan Dosis Tawas

$$1 \text{ ppm} = 1 \text{ mg / l}$$

$$\text{Konsentrasi tawas} = 99\%$$

$$\text{Jumlah Tawas} = \frac{\text{besar ppm} / \text{konsentrasi}}{1 \text{ l}}$$

1. Konsentrasi 1250 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{1250 / 0,99}{1 \text{ l}} = 1262 \text{ mg/l}$$

2. Konsentrasi 1500 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{1500 / 0,99}{1 \text{ l}} = 1515 \text{ mg/l}$$

3. Konsentrasi 1750 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{1750 / 0,99}{1 \text{ l}} = 1767 \text{ mg/l}$$

4. Konsentrasi 2000 ppm

$$\text{Jumlah tawas} = \frac{2000 / 0,99}{1 \text{ l}} = 2020 \text{ mg/l}$$

Lampiran 3. Pembuatan Air minum dengan Tawas

1. Dosis tawas dilakukan perhitungan.
2. Tawas ditimbang sesuai dengan konsentrasi masing-masing.
3. Lima wadah penampungan air disiapkan.
4. Tawas dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan selama 20 menit.
5. Air mineral sebanyak 1000 ml dimasukkan ke dalam masing-masing wadah penampungan.
6. Tawas dimasukkan ke dalam wadah penampungan sesuai dengan jumlah yang telah dilakukan perhitungan dan dihomogenkan menggunakan spatula kaca.

Lampiran 4. Pengukuran Kadar MDA

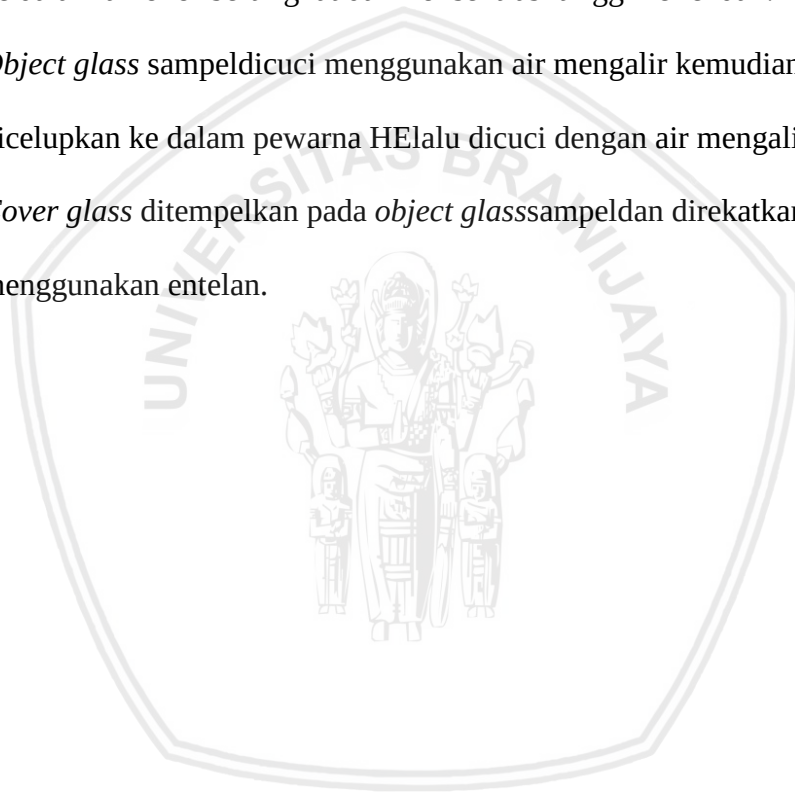
1. Sampel hepar dicuci menggunakan larutan PBS dan digerus menggunakan mortar.
2. Larutan NaCl sebanyak 500 μ L ditambahkan ke dalam mortar, dihomogenkan, dan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf.

3. Larutan disentrifus dengan kecepatan 8000 rpm selama 20 menit.
4. Supernatan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 100 μL .
5. Larutan ditambahkan 100 μL TCA, 100 μL HCL 1 N, dan 100 μL Na-Thio 1 % kemudian dihomogenkan.
6. Larutan disentrifus kembali dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit dan dimasukkan ke dalam *waterbath* 100° C selama 30 menit.
7. Nilai absorbansi diukur menggunakan metode spektrofotometri.
8. Hasil yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *one way* ANOVA dan dilanjutkan uji beda nyata jujur BNJ α 0,05.

Lampiran 5. Pembuatan Histopatologi Hepar

1. Tikus dieuthanasi dengan metode dislokasi leher.
2. Tikus yang telah dieuthanasi dibuka bagian abdomen untuk dilakukan isolasi organ hepar.
3. Organ hepar hasil isolasi dipotong menjadi bagian-bagian kecil.
4. Sampel hepar dimasukkan kedalam pot sampel berisi formalin 10% dan difiksasi selama 24 jam.
5. Sampel selanjutnya dilakukan proses dehidrasi dengan merendam sampel didalam alkohol bertingkat selama masing-masing 1 jam.
6. Sampel dilakukan proses *clearing* dengan memasukkan sampel kedalam larutan xylol I, II, III.
7. Sampel dimasukkan kedalam paraffin cair dan selanjutnya dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 58-60°C.

8. Paraffin cair berisi sampel dimasukkan kedalam cetakan dan blok paraffin berisi organ dipotong menggunakan mikrotom.
9. Hasil irisan dimasukkan kedalam air hangat.
10. Hasil irisan diangkat dan ditempelkan pada *object glass*.
11. *Object glass* berisi irisan organ dimasukkan dalam larutan xylol kemudian ke dalam alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi ke rendah.
12. *Object glass* sampel dicuci menggunakan air mengalir kemudian dicelupkan ke dalam pewarna HE lalu dicuci dengan air mengalir.
13. *Cover glass* ditempelkan pada *object glass* sampel dan direkatkan menggunakan entelan.



Lampiran 6. Sertifikat Laik Etik Penggunaan Hewan Model



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 1024-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

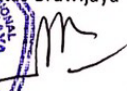
**PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH PEMBERIAN AIR MINUM TAWAS
TERHADAP KADAR SERUM GLUTAMIC PIRUVIC
TRANSMINASE (SGPT) DAN SERUM GLUTAMIC
OXALOACETIC TRANSMINASE (SGOT) PADA TIKUS**

PENELITI : ANNISA LARASATI

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 25 Oktober 2018
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM FARMAKOLOGI

Jalan Veteran, Malang 65145, Jawa Timur – Indonesia Telp. (62)(341) 569117;
 567192 Pes. 134, 135 – Fax. (62)(341) 564755
 E-mail: sekr.fk@ub.ac.id Website: <http://fk.ub.ac.id>

Kadar MDA Hepar a/n Waddran

No	Kode/Kel	Abs MDA Duodenum	Kadar MDA (ng/100 mg)
1	Kontrol	0,052	0,079
2	Kontrol	0,055	0,089
3	Kontrol	0,062	0,112
4	Kontrol	0,059	0,102
5	P1.1	0,06	0,106
6	P1.2	0,059	0,102
7	P1.3	0,07	0,139
8	P1.4	0,058	0,099
9	P2.1	0,065	0,122
10	P2.2	0,082	0,178
11	P2.3	0,084	0,185
12	P2.4	0,089	0,201
13	P3.1	0,097	0,228
14	P3.2	0,081	0,175
15	P3.3	0,092	0,211
16	P3.4	0,093	0,214
17	P4.1	0,089	0,201
18	P4.2	0,094	0,218
19	P4.3	0,11	0,270
20	P4.4	0,098	0,231
21	P4.5	0,127	0,326

Malang, 19 Februari 2019
 a/n Kepala Lab. Farmakologi FKUB
 Ko Penelitian


 Dr. Husnul Khotimah SSi, MKes
 NIP. 197511252005012001

Lampiran 7. Hasil Pengukuran Kadar *Malondialdehyde*(MDA) Hepar

Lampiran 8. Hasil Uji Statistika Kadar *Malondialdehyde*(MDA) Hepar

A. Uji Normalitas

Tests of Normality

KELOMPOK		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
MDA	KONTROL	.173	4	.	.981	4	.909
	NEGATIF						
	P1	.367	4	.	.767	4	.055
	P2	.325	4	.	.868	4	.288
	P3	.320	4	.	.891	4	.388
	P4	.236	4	.	.951	4	.721

a. Lilliefors Significance Correction

B. Statistika Deskriptif

Descriptives

MDA								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
KONTROL NEGATIF	4	95.500	14.4799	7.2399	72.459	118.541	79.0	112.0
P1	4	111.500	18.5562	9.2781	81.973	141.027	99.0	139.0
P2	4	171.500	34.3754	17.1877	116.801	226.199	122.0	201.0
P3	4	207.000	22.5832	11.2916	171.065	242.935	175.0	228.0
P4	4	230.000	29.3598	14.6799	183.282	276.718	201.0	270.0
Total	20	163.100	58.1042	12.9925	135.906	190.294	79.0	270.0

C. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

MDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.592	4	15	.674

D. One Way Analysis of Variances

ANOVA

MDA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54822.800	4	13705.700	22.051	.000
Within Groups	9323.000	15	621.533		
Total	64145.800	19			

E. Uji Post HOC

99 Multiple Comparisons

MDA

Tukey HSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK				Lower Bound	Upper Bound
KONTROL NEGATIF	P1	-16.0000	17.6286	.890	-70.436	38.436
	P2	-76.0000*	17.6286	.005	-130.436	-21.564
	P3	-111.5000*	17.6286	.000	-165.936	-57.064
	P4	-134.5000*	17.6286	.000	-188.936	-80.064
P1	KONTROL NEGATIF	16.0000	17.6286	.890	-38.436	70.436
	P2	-60.0000*	17.6286	.028	-114.436	-5.564

	P3	-95.5000*	17.6286	.001	-149.936	-41.064
	P4	-118.5000*	17.6286	.000	-172.936	-64.064
P2	KONTROL NEGATIF	76.0000*	17.6286	.005	21.564	130.436
	P1	60.0000*	17.6286	.028	5.564	114.436
	P3	-35.5000	17.6286	.306	-89.936	18.936
	P4	-58.5000*	17.6286	.032	-112.936	-4.064
P3	KONTROL NEGATIF	111.5000*	17.6286	.000	57.064	165.936
	P1	95.5000*	17.6286	.001	41.064	149.936
	P2	35.5000	17.6286	.306	-18.936	89.936
	P4	-23.0000	17.6286	.693	-77.436	31.436
P4	KONTROL NEGATIF	134.5000*	17.6286	.000	80.064	188.936
	P1	118.5000*	17.6286	.000	64.064	172.936
	P2	58.5000*	17.6286	.032	4.064	112.936
	P3	23.0000	17.6286	.693	-31.436	77.436

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

F. Uji Tukey

MDA

Tukey HSD

KELOMPOK	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
KONTROL NEGATIF	4	95.500		
P1	4	111.500		
P2	4		171.500	

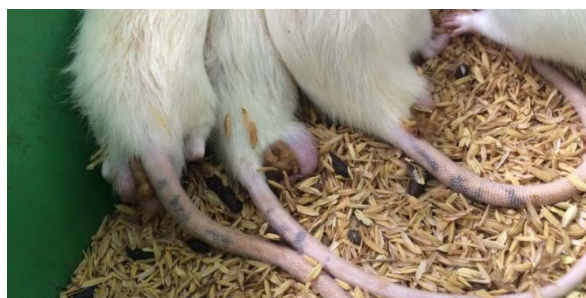
P3	4	207.000	207.000
P4	4	230.000	
Sig.		.890	.306

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



Lampiran 9. Gejala Klinis Akibat Paparan Air Minum Dengan Tawas

A. Tikus mengalami diare pada P3 dan P4



B. Tikus mengalami perilaku pasif pada perlakuan P3 dan P4



Lampiran 10. Presentase Peningkatan Kadar MDA Terhadap Kontrol Negatif

Kelompok P1 Air Minum Tawas 1250 ppm Terhadap Kontrol Negatif

$$\begin{aligned}\text{Peningkatan Kadar (\%)} &= \frac{\text{Rataan P1} - \text{Rataan Kontrol (-)}}{\text{Rataan Kontrol (-)}} \times 100\% \\ &= \frac{111,50 - 95,50}{95,50} \times 100\% \\ &= 16,75\%\end{aligned}$$

Kelompok P2 Air Minum Tawas 1500 ppm Terhadap Kontrol Negatif

$$\begin{aligned}\text{Peningkatan Kadar (\%)} &= \frac{\text{Rataan P2} - \text{Rataan Kontrol (-)}}{\text{Rataan Kontrol (-)}} \times 100\% \\ &= \frac{171,50 - 95,50}{95,50} \times 100\% \\ &= 79,58\%\end{aligned}$$

Kelompok P3 Air Minum Tawas 1750 ppm Terhadap Kontrol Negatif

$$\text{Peningkatan Kadar (\%)} = \frac{\text{Rataan P3} - \text{Rataan Kontrol (-)}}{\text{Rataan Kontrol (-)}} \times 100\%$$

Rataan Kontrol (-)

$$= \frac{207 - 95,50}{95,50} \times 100\%$$

95,50

$$= 116,75\%$$

Kelompok P4 Air Minum Tawas 2000 ppm Terhadap Kontrol Negatif

Peningkatan Kadar (%) = $\frac{\text{Rataan P4} - \text{Rataan Kontrol (-)}}{\text{Rataan Kontrol (-)}} \times 100\%$

Rataan Kontrol (-)

$$= \frac{230 - 95,50}{95,50} \times 100\%$$

95,50

$$= 140,83\%$$



BAB 6 PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian tawas dalam air minum tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan dosis bertingkat dapat meningkatkan kadar MDA hepar pada perlakuan P1 (1250 ppm) dan peningkatan yang signifikan pada perlakuan P2 (1500 ppm), P3 (1750 ppm), dan P4 (2000 ppm).
2. Pemberian tawas dalam air minum tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan dosis bertingkat dapat menyebabkan perubahan patologi pada sel hepatosit seperti nekrosis piknotik, kariolisis, dan karioreksis serta terjadi degenerasi hidropik pada sel hepatosit pada perlakuan P3.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini agar dilakukan penelitian lanjutan mengenai pencegahan dan juga pengobatan terhadap pengaruh tawas yang dapat meningkatkan stress oksidatif dan menimbulkan kerusakan pada organ hepar.



DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Ananda, P.R., A. Ismail. 2016. Pengaruh Pemberian Tawas dengan Dosis Bertingkat Dalam Pakan Selama 30 hari Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol 5 No. 3 Agustus 2016.
- Antoniraj. 2014. *How To Purify Muddy Water*. www.Instructables.com. [Diakses 15 Oktober 2018].
- Asni, Enikarmila, 2012. *Pengaruh Air Perasan Umbi Bawang Merah (Allium ascalonicum L.) Terhadap Malondialdehid (MDA) Plasma Mencit yang Di Induksi hiperkolesterolemia*. Lembaga Penelitian Universitas Riau, Riau.
- Aulanni'am, Roosdiana, Ana and N. L. Rahmah. 2012. The Potency of Sargassum duplicatum Bory Extract on Inflammatory Bowel Disease Therapy in Rattus norvegicus. *Journal of Life Sciences* 6: 144-154.
- Aziz, T, Dwi Yahrinta Pratiwi, Lola Rethiana. 2013. Pengaruh Penambahan Tawas $Al_2(SO_4)_3$ Dan Kaporit $Ca(OCl)_2$ Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Air Sungai Lambidaro. *Jurnal Teknik Kimia* No. 3, Vol. 19.
- Cheng, R. C. K., Chan M. H.M., Ho, C.S., Lam C. W. K and Lau, E. L. K. 2001. *Heavy Metal Poisoning Clinical Significance and Laboratory Investigation*. Asia Pasific Analyte Notes. BD Indispensable To Human Health 7(I).
- Cochrane, G. C. 1991. Cellular Injury by Oxidant. *Am.J.Med*.
- Desviani, Amanda P. *Evaluasi Pemberian Dosis Koagulan Aluminium Sulfat Cair dan Bubuk Pada Sistem Dosing Koagulan di Instalasi Pengolahan Air Minum PT. Krakatau Tirta Industri*. [Skripsi] Institut Pertanian Bogor, 2012.
- Domingo, J.L. 2003. *Aluminium Toxicology*. United States: Elsevier.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. 2002. *Textbook of Veterinary Anatomy 3rd Ed*. USA: W.B. Saunders Company.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Kanisius. Yogyakarta.
- Feibo, X, Liu Y., ZhaoH., Yu K., Song M., Zhu Y., & Li Y. 2017. Aluminum Chloride Caused Liver Dysfunction and Mitochondrial Energy Metabolism Disorder In Rat. *Journal Of Inorganic Biochemistry* 17: 55-62.

- Ganong WF. 2008. *Review of Medical Physiology*. New York: The McGraw–Hill Companies.
- Guyton AC, Hall JE. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi ke-11*. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Juliati. 2017. Gambaran Mikroskopis Carcinoma Mammae Yang Difiksasi Dengan Netral Buffer Formalin 10% Dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin. [Tesis]. Muhammadiyah University of Semarang.
- Junqueira, L.C., dan Carneiro, J. 1995. *Histologi Dasar*. Edisi 3. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Junqueira L.C., J.Carneiro, R.O. Kelley. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi ke-5. Tambayang J., penerjemah. Terjemahan dari Basic Histology. EGC. Jakarta.
- Kierszenbaum AL, Tres LL. 2012. *Histology and Cell Biology, 3rd ed*. United States of America: Elsevier Saunders.
- Koolhaas, J.M. 2010. *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals 8th Ed*. John Hopkins University Press, Baltimore, 311.
- Kumar S, Mishra CK, Ahuja A, Rani A, Nema RK. 2012. Phytoconstituents and pharmacological activities of *Musa paradisiaca* Linn. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. 4(2): 199–206.
- Kumar, V., Cotran, R.S., dan Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi. Edisi 7; ali Bahasa, Brahm U*. Pendt;editor Bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto, Nurwany Darmaniah, Nanda Wulandari-ed.7-Jakarta: EGC.
- Kurniawan, S. N. 2017. Sinyal Neutron Neuronal Signaling. *Mnj*, Vol. 01, No. 02, Juli 2015.
- Lestari, Ajeng S.P. dan Agus Mulyono. 2011. *Analisis Citra Ginjal untuk Identifikasi Sel Piknosis dan Sel Nekrosis*. Jurnal Neutrino Vol.4, No.1, p:48-66.
- Mailloux R.J., J.Lemire, V.D. Appanna. 2011. *Hepatic Response to Aluminium Toxicity: Dyslipidemia and Liver Diseases*. Elsevier Experimental Cell Research 317 (2011) 2231-2238.
- Marciniak, A., Brzeszczynska, J., Gwozdzinski, K., Jegier, A. 2009. Antioxidant Capacity and Physical Exercise. *Biology of Sport*, Vol. 26 No3, 197-213.

- Marangoni, M.A. 2007. Renal function and histology after acute hemorrhage in rats under dexmedetomidine action. *Acta Cirurgica Brasileira*. 22(4): 291-298.
- Matsuzaki S, Szweda PA, Szweda LI, Humphries KM. 2009. Regulated Production of Free Radicals by the Mitochondrial Electron Transport Chain: Cardiac Ischemic Preconditioning. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009;61(14):1324–31.
- Mescher AL. 2007. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas, 12th ed*. United States: Lange.
- Mescher, Anthony L. 2010. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*. USA: The McGraw-Hill Companies.
- Pandey, G. 2013. A Review on Toxic Effect of Aluminium Exposure on Male Reproductive System and Probable Mechanism of Toxicity. *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology* 2012; 3 (3): 48-57.
- Pandit, Aashish; Sachdeva, Tarun dan Bafna, Pallavi., 2012. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02(05), 233-43.
- Pham-Huy LA, He H, & Pham-Huy C. 2008. *Free radicals, antioxidants in disease and health*. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89—96.
- Setiawan, B. dan E. Suhartono. 2007. *Peroksidasi Lipid dan Penyakit Terkait Stres Oksidatif pada Bayi Prematur*. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 57(1): 10-14.
- Selvi, N.Z., M. Riau waty, H. Syawal. 2016. Histopatologi Kidney of *Pangasius hypothalmus* That Are Immersed in Curcumin and Were Infected by *Aeromona hydrophila*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan* Vol 3. No 2. (2016)
- Sherwood L. 2012. *Anatomi dan Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC.
- Snell, Richard S. 2006. *Anatomi Klinik ed. 6*. EGC: Jakarta.
- Sulaiman HA, LA Lesmana, HMS Noer. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati Edisi Pertama*. Jakarta: Jayaabadi.
- Tellingen Christa van, M., 2003, *Organ Physiology from Phenomenological Point of View*. Driebergen. Louis Bolk Instituut; (3): 30.

- Venkataraman S, Schafer FQ, Buettner GR. 2004. *Detection of Lipid Radicals Using EPR*. Mary Ann Liebert, Inc. 2004;6(3).
- Widiyanti, Ni Luh Putu Manik., Ni Putu Ristiati. 2004 *Analisis Kualitatif Bakteri Koliform pada Depo Air Minum Isi Ulang di Kota Singaraja Bali*. Jurnal Ekologi Kesehatan, 3(1): 64-73.
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal*. Jakarta: Kanisius.
- Wolfensohn, S. E. dan Lloyd, M. H. 2013. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare, 3rd edition*. Blackwell Science: Oxford.
- Yokel, R. A. 2001. *In Aluminium and Alzheimer's Disease*. Elsevier. New York.
- Yokel, R. A. 2002. *Brain Uptake, Retention and Efflux of Aluminium and Manganese*. Journal Co-Ordination. Chem Rev 228: 97-113.

