

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MAWAR MERAH
(*Rosa damascena* Mill.) DALAM BENTUK TABLET
EFFERVESCENT TERHADAP JUMLAH STEATOSIS
PADA SEL HEPATOSIT TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI
DENGAN KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum



Oleh:

Sri Lestari Fajerin

NIM: 0910710119

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2012

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK MAWAR MERAH (*Rosa damascena* Mill.) DALAM BENTUK TABLET *EFFERVESCENT* TERHADAP JUMLAH STEATOSIS PADA SEL HEPATOSIT TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI DENGAN KARBON TETRAKLORIDA (CCl_4)

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum

Oleh:
Sri Lestari Fajerin
NIM: 0910710119

Pembimbing

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

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb.

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas limpahan rahmat, taufiq, serta hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tugas Akhir berjudul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam Bentuk Tablet *Effervescent* Terhadap Jumlah Steatosis Pada Sel Hepatosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi dengan Karbon Tetraklorida (CCl₄)", sebagai persyaratan untuk memenuhi gelar sarjana kedokteran umum.

Pada penelitian ini penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak, ibu (almh), dan keluarga besar atas dukungan dalam berbagai bentuk, curahan kasih sayang, semangat, serta doa yang tiada terhingga.
2. Kakakku, M. Agus Romansyah, M. Bachrun, Titik Purwati, dan M. Mujib serta keponakanku, Laili Firda dan Melinda Kusuma yang senantiasa menyemangati.
3. Andro sesario yang selalu sabar memberikan dorongan, nasihat, doa, semangat, dan kasih sayang kepada penulis dalam menghadapi kendala teknis maupun psikologis dalam menyelesaikan penelitian ini.
4. Dr.dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. dr. Bambang Prijadi, MS selaku Pembantu Dekan III FKUB atas bimbingan dan arahan selama proses penelitian, persiapan, karantina, dan presentasi PIMNAS.
6. Dr. dr. Nurdiana M.Kes selaku dosen pembimbing atas bimbingan intensif selama penelitian, solusi permasalahan, pelatihan presentasi, pendampingan saat monev dan PIMNAS, serta dukungan yang telah diberikan.
7. dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA yang telah membantu memberikan pengarahannya mengenai cara penghitungan sel hepatosit yang mengalami steatosis.
8. DIKTI selaku penyelenggara PIMNAS 2012 dan penyedia dana penelitian.
9. Teman – teman tim peneliti Cholifah, Nia, Rokhmatul, Arinal, dan Icha atas kerja kerasnya selama penelitian.
10. Sahabat seperjuangan Dyah, Vivi, Asa, Lucy, Silla, Sawitri, dan Dibon atas tawa, dorongan, semangat, dan semua hal yang telah kami lalui bersama sebagai salah satu episode terbaik dalam kehidupan penulis.
11. Pihak Laboratorium Farmakologi, Bu Ferrida dan Mas Memed yang selalu membantu dalam urusan pemeliharaan hewan coba penelitian, pembedahan, dan persiapan alat dan bahan untuk penelitian.
12. Pihak Laboratorium Patologi Anatomi, Mas Mizan yang telah membantu dalam proses pembuatan slide histo patologi jaringan hati.

13. Sahabat-sahabatku satu angkatan yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala dukungan, semangat, dan hiburan yang diberikan selama ini.
14. Semua pihak yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis memerlukan saran dan kritik agar dapat menjadi bahan penyempurnaan pada penelitian lainnya di masa yang akan datang. Akhirnya, semoga penelitian ini bisa menambah wawasan dan bermanfaat bagi berbagai pihak.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Malang, 27 Desember 2012

Penulis

ABSTRAK

Fajerin, Sri Lestari. 2012. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam Bentuk Tablet *Effervescent* Terhadap Jumlah Steatosis Pada Sel Hepatosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi dengan Karbon Tetraklorida (CCl_4).** Tugas akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : Dr. dr. Nurdiana, M.Kes.

Salah satu senyawa kimia yang dapat melepaskan radikal bebas di dalam tubuh adalah CCl_4 . CCl_4 dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan sel hepatosit karena memicu terjadinya steatosis pada sel hepatosit. Bunga mawar merah merupakan bahan herbal yang diduga berfungsi sebagai antioksidan karena memiliki kandungan antosianin dimana antioksidan tersebut mampu bereaksi dengan radikal bebas sehingga efek merugikan dari radikal bebas dapat berkurang. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap jumlah steatosis pada sel hepatosit tikus yang diinduksi CCl_4 . Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design*. Sampel terdiri dari 25 ekor tikus yang terbagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok 1 (tanpa perlakuan), kelompok 2 (pemberian CCl_4), kelompok 3 (pemberian CCl_4 dan tablet *effervescent* mawar dosis 1,25 gr), kelompok 4 (pemberian CCl_4 dan tablet *effervescent* mawar dosis 2,5 gr), dan kelompok 5 (pemberian CCl_4 dan tablet *effervescent* mawar dosis 5 gr). Perlakuan diberikan selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada masing-masing kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dan rerata jumlah steatosis pada sel hepatosit menurun seiring dengan meningkatnya pemberian dosis yang diberikan, terutama pada kelompok 3 yang merupakan kelompok yang diberikan dosis tertinggi. Kesimpulan penelitian adalah pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* terbukti mampu menurunkan jumlah steatosis sel hepatosit. Dengan demikian, ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* berpotensi untuk dikembangkan sebagai alternatif terapi steatosis yang disebabkan oleh radikal bebas.

Kata Kunci : CCl_4 , Tablet *effervescent*, Mawar merah, Steatosis, Antosianin

ABSTRACT

Fajerin, Sri Lestari. 2012. **The Effect of Effervescent Tablet of Red Roses Extract (*Rosa damascena* Mill.) to Hepatic Cells Steatosis in CCl₄ induced Rat (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar**. Final Assignment, Medical Study Program. Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisor : Dr. dr. Nurdiana, M.Kes.

One of the chemical compounds that can give a large effect of free radicals in the body is CCl₄. When CCl₄ is concentrated in the body, it can damage liver cells that can trigger liver steatosis on the hepatocyt cells. Red roses is one of the herbal plants which has a compound called anthocyanin functioned as antioxidant. This compound can be reacted to reduce free radicals. The aim of this study is to know the effect of *effervescent* tablet of red roses extract to hepatocyt cells steatosis in rat induced CCl₄. This study was a pure experiment with the design of Controlled Randomized Post Test Only Design Group. Sample consist of 25 rats divided into 5 groups, group 1 (no treatment), group 2 (with CCl₄), group 3 (CCl₄ and *effervescent* tablet 1,25 gr), group 4 (CCl₄ and *effervescent* tablet 2,5 gr), and group 5 (CCl₄ and *effervescent* tablet 5 gr). The study was done 14 days. The results of this study showed that there were significant difference ($p < 0,05$) and the mean of steatosis on hepatocyt cells was declining which explains that the higher dose, the lower steatosis on hepatocyt cells in each group, especially on group 3 which was given the highest dose. The results of this study proves that the *effervescent* tablet of red roses (*Rosa damascena* Mill.) extract can decline the amount of steatosis hepatocyt cells which means the *effervescent* tablet of red roses (*Rosa damascena* Mill.) can be developed as alternative treatment of steatosis caused of free radicals.

Keyword : CCl₄, *Effervecent* tablet, Red roses, Steatosis, Anthocyanin

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
SURAT KEPUTUSAN BEBAS TA REGULAR	ii
SERTIFIKAT.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Mawar Merah (<i>Rosa damascena</i> Mill.)	7
2.2 Antioksidan	17



2.3 Radikal Bebas.....	20
2.4 Hati	25
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	34
3.1 Kerangka Konsep.....	34
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	35
3.3 Hipotesis Penelitian.....	35
BAB 4 METODE PENELITIAN	37
4.1 Desain Penelitian	37
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	37
4.3 Sampel dan Pengulangan	38
4.4 Variabel Penelitian	38
4.5 Definisi Operasional	39
4.6 Dasar Penentuan Dosis	40
4.7 Alat dan Bahan Penelitian	42
4.8 Prosedur Penelitian.....	42
4.9 Prosedur Pengumpulan dan Analisis Data	47
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....	49
5.1 Hasil Penelitian	49
5.2 Analisa Data.....	51
BAB 6 PEMBAHASAN.....	54
BAB 7 PENUTUP	59
7.1 Kesimpulan	59
7.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	61



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN 77
LAMPIRAN 78



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kualitas Ekstrak Mawar Merah dan Perbandingan dengan Bunga Lain (Wardatul, 2008).....	13
Tabel 2.2 Perbandingan nilai/daya antioksidan.....	16
Tabel 4.1 Rencana Kerja dan Jadwal Penelitian.....	48
Tabel 5.1 Jumlah Steatosis Sel Hepatosit pada Hati Tikus.....	49



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Mawar Merah (<i>Rosa damascena</i> Mill.) (Hidayah, 2006).....	7
Gambar 2.2 Tablet <i>Effervescent</i>	14
Gambar 2.3 Reaksi Asam Sitrat dengan Sodium Bikarbonat (Ansel, 1989).....	15
Gambar 2.4 Mekanisme Kerja Antioksidan Enzimatik Terhadap Radikal Bebas (Halliwell B dan Gutteridge JMC, 1999).....	19
Gambar 2.5 Struktur Molekul CCl ₄	24
Gambar 2.6 Gambaran Histologis Hati Normal (Di Fiore, 2010)	27
Gambar 2.7 Mekanisme Patogenesis Steatosis dan Nekrosis Akibat CCl ₄ (Zimmerman dalam Aini, 2002)	33
Gambar 5.1 Gambaran Steatosis Sel Hepatosit dengan Pembesaran 400x	50
Gambar 5.2 Grafik Rerata Jumlah Steatosis Sel Hepatosit.....	51



DAFTAR SINGKATAN

AFLD *Alcoholic Fatty Liver Disease*

FFA *Free Fatty Acid*

HE *Haematoxylin Eosin*

LSD *Least Significant Difference*

NAFLD *Non Alcoholic Fatty Liver Disease*

PUFAs *Polyunsaturated Fatty Acid*

TG *Trigliserida*

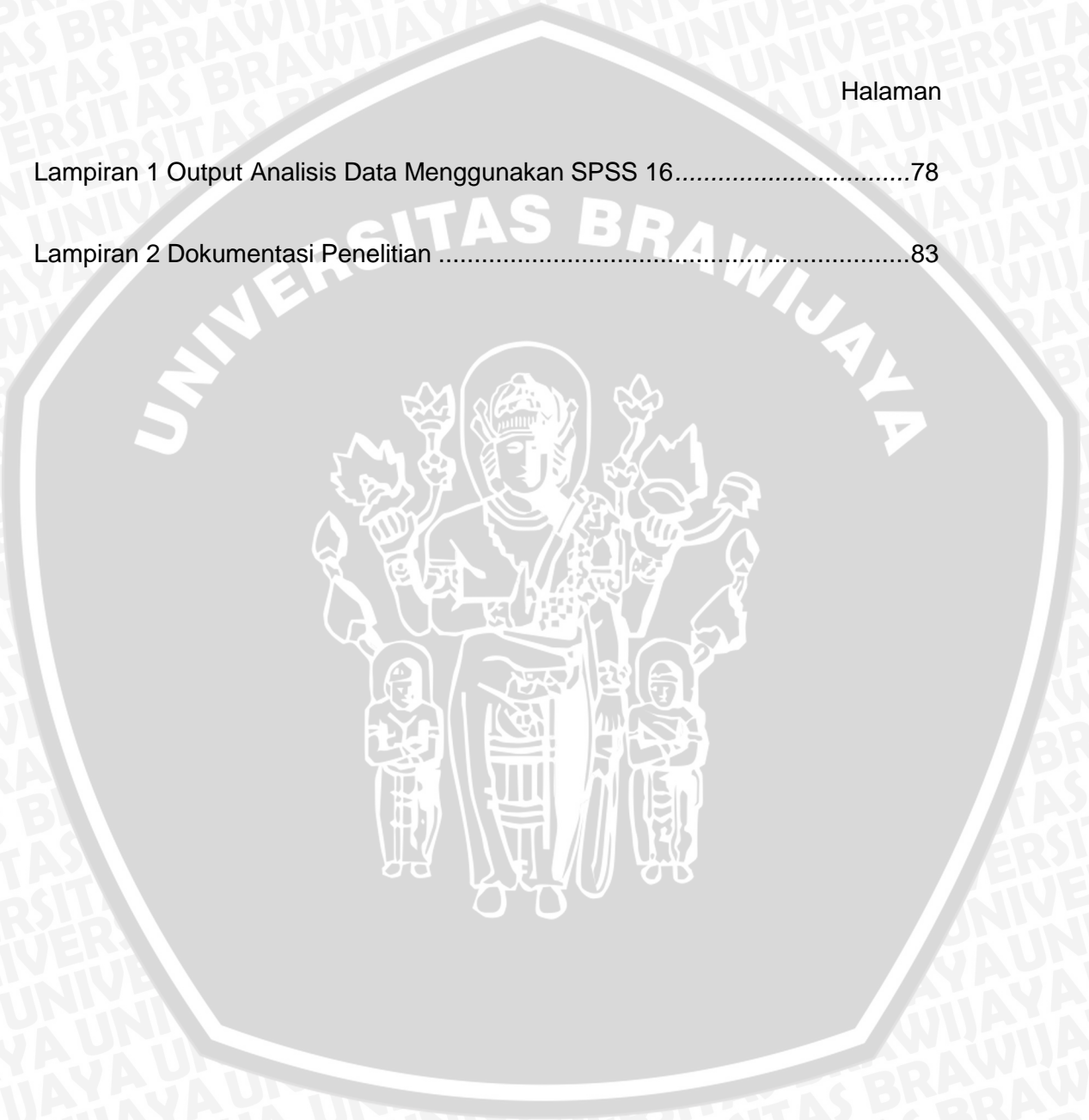
VLDL *Very Low Density Lipoprotein*



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Output Analisis Data Menggunakan SPSS 16.....	78
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian	83



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Semakin berkembangnya Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (IPTEK) dapat berpengaruh pada pola kehidupan manusia yang semakin maju. Perkembangan obat-obat fitoterapi dan semakin berkembangnya perusahaan obat tradisional di Indonesia menunjukkan bahwa penduduk Indonesia semakin menyadari pentingnya gerakan *back to nature*. Apalagi mengetahui bahwa kekayaan hayati negeri kita banyak yang memiliki khasiat dan fungsi sebagai sumber pangan dan menunjang vitalitas tubuh, serta dapat digunakan sebagai alternatif terapi suatu penyakit. Tanaman yang amat dikenal masyarakat dan mempunyai khasiat dan manfaat yang banyak diantaranya adalah tanaman mawar (*Rosa damascena* Mill).

Bunga mawar merupakan salah satu flora yang dapat tumbuh subur di Indonesia. Melihat besarnya potensi bunga mawar maka perlu diadakan diversifikasi pemanfaatan bunga tersebut dengan tetap mempertahankan zat aktifnya, terutama antosianinnya yang bermanfaat sebagai antioksidan bagi tubuh manusia. Sampai saat ini, pemanfaatan bunga mawar di Indonesia umumnya hanya sebatas sebagai penghias dan bahan dasar parfum. Sedangkan potensi ekstrak bunga mawar masih belum tergali secara sempurna.

Hasil penelitian terhadap bunga mawar yang segar maupun yang telah dipajang selama 4-6 hari, ekstraknya berpotensi digunakan sebagai zat pewarna sekaligus sebagai antioksidan (Saati *et al.*, 2007). Jenis pigmen yang dikandung bunga mawar merah adalah antosianin dari kelompok *Sianidin* dan *Delfinidin-glikosida*, efektif menyumbangkan warna alami pada produk minuman berkarbonat. Kandungan senyawa antioksidan dalam ekstrak bunga mawar tersebut dapat diolah menjadi obat herbal. Hasil penelitian lainnya, menunjukkan bahwa antosianin bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, hiperlipidemias dan penyakit kronis lainnya, seperti penyakit diabetes dan stroke (Garz'on *et al.*, 2009). Bahkan dinyatakan bahwa antioksidan flavanoid (antosianin) tersebut memiliki daya antioksidan berkekuatan 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kalinya dibandingkan vitamin E (Dewanti, 2006).

Kandungan senyawa antioksidan yang tinggi tersebut membuat potensi ekstrak bunga mawar tidak hanya sebagai pewarna makanan, namun juga telah diolah menjadi tablet *effervescent* yang akhir-akhir ini digemari konsumen karena praktis, cepat disajikan, dan dapat menjadi suplemen. Pemanfaatan tanaman sebagai salah satu pengobatan alternatif maupun sebagai pengganti obat modern membutuhkan serangkaian pengujian seperti uji khasiat, toksisitas sampai uji klinik dengan didukung oleh pengembangan bentuk sediaan yang lebih baik agar efektifitasnya dapat dioptimalkan (BPOM, 2004).

Hati merupakan salah satu organ tubuh yang berperan penting dalam proses metabolisme obat. Metabolisme obat terutama terjadi di hati oleh karena adanya enzim-enzim metabolisme yang digunakan dalam proses biotransformasi obat atau

zat-zat lainnya (Syarif *et al.*, 2008). Komponen utama dari hati sebagian besar didominasi oleh sel hepatosit yang menyusun kurang lebih 2/3 dari total berat hati. Sedangkan fungsi dari sel hepatosit sendiri adalah mensintesis serum protein esensial, memproduksi dan pembawa getah empedu, meregulasi nutrisi tubuh, memetabolisme dan mengkonjugasi bahan-bahan *lipophilic* untuk diekskresikan sebagai empedu dan urin (Ghany *et al.*, 2005).

Kerusakan hati dapat meliputi struktur maupun gangguan fungsi hati. Kerusakan hati dapat disebabkan oleh infeksi, virus, obat, trauma, atau karena bahan kimia alami atau sintetis (hepatotoksik) (DEPKES RI, 2007). Sebagai pusat metabolisme, hati menerima berbagai zat yang diserap dari saluran cerna, termasuk zat toksik dalam frekuensi dan konsentrasi yang tinggi (Lestari D., 2006; Katzung, 2008). Hati berpotensi mengalami kerusakan karena merupakan organ pertama setelah saluran pencernaan yang terpapar oleh bahan - bahan yang bersifat toksik sebelum dieliminasi oleh tubuh (Makiyah *et al.*, 2006; Katzung, 2001; Banks *et al.*, 2001; Lestari D., 2006; Thadeus, 2005). Pemaparan oleh berbagai bahan toksik akan mempertinggi kerusakan hati. Toksisitas suatu zat dapat diidentifikasi melalui target organ dengan berbagai parameter, salah satunya adalah dengan melihat gambaran histopatologi organ tersebut. Oleh karena itu, gambaran histo patologi anatomi sel hepatosit sebagai penyusun utama jaringan hati dapat dijadikan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui adanya kerusakan fungsi hati. Kerusakan pada sel hati sendiri tidak hanya tergantung dari agen toksik yang diberikan tetapi juga lama pemberiannya (Bank *et al.*, 2001).

Zat kimia yang toksik dan dapat menyebabkan kerusakan hati yang akut, misalnya karbon tetraklorida (CCl_4), kloroform, dimetil nitrosamine, dan beberapa senyawa klorhidrokarbon (Simanjuntak, 2007). Radikal bebas sendiri adalah salah satu produk reaksi kimia dalam sel yang sangat reaktif karena mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Sifat radikal bebas ini tidak stabil dan bertindak sebagai pereduksi dan pengoksidasi. CCl_4 merupakan penyebab kerusakan hati yang ditandai dengan peradangan akut pada sel-sel hati (hepatosit), yaitu terjadinya steatosis dan nekrosis (Pan *et al.*, 2007; Panjaitan RGP *et al.*, 2007).

Radikal bebas pada CCl_4 yang dapat menimbulkan stres oksidatif terbentuk pada saat metabolisme substrat, yaitu ketika proses oksidasi reduksi melalui enzim sitokrom P_{450} , yang selanjutnya akan berpengaruh pada metabolisme fisiologi di mikrosom hati (Devasagayam *et al.*, 2004; Bashandy SA dan Alwasel SH, 2011). Asam lemak penyusun membran sel khususnya asam lemak rantai panjang tak jenuh (PUFAs) sangat rentan terhadap radikal bebas. Menurut Simanjuntak (2007) diperoleh data jumlah PUFAs dalam fosfolipid membran endoplasmic reticulum akan berkurang sebanding dengan jumlah CCl_4 yang diinduksikan. Pemberian CCl_4 dosis tinggi dapat merusak endoplasmic reticulum, mengakumulasi lemak, mengurangi sintesis protein, mengacaukan proses oksidasi, menurunkan berat badan, menyebabkan pembengkakan hati sehingga berat hati bertambah, dan pemberian dalam jangka panjang dapat menyebabkan nekrosis sentrilobular serta degenerasi lemak di hati (Pan *et al.*, 2007; RGP *et al.*, 2007).

Untuk mengurangi terbentuknya radikal bebas dan menanggulangi terjadinya stres oksidatif perlu adanya zat tambahan yang bersifat antioksidan (Valco *et al.*,

2006). Melalui beberapa penelitian modern diketahui bahwa antioksidan dapat menangkal atau meredam serangan radikal bebas. Sistem antioksidan tubuh (antioksidan endogen) sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas secara alami telah ada. Tetapi apabila hati sudah rusak karena bahan toksik, maka perlu diberi tambahan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) (Setiati, 2003).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai efek pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap fungsi hati melalui pengamatan terhadap gambaran steatosis pada sel hepatosit tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Apakah pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* mampu menurunkan jumlah steatosis sel hepatosit tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk memperoleh bukti bahwa ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent*

dapat bermanfaat dalam menurunkan jumlah steatosis sel hepatosit akibat paparan radikal bebas.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap jumlah steatosis sel hepatosit tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4).

1.3.2.2 Mengetahui hubungan antara peningkatan dosis ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* dengan penurunan jumlah steatosis sel hepatosit tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Menambah wawasan masyarakat bahwa bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) selain sebagai penghias dan bahan dasar parfum juga mempunyai pigmen merah yang kaya antioksidan berupa antosianin dapat digunakan sebagai pewarna makanan alami dan yang terbaru sebagai tablet *effervescent* yang dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap hati tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) pasca induksi karbon tetraklorida (CCl_4). Parameter yang digunakan untuk tujuan tersebut adalah gambaran histo patologi anatomi hati berupa gambaran steatosis sel hepatosit tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Diharapkan dapat meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomi dari bunga mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) serta memberikan alternatif dalam suplemen alami yang lebih menyehatkan karena fungsinya yang dapat digunakan sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit yang berkaitan dengan efek merugikan dari radikal bebas.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.)

2.1.1 Taksonomi

Dalam sistematika tumbuhan (*taksonomi*), mawar diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub-Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonea

Ordo : Rosanales

Famili : Rosaceae

Genus : Rosa

Species : *Rosa damascena* Mill, *Rosamultiflora* Thunb

(Hidayah, 2006).



Gambar 2.1 Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.)

2.1.2 Morfologi dan Persebaran

Bunga mawar sangat terkenal sebagai *ornamental plants* karena bentuknya yang sangat menarik dan indah yang banyak digunakan sebagai hiasan di berbagai taman, kebun, dan rumah. Bunga mawar juga terkenal dengan julukannya

sebagai *the king of flowers* (Cai *et al.*, 2005; Nikbakht *et al.*, 2005). Sebagian besar spesies mempunyai daun yang panjangnya antara 5-15 cm, dua-dua berlawanan (*pinnate*). Daun majemuk pada tiap tangkai daun terdiri dari paling sedikit 3 atau 5 hingga 9 atau 13 anak daun dan daun penumpu (*stipula*) berbentuk lonjong, pertulangan menyirip, tepi tepi beringgit, meruncing pada ujung daun dan berduri pada batang yang dekat ke tanah. Bunga terdiri dari 5-7 helai daun mahkota dengan perkecualian *Rosa sericea* yang hanya memiliki 4 helai daun mahkota (Boskabady *et al.*, 2011). Dalam perkembangannya, mawar menyebar luas di daerah-daerah beriklim dingin (*sub-tropis*) dan panas (*tropis*) (Hidayah, 2006).

Di Indonesia banyak dikembangkan jenis mawar hibrida, terutama jenis dan varietas mawar yang berasal dari Belanda. Sedangkan daerah di Jawa Timur yang dapat dijumpai tanaman jenis ini adalah Kabupaten Malang, Lumajang, Pasuruan, Probolinggo, Mojokerto, Magetan, dan Kota Batu. Petani mawar khususnya di wilayah Batu banyak yang mengusahakan bunga mawar potong hasil introduksi sejak tahun 1990 terutama di daerah Gunungsari, Puntan dan Pujon serta luasannya kurang lebih 30 Ha. Kelompok mawar yang banyak peminatnya adalah tipe hibrida dan lokal Batu. Kelebihan kedua varietas ini adalah memiliki variasi bunga mawar yang cukup banyak, antara lain warna putih, merah muda, merah tua dan kuning (Rukmana, 1995).

2.1.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan

Mawar merupakan salah satu hasil pertanian dalam industri tanaman bunga (Senapati & Rout 2008) yang telah digunakan sebagai hiasan bunga

potong, bunga pot, bahkan tanaman kebun (Guterman *et al.*, 2002). Mawar juga telah digunakan dalam industri makanan, parfum, dan kosmetik selama beberapa tahun (Kaur *et al.*, 2007; Farooq *et al.*, 2011). Mawar memiliki banyak manfaat, antara lain antidepresan, antiviral, antibakteri, antiperadangan, dan sumber vitamin C (Lebaschi, 2012, Farooq *et al.*, 2011). Menurut Hembing *dkk.* (1996), mahkota bunga mawar dapat menyembuhkan berbagai penyakit seperti batuk darah, TBC, disentri, campak, nyeri haid dan lain-lain. Minyak mawar adalah salah satu minyak atsiri hasil penyulingan dan penguapan daun-daun mahkota sehingga dapat dibuat menjadi parfum (Vries *et al.*, 2004; Ercisli, 2005). Minyak atsiri ini mengandung zat sitrat, sitronelol, geraniol, linalol, nerol, eugenol, feniletilalkohol, farnesol, dan nonilal-dehida. Minyak atsiri pada *Rosa damascene* Mill. berkhasiat untuk mengobati gigitan serangga berbisa, gabag (*morbili*), jerawat, mengobati penyakit akibat jamur, virus, dan memiliki efek anti-mikrobal melawan bakteri (Soliman dan Badeaa, 2002). *Rosa damascena* Mill. mempunyai kandungan minyak atsiri tertinggi nomor tiga dibandingkan spesies mawar yang lain (Lebaschi, 2012; Kaul *et al.*, 2009). Selain itu, bunga mawar telah dilaporkan sebagai salah satu antioksidan terkuat dari 30 tanaman obat yang diuji. Aktivitas antioksidan tersebut dikarenakan dalam bunga mawar terdapat kandungan senyawa antosianin dari kelompok *Sianidin* dan *Delfinidin-glikosida*, yaitu komposisi fenolik yang berhubungan dengan aktivitas *radical-scavenging* dan efektif menyumbangkan warna alami pada produk minuman berkarbonat (Cho *et al.*, 2003). Selain itu, bunga mawar juga tidak mengandung kafein seperti pada teh hitam dan teh hijau (Ashihara

dan Suzuki, 2004), sehingga akan aman dikonsumsi oleh individu dengan riwayat hipertensi (Vinokur *et al.*, 2006). Pada beberapa spesies seperti *Rosa canina* dan *Rosa rugosa* menghasilkan buah *rose hips* yang sangat kaya dengan vitamin C bahkan termasuk diantara sumber vitamin C alami yang paling kaya (Anonim, 2006).

2.1.4 Antosianin

2.1.4.1 Struktur dan Sifat Kimia Antosianin

Antosianin terdiri dari glikogen (antosianidin) yang teresterifikasi oleh satu atau lebih gula (Francis, 1985; Markakis, 1982). Antosianin adalah flavonoid dengan cincin C yang tidak jenuh dan hidroksil pada posisi 3. Struktur dasarnya adalah aglikon, atau antosianidin, dengan satu atau lebih gula yang sebagian besar berikatan di C3, C5, atau C7 (Iwashina, 2000, Qin C.G. *et al.*, 2011).

Antosianin terdapat dalam cairan sel tumbuhan, senyawa ini berbentuk glikosida dan menjadi penyebab warna merah, biru, dan violet banyak terdapat dalam buah dan sayur (Jing Pu, 2006; Durst R.W. dan Wrolstad R.E, 2005). Jika bagian gula dihilangkan dengan cara hidrolisis, tersisa aglikon dan disebut antosianidin. Hal tersebut dipergunakan untuk meningkatkan fungsi pigmen pembawa komponen pewarna dan sekaligus dapat menyumbang rasa manis (pemanis) (Francis, 1999).

Secara spesifik antosianin terdapat dalam sel epidermal dari buah, akar, dan daun pada buah tua dan masak (Sulartini *et al.*, 2011; Hernani dan Rahardjo, 2005). Masing-masing jenis antosianidin memiliki absorbansi maksimal pada panjang gelombang tertentu, untuk jenis pelargonidin berkisar

antara 498 - 513 nm, sianidin pada 523 nm, delphinidin pada 543 nm dan malvidin pada 534 nm (Sudarmadji *dkk.*, 2003). Banyak senyawa yang ditemukan, akan tetapi hanya enam yang memegang peranan penting dalam bahan pangan yaitu pelargonidin, sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin, dan malvidin (Jing Pu, 2006). Antosianin yang terkandung dalam mawar merah sebesar 19,43 mg/100ml/35 gr, khususnya dalam bentuk sianidin dan pelargonidin (Saati *dkk.*, 2007). Antosianin terdiri dari glikogen (antosianidin) yang teresterifikasi oleh satu atau lebih gula (Francis, 1999; Jing Pu, 2006).

Beberapa hal yang memainkan peranan penting antosianin dalam menjaga stabilitas dan warna yang dihasilkan adalah struktur, pH, suhu, cahaya, oksigen, dan sejumlah faktor lain seperti *copigment*. Secara struktural, antosianin mengalami perubahan transformasi dengan perubahan pH, yaitu dengan terjadinya perubahan warna. Sebagai contoh, pada pH 3 atau kurang, pigmen antosianin memberikan warna *orange* atau merah (Wrolstad, 2004; Brouillard R, 1998). Struktur dari masing-masing antosianin juga berpengaruh terhadap warna yang dihasilkan. Ketika mengevaluasi komponen 6 antosianidin yang umum ditemukan, efek dari hidroksil dan metoksil menghasilkan warna yang dapat diurai (Durst R.W. dan Wrolstad R.E, 2005). Salah satunya adalah, grup hidroksil pada C3 memberikan warna dari *orange* kekuningan hingga merah (Ahmed *et al.*, 2004).

Antosianin sangat reaktif, oleh karena itu mudah terdegradasi, dan lingkungan sekitar memainkan peran penting dalam menjaga pigmentasi. Cahaya dan suhu, keduanya diketahui dapat memecah struktur antosianin (Jing Pu,

2006). Sehingga, antosianin sangat baik bila berada di lingkungan yang sejuk dan gelap, karena keberadaan cahaya matahari dan suhu yang tinggi (65°-90°C) menghasilkan pigmentasi menjadi hilang (Abdel, 2003; Cannor *et al.*, 2002; Kiroa, *et al.*, 2007; Reyes dan Cisneros, 2007). Antosianin juga didegradasi oleh mekanisme oksidatif yang melibatkan enzim polifenol oksidase (PPO). Enzim ini dapat ditemukan pada *blueberry*, *strawberries*, anggur, dan ceri, hal inilah yang menyebabkan perubahan warna coklat pada jus buah. Akan tetapi, PPO tidak dapat mendegradasi antosianin sendiri, enzim tersebut memerlukan substrat lain, yaitu *caffeic acid*, asam klorogenik, atau *gallic acid* (Kader, *et al.*, 2002; Wesche dan Montgomery, 1990).

2.1.4.2 Fungsi Antosianin sebagai Pewarna dan Antioksidan

Antosianin yang dikandung mahkota bunga mawar merupakan jenis flavonoid yang tergolong senyawa polifenol (Suliartini, 2011; Qin C.G. *et al.*, 2011). Dinyatakan Dewanti (2006) bahwa antioksidan polifenol mempunyai daya antioksidan berkekutaan 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kalinya dibandingkan vitamin E. Bahkan beberapa penelitian menyatakan bahwa antosianin memiliki fungsi fisiologi disamping sebagai antioksidan, juga antikanker, antitumor dan perlindungan terhadap kerusakan hati (Suliartini, 2011; Qin C.G. *et al.*, 2011; Khanal R.C. *et al.*, 2010; Dewanti, 2006).

Sifat mudah larut terhadap air menjadikan antosianin sebagai senyawa kimia yang banyak digunakan untuk dikonsumsi karena mudah diserap oleh tubuh. Hasil penelitian lainnya, menunjukkan bahwa antosianin bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi mengurangi resiko penyakit jantung, kanker,

hyperlipidemias dan penyakit kronis lainnya, seperti penyakit diabetes dan stroke (Khanal R.C. *et al.*, 2010; Garz'on *et al.*, 2009).

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

Tabel 2.1 Kualitas Ekstrak Mawar Merah dan Perbandingan dengan Bunga Lain (Wardatul, 2008)

2.1.5 Tablet *Effervescent*

2.1.5.1 Definisi Tablet *Effervescent*

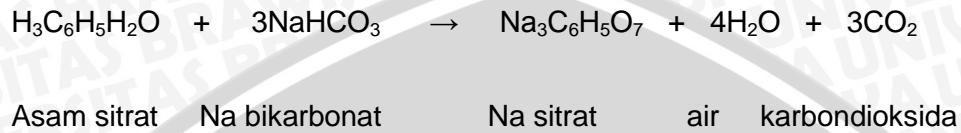


Gambar 2.2 Ekstrak Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam Bentuk Tablet *Effervecent*

Tablet *effervescent* merupakan tablet yang dapat menghasilkan larutan secara cepat dengan menghasilkan CO_2 secara serentak. Tablet khususnya dibuat dengan cara pengempaan bahan-bahan aktif dengan campuran asam-asam organik, seperti asam sitrat dengan sodium bikarbonat (Mustofa, 2008).

Reaksi yang terjadi pada pelarutan *effervescent* adalah reaksi antara senyawa karbonat untuk menghasilkan gas karbondioksida yang memberi efek *sparkle* atau rasa seperti pada air soda. Reaksi ini dikehendaki terjadi secara spontan ketika *effervescent* dilarutkan dalam air (Pulungan, Suprayogi dan

Yudha., 2004). Reaksi antara asam sitrat dengan sodium bikarbonat pada produk *effervescent* dapat dilihat pada **Gambar 2.3**



Gambar 2.3 Reaksi Antara Asam Sitrat dengan Sodium Bikarbonat (Ansel, 1989)

2.1.5.2 Kelebihan dan Kekurangan Tablet *Effervescent*

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

2.1.5.3 Pengujian Antioksidan dari Tablet *Effervescent*

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

Tabel 2.2 Nilai/daya antioksidan ekstrak pigmen, bubuk pigmen dan tablet *effervescent* dari pigmen bunga mawar merah dengan uji DPPH

Metode DPPH (*2,2-Diphrnyl-2-picrylhydrazyl*) dapat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Ferreira *et al.*, 2010; Saleh M.A., 2010). Radikal *2,2-Diphrnyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) adalah radikal bebas stabil yang menerima sebuah elektron atau hidrogen untuk diubah menjadi molekul diamagnetik. DPPH banyak digunakan pada sistem penelitian aktivitas penangkapan radikal pada senyawa alami tumbuhan. Aktivitas antiradikal ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning bening dengan penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm . Uji daya antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak bunga mawar merah mempunyai nilai daya tertinggi yaitu 79,07%, sedangkan makin panjang tahapan pengolahannya maka akan menurun daya antioksidannya, seperti setelah menjadi bubuk daya antioksidan turun dari 63,83% menjadi 28,6

(%) dan semakin menurun lagi (78,25%) setelah menjadi tablet *efferevescent* yaitu hanya sebesar 17,2 (%) daya antioksidannya (Saati, 2011). Stabilitas antosianin dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti: struktur dan konsentrasi antosianin, derajat keasaman (pH), oksidator, cahaya, suhu, dan sebagainya (Jing Pu, 2006). Diperlukan penelitian lebih lanjut efek antioksidan secara *in vivo*.

2.2 Antioksidan

2.2.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah kerusakan sel akibat oksidasi pada suatu molekul lain. Antioksidan berperan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif lebih stabil (Sen dan Chakraborty, 2011; Brambilla *et al.*, 2008; Valco *et al.*, 2006). Fungsi lain dari antioksidan selain digunakan untuk melawan radikal bebas dalam tubuh juga dapat digunakan sebagai bahan aditif pada makanan untuk mencegah reaksi oksidasi pada makanan sehingga makanan tersebut tidak cepat rusak, seperti penggunaan propel galat, *hidroksianitol terbutilasi* (BHA), dan *hidroksitoluena terbutilasi* (BHT) sebagai bahan aditif pada makanan (Murray, 2009). Antioksidan secara luas digunakan sebagai bahan makanan dalam suplemen diet dan telah diinvestigasi sebagai pencegahan penyakit misalnya kanker, penyakit jantung koroner, dan penyakit hipertensi (Baillie *et al.*, 2009; Bjelakovic *et al.*, 2007). Komposisi antioksidan tersebut bisa disintesis dalam tubuh yang diperankan oleh hati dan didapat dari makanan (Vertuani *et al.*, 2004). Antioksidan dapat

dibedakan menjadi 5 golongan, yaitu antioksidan enzimatik (SOD, glutathion peroksidase, katalase), antioksidan hidrofilik (asam askorbat, GSH, asam urat), antioksidan lipofilik (tokoferol, flavonoid, karotenoid, ubikuinol), antioksidan pereduksi (glutathion reduktase, dehidroaskorbat reduktase, tioredoksin reduktase), dan antioksidan pendukung pereduksi (glukosa 6-fosfat dehidrogenase) (Simanjuntak, 2007; Valko M *et al.*, 2006).

2.2.2 Klasifikasi Antioksidan

Sistem antioksidan dalam tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas secara garis besar terbagi menjadi 3, yaitu antioksidan primer yang bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru misalnya enzim Superoksida Dismutase (SOD), antioksidan sekunder yang berfungsi menangkap serta mencegah terjadinya reaksi berantai misalnya vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin, dan antioksidan tersier yang berfungsi untuk memperbaiki kerusakan sel-sel dan jaringan yang disebabkan radikal bebas misalnya enzim yang memperbaiki DNA pada inti sel yaitu metionin sulfosidan reduktase (Kataoka *et al.*, 2012; Valko M *et al.*, 2006; Rahayu, 2005).

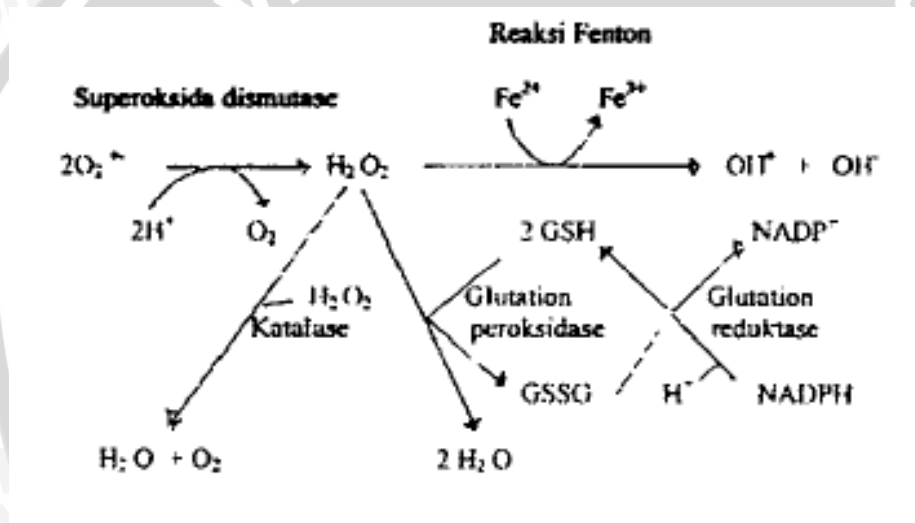
2.2.3 Hubungan Antioksidan dengan Radikal Bebas

Tubuh mempunyai mekanisme yang dapat menetralkan bahaya radikal bebas dengan sistem antioksidan, namun timbulnya penyakit disebabkan karena jumlah radikal bebas melebihi jumlah sistem antioksidan. Antioksidan berperan dengan cara: (Simanjuntak, 2007; Valco M *et al.*, 2006; Murray, 2009).

a. Mengkatalisis radikal bebas oleh enzim SOD, katalase dan peroksidase.

- b. Mengikat pro-oksidan (ion Fe, Cu, dan hem), contohnya transferin, haptoglobin, hemopeksin dan seruloplasmin.
- c. Membersihkan ROS oleh antioksidan dari senyawa-senyawa dengan berat molekul kecil seperti glutation tereduksi (GSH), asam askorbat, bilirubin, atokoferol dan asam urat.

Mekanisme kerja antioksidan endogen terhadap radikal bebas dalam tubuh dapat diamati pada gambar **Gambar 2.4** :



Gambar 2.4 Mekanisme kerja antioksidan enzimatik terhadap radikal bebas (Halliwell B, Gutteridge JMC, 1999)

Kecepatan kerusakan spontan meningkat bermakna oleh kerja superoksida dismutase (SOD) yang ditemukan pada banyak tipe sel (mengatalisis reaksi $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Glutathione (GSH) peroksidase juga melindungi sel agar tidak mengalami jejas dengan mengatalisis perusakan radikal bebas ($2OH^{\cdot} + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$ (glutathione homodimer). Rasio intrasel glutathione teroksidase (GSSG) menjadi glutathione tereduksi (GSH) merupakan refleksi status oksidasi sel

dan aspek penting kemampuan sel untuk mengatabolisme radikal bebas. Katalase berada dalam peroksisom, langsung mendegradasi hidrogen peroksida ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$) (Robbins dan Kumar, 2003).

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas adalah salah satu produk reaksi kimia dalam tubuh yang sangat reaktif karena mengandung elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya (Kumar, 2011; Rajan *et al.*, 2009; Flora, 2009). Sehingga sebagian besar radikal bebas bersifat tidak stabil (Kumar, 2011; Pham-Huy L.A. *et al.*, 2008; Valco M *et al.*, 2007; Ke Cui *et al.*, 2004). Elektron tidak berpasangan tersebut menyebabkan instabilitas dan bersifat reaktif sehingga cenderung untuk berikatan dengan senyawa lain untuk membentuk molekul yang stabil. Sebagai akibatnya akan terjadi kerusakan terhadap sel dan jaringan karena interaksi antara oksigen bebas dengan bagian yang paling penting dari sebuah sel yakni DNA (Reda, 2001). Normalnya, radikal bebas memiliki fungsi yang penting, misalnya membantu tubuh dalam mengusir penyakit (Sen dan Chakraborty, 2011; Rajan *et al.*, 2009; Valco M *et al.*, 2007). Akan tetapi, terlalu banyak kandungan radikal bebas dalam tubuh juga memberikan dampak negatif karena dapat menyebabkan kerusakan sel (Sen dan Chakraborty, 2011; Pham-Huy L.A. *et al.*, 2008; Rahman K., 2007; Myers C.E., 2006).

2.3.2 Struktur Kimia Radikal Bebas

Atom terdiri dari nukleus, proton, dan elektron. Jumlah proton (bermuatan positif) dalam nukleus menentukan jumlah dari elektron (bermuatan negatif) yang mengelilingi atom tersebut. Elektron mengelilingi, atau mengorbit suatu atom dalam satu atau lebih lapisan. Jika satu lapisan penuh, elektron akan mengisi lapisan kedua. Lapisan kedua akan penuh jika telah memiliki 8 elektron, dan seterusnya. Gambaran struktur terpenting sebuah atom dalam menentukan sifat kimianya adalah jumlah elektron pada lapisan luarnya. Suatu bahan yang elektron lapisan luarnya penuh tidak akan terjadi reaksi kimia. Karena atom-atom berusaha untuk mencapai keadaan stabilitas maksimum, sebuah atom akan selalu mencoba untuk melengkapi lapisan luarnya dengan :

- a. Menambah atau mengurangi elektron untuk mengisi maupun mengosongkan lapisan luarnya.
- b. Membagi elektron-elektronnya dengan cara bergabung bersama atom yang lain dalam rangka melengkapi lapisan luarnya.

Atom sering kali melengkapi lapisan luarnya dengan cara membagi elektron-elektron bersama atom yang lain. Dengan membagi elektron, atom-atom tersebut bergabung bersama dan mencapai kondisi stabilitas maksimum untuk membentuk molekul. Oleh karena radikal bebas sangat reaktif, maka mempunyai spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan DNA (Murray *et al.*, 2009). Dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan segera berikatan dengan bahan sekitarnya.

Radikal bebas akan menyerang molekul stabil yang terdekat dan mengambil elektron, zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan sel tersebut (Pham-Huy L.A. *et al.*, 2008; Droge W, 2002; Proctor *et al.*, 1984).

2.3.3 Reaksi Umum Radikal Bebas

Di dalam sel, radikal bebas dapat terjadi apabila dua buah atom mengadakan reaksi kimia, misalnya apabila terjadi proses autooksidasi leukoflavin, hidroquinon, katekolamin, tiol, tetrahidro protein serta hemoprotein. Selain itu dapat pula terjadi akibat kerja enzim oksidasi seperti xantin oksidase, aldehyd oksidase, dehidroorotik dehidrogenase. Radikal bebas juga dapat terjadi sebagai akibat dari proses oxidative phosphorylation, detoksifikasi oleh enzim sitokrom P450 (*oxidizing enzymes*), sel yang mengalami apoptosis, produk samping reaksi makrofrag dalam membunuh mikroorganisme (*fagositosis*) dan sel kanker (Qusti *et al.*, 2010; Devasagayam TPA *et al.*, 2004).

2.3.4 Sumber Radikal Bebas

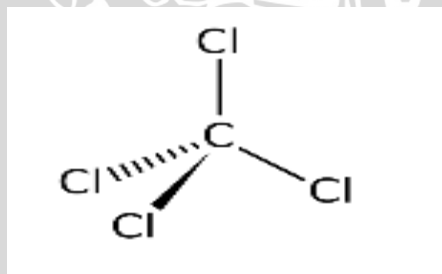
Jenis-jenis radikal bebas yang merusak sel terdiri dari *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan *Reactive Nitrogen Species (RNS)* (Sen dan Chakraborty, 2011; Saleh M.A., 2010; Rajan *et al.*, 2009). *Reactive Oxygen Species (ROS)* merupakan senyawa reaktif turunan oksigen yang berperan sebagai radikal bebas dalam tubuh misalnya superoxide (O_2^-), hydroxyl radical (OH^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), peroxy radical (ROO^-), hidroperoksida organik (ROOH), singlet oksigen (1O_2), dan ozon (O_3) (Sen dan Chakraborty, 2011; Rajan *et al.*, 2009; Devasagayam TPA *et al.*, 2004). Sedangkan *Reactive Nitrogen Species*

(RNS) misalnya nitric oxide (NO^\cdot), peroksinitrit (ONOO^\cdot), peroxyntrous acid (ONOOH), dan nitrogen dioksida (NO_2) (Sen dan Chakraborty, 2011; Setiati S, 2003). Radikal bebas dapat dihasilkan dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen) (Sen dan Chakraborty, 2011). Radikal bebas endogen merupakan radikal bebas yang dihasilkan dari berbagai reaksi biologis di dalam tubuh misalnya radikal bebas yang merupakan produk dari proses metabolisme aerobik (autooksidasi) seperti O_2^\cdot , radikal bebas sebagai hasil dari reaksi oksidasi enzimatis yaitu reaksi biologis yang berasal dari enzim yang mampu menghasilkan radikal bebas dalam jumlah yang cukup bermakna (*xanthine oxidase (activated in ischemia-reperfusion)*, *prostaglandin synthase*, *lipoxygenase*, *aldehyde oxidase*, dan *amino acid oxidase*, dan radikal bebas yang berasal dari sel fagositik seperti makrofag yang menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama fagositosis yang kemudian menghasilkan superoksida (O_2^\cdot) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Kumar Shiv, 2011; Rajan *et al.*, 2009; Brambilla D. *et al.*, 2008; Devasagayam TPA *et al.*, 2004; Cadenas E., 2004; Droge, 2002; Murray, 2009; Inoue, 2001). Radikal bebas eksogen adalah radikal yang dihasilkan dari lingkungan luar seperti, asap rokok, polutan, pestisida, obat-obatan, radiasi UV, dan bahan kimia toksik misalnya klorotetraklorida (CCl_4) (Kumar Shiv, 2011; Flora, 2009; Pham-Huy L.A. *et al.*, 2008; Simanjutak, 2007; Droge, 2002; Inoue, 2001).

2.3.5 Reaksi Karbon tetraklorida (CCl_4) sebagai Radikal Bebas

Karbon tetraklorida (CCl_4) telah lama dikenal sebagai bahan hepatotoksik (Bashandy dan AlWasel, 2011; Khalaf *et al.*, 2008; Tirkey *et al.*, 2005). Zat ini

merupakan cairan jernih yang mudah menguap. Karbon tetraklorida (CCl_4) termasuk senyawa halogen hidrokarbonatifatik yang banyak digunakan sebagai pelarut, pestisida, bahan pendingin dan sabun. Senyawa ini bersifat toksik bagi manusia dan bahkan telah dilaporkan dapat memberikan efek karsinogenik pada tubuh dan dapat menyebabkan peningkatan resiko pada penyakit kardiovaskular, neurologi, penuaan, dan lain-lain (Sen dan Chakraborty, 2011; Simanjuntak, 2007). Toksisitas ini disebabkan oleh terurainya karbon tetraklorida menjadi senyawa yang lebih toksis antara lain epoksida di dalam sel terutama dalam hati dan ginjal (Uma and Rao, 2005). CCl_4 dapat masuk ke dalam tubuh manusia secara inhalasi, ingesti, dan kontak langsung dengan kulit (Wijayanti, 2008). Toksisitas karbon tetraklorida bergantung pada spesies, strain hewan coba, rute pemberian, dan dosisnya.



Gambar 2.5 Struktur Molekul Karbon tetraklorida (CCl_4)

CCl_4 sebagai pelarut lipid memudahkan senyawa tersebut dapat menyeberangi membran sel dan terdistribusi ke semua organ. Sifat toksik CCl_4 telah terbukti dari beberapa penelitian, bahwa dosis yang kecil sekalipun dapat menimbulkan efek pada berbagai organ tubuh termasuk susunan saraf pusat, hati, ginjal dan peredaran darah (Sen dan Chakraborty, 2011). Efek toksik CCl_4

yang paling terlihat adalah pada hati (toksisitas CCl_4 melebihi daripada kloroform) walaupun keduanya sarna-sarna merusak organ-organ lain. CCl_4 dapat menyebabkan nekrosis yang hebat di dalam sentrobuler hati yang mengandung isoenzim sitokrom P-450 dengan konsentrasi tertinggi (Wijayanti, 2008). Kerusakan hati akibat terpapar CCl_4 tergantung pada dosis yang diberikan. Absorpsi CCl_4 selain berlangsung melalui saluran nafas juga dapat melalui seluruh permukaan tubuh termasuk kulit. Pada prinsipnya kerusakan sel hati akibat pemberian CCl_4 disebabkan oleh pembentukan radikal bebas, peroksidasi lemak dan penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan (Yan H. *et al.*, 2011). Manifestasi kerusakan hati secara histologis terlihat berupa infiltrasi lemak, nekrosis entrobuler, dan akhirnya sirosis (Simanjuntak, 2007).

CCl_4 sudah mampu merusak jaringan secara signifikan hanya dengan 1,3 kb/BB (dosis 50% v/v subkutan (Yamamoto,1996). Pada prinsipnya kerusakan sel hati akibat pemberian CCl_4 disebabkan oleh pembentukan radikal bebas, peroksidasi lemak, dan penurunan aktivitas enzim-enzim antioksidan (Gene DL, *et al.*,1999). Sesuai dengan penelitian Ruqiah *dkk* (2007) diperoleh hasil bahwa kelompok yang mendapatkan CCl_4 1 dan 10 ml/kg BB mengalami steatosis yang ditandai dengan akumulasi sel lemak di dalam sel hati yang disebabkan oleh gangguan pada metabolisme lipid di hati. Selain itu, pada pemberian 10 ml/kg BB CCl_4 pada kelompok perlakuan terlihat adanya nekrosis milier pada permukaan hati (Day L *et al.*, 2004; Neuschwander-Tetri BA *et al.*, 2003).

2.4 Hati

2.4.1 Anatomi Hati

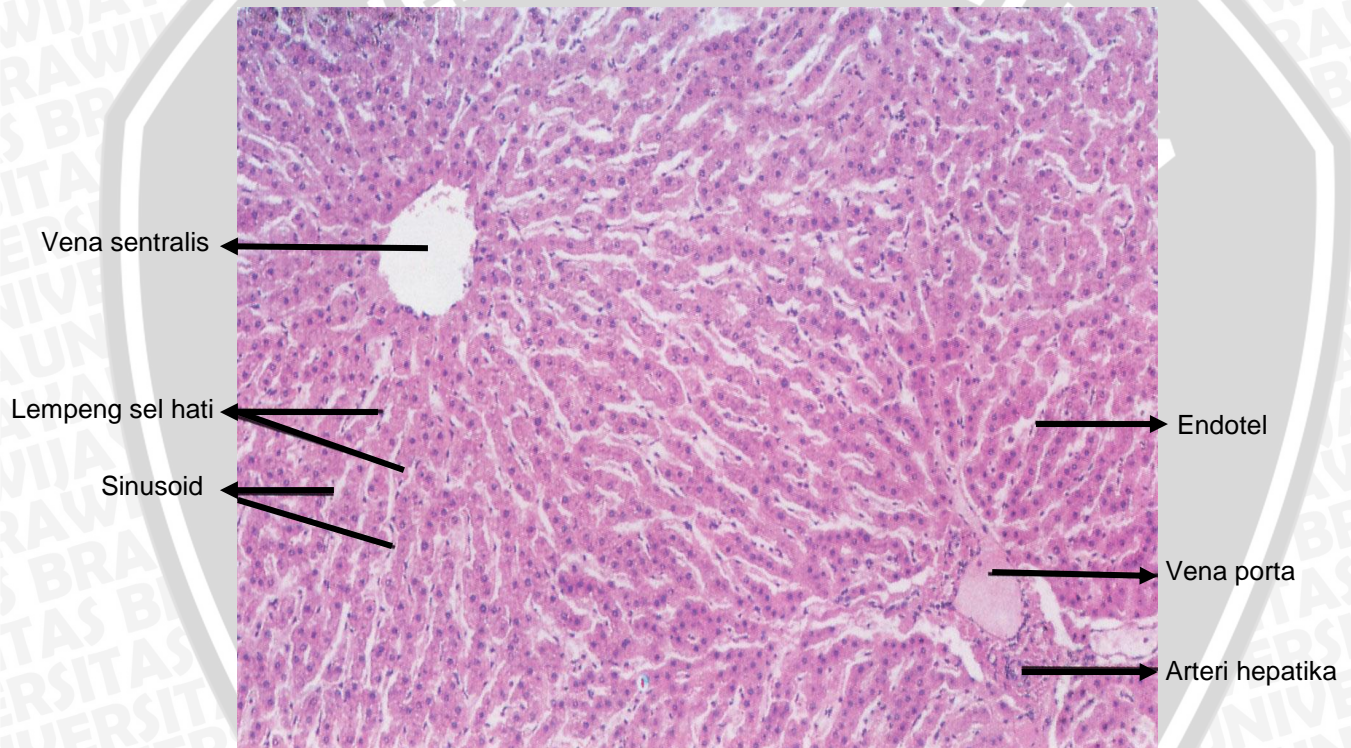
Hati merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh dengan berat sekitar 1,5 kg atau 2% berat badan orang dewasa normal (Guyton, 2007). Hati terletak pada bagian kanan atas cavum abdomen, menempati hampir seluruh hipokondrium kanan, sebagian besar epigastrium, dan mencapai hipokondrium kiri sampai sejauh linea mamaria (Tellingan, 2003). Organ hati terdiri atas 2 lobus utama, yaitu lobus dextra dan sinistra. Lobus dextra terbagi menjadi segmen anterior dan posterior oleh fissura segmentalis dextra yang tidak tampak dari luar. Sedangkan lobus sinistra terbagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligament falsiformis yang terlihat dari luar. Secara anatomis, lobus dextra terletak di hipokondrium kanan dan tampak lebih besar dibandingkan lobus sinistra. Lobus sinistra terletak di region epigastrik dan hipokondrium kiri (Snell, 2006).

Di bawah peritoneum terdapat jaringan ikat padat yang disebut sebagai kapsula Glisson, yang meliputi permukaan seluruh organ, bagian paling tebal dari kapsul ini terdapat porta hepatis membentuk rangka untuk cabang vena porta, a. Hepatika, dan saluran empedu. Porta hepatis adalah fisura pada hati tempat masuknya vena porta dan a.hepatika serta tempat keluarnya duktus hepatica (Sylvia,2006,, Junqueira, 2007).

2.4.2 Histologi Hati

Komponen struktural utama hati adalah sel-sel hati atau hepatosit. Sel-sel epitelnya berkelompok membentuk lempeng-lempeng yang saling berhubungan. Pada sediaan mikroskop cahaya, tampak satuan struktural yang disebut lobulus

hati (Guyton, 2007). Pada daerah perifer tertentu, lobulus dipisahkan oleh jaringan ikat yang mengandung duktus biliaris, pembuluh limfe, saraf, dan pembuluh darah. Daerah ini, yaitu celah portal, dijumpai pada sudut-sudut lobulus. Hati manusia mengandung celah portal per lobulus, masing-masing dengan sebuah venula, sebuah arteriol, sebuah duktus, dan pembuluh limfe (Junqueira, 2007).



Gambar 2.6 Gambaran Histologis Hati Normal (Di Fiore, 2010)

2.4.3 Fisiologi Hati

Hati merupakan organ parenkim yang paling besar. Hati juga menduduki urutan pertama dalam hal jumlah, kerumitan, dan ragam fungsi. Hati sangat

penting untuk mempertahankan fungsi hidup dan berperan dalam hampir setiap metabolisme tubuh dan bertanggung jawab atas lebih dari 500 aktivitas berbeda. Hal ini terutama terbukti pada kelainan hati karena banyak fungsi yang terganggu secara bersamaan (Telling, 2003; Guyton, 2007). Hati memiliki kemampuan yang sangat baik untuk regenerasi setelah kehilangan jaringan hati yang bermakna akibat hepatektomi parsial atau jejas hati akut, selama jejas tersebut tidak diperparah oleh infeksi virus atau peradangan (Guyton, 2007). Selain itu, hati juga berperan dalam proses metabolisme, memproduksi protein plasma, pembekuan darah, eritropoiesis, dan detoksifikasi kuman (Prakash *et al.*, 2008; Wijayanti, 2008; Mansur, 2008).

2.4.4 Kerusakan hati

2.4.4.1 Mekanisme Kerusakan Hati

Hati merupakan suatu organ yang berperan utama dalam proses metabolisme dalam tubuh (Prakash *et al.*, 2008). Kerusakan fungsi hati dapat disebabkan oleh adanya paparan berbagai agen hepatotoksik yang dapat berupa obat-obatan (antibiotic, anti-tubercular drugs, acetaminophen), parasit (malaria), jamur, virus, bakteri, zat kimia (CCl₄, kloroform), peroxides, S-galactosamine, alkohol, isotopradioaktif, dan lain-lain (Mukazayire MJ, 2010; Koner *et al.*, 2009; Khalaf *et al.*, 2008; Navarro and Senior, 2007).

Kerusakan hati akibat bahan kimia ditandai dengan lesi awal yaitu lesi biokimiawi, yang memberikan rangkaian perubahan fungsi dan struktur (Khalaf *et al.*, 2008; Navarro and Senior, 2007). Perubahan struktur hati akibat obat yang dapat tampak pada pemeriksaan mikroskopis antara lain (Sarjadi, 2003):

1. Radang

Radang bukan suatu penyakit namun reaksi pertahanan tubuh melawan berbagai jejas. Dengan mikroskop tampak kumpulan sel – sel fagosit berupa monosit dan polimorfonuklear.

2. Fibrosis

Fibrosis terjadi apabila kerusakan sel tanpa disertai regenerasi sel yang cukup.

3. Degenerasi

Degenerasi dapat terjadi pada inti maupun sitoplasma (Wijayanti, 2008). Degenerasi pada sitoplasma misalnya:

- a. Perlemakan, ditandai dengan adanya penimbunan lemak dalam parenkim hati, dapat berupa bercak, zonal atau merata.. Pada pengecatan inti terlihat terdesak ke tepi rongga sel terlihat kosong diakibatkan butir lemak yang larut pada saat pemrosesan (Kim H *et al.*, 2008)
- b. Degenerasi Hidropik, terjadi karena adanya gangguan membran sel sehingga cairan masuk ke dalam sitoplasma, menimbulkan vakuola-vakuola kecil sampai besar. Terjadi akumulasi cairan karena sel yang sakit tidak dapat menyingkirkan cairan yang masuk (Mitchell *et al.*, 2008)
- c. Degenerasi Hialin, termasuk degenerasi yang berat. Terjadi akumulasi material protein diantara jaringan ikat
- d. Degenerasi Amiloid, yaitu penimbunan amiloid pada celah disse, sering terjadi akibat amiloidosis primer ataupun sekunder

Degenerasi pada inti :

- a. Vakuolisasi, inti tampak membesar dan bergelembung, serta kromatinnya jarang, dan tidak eosinofilik
- b. Inclusion bodies, terkadang terdapat pada inti sel hati (Nurman dan

Huang, 2007)

4 .Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti sel yang mati dapat terlihat lebih kecil, kromatin, dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat. Inti menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen-segmen (karioreksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik (kariolisis) (Fajariyah, 2010; Wijayanti, 2008).

2.4.5 Mekanisme Kerusakan Hati Oleh CCl_4 Sebagai Radikal Bebas

Bahan kimia yang masuk ke tubuh dapat mempengaruhi sistem metabolisme tubuh dan faal manusia sehingga dapat mengakibatkan terjadinya gangguan kesehatan atau keracunan bahkan dapat menimbulkan kematian. Zat kimia yang dapat berbahaya bagi tubuh diantaranya yaitu karbon tetraklorida (CCl_4) (Bashandy dan AlWasel, 2011; Ozturk F *et al.*, 2009; Khalaf *et al.*, 2008; Tirkey *et al.*, 2005). Efek hepatotoksik dari karbon tetraklorida (CCl_4) disebabkan oleh metabolit aktif radikal triklorometil dan peroksitriklorometil. Mulanya Karbontetraklorida (CCl_4) diaktivasi oleh enzim sitokrom P₄₅₀ tipe (CYP)2E1, CYP2B1 or CYP2B2, dan CYP3A membentuk radikal triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) (Yan H. *et al.*, 2011; Bashandy dan AlWasel, 2011; Pan *et al.*, 2007; Panjaitan RGP *et al.*, 2007). Radikal ini dapat berikatan dengan molekul seluler (asam nukleat,

protein, dan lipid) mengganggu proses seluler penting seperti metabolisme lipid yang menyebabkan terbentuknya degenerasi lemak (steatosis). Radikal ini juga bereaksi dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksitriklorometil ($\text{CCl}_3\text{OO}^\cdot$), spesies paling reaktif (Pan *et al.*, 2007). $\text{CCl}_3\text{OO}^\cdot$ mengawali reaksi rantai peroksidasi lipid, di mana menyerang dan merusak membran sel yang sebagian besar tersusun oleh *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) terutama yang berhubungan dengan fosfolipid (Yan H. *et al.*, 2011; Khalaf *et al.*, 2008; Panjaitan RGP *et al.*, 2007; Weber, 2003). Peristiwa ini mempengaruhi permeabilitas membran mitokondrial, retikulum endoplasmik, dan menyebabkan penekanan pada pompa Ca^{2+} mikrosom kemudian mengakibatkan gangguan awal homeostatis Ca^{2+} sel hati yang akan berakhir dengan kematian sel (Pan *et al.*, 2007; Panjaitan RGP *et al.*, 2007; Valco M *et al.*, 2007). Potensial kerusakan diperantarai oleh berbagai jalur, seperti peningkatan aktivasi ion CCl_4 , pengurangan glutathion hati dan peningkatan kerentanan organel subsel (Khalaf *et al.*, 2008; Lu, 1995).

2.4.6 Steatosis (Akumulasi Lemak)

Steatosis pada jaringan hati merupakan suatu keadaan dimana terjadi akumulasi lemak, sebagian besar TG, yang melebihi 5% berat hati (Trihatmowijoyo dan Nusi, 2011; Fatmawati, 2006). Akumulasi lemak yang terjadi di dalam sitoplasma sel parenkim hati (sel hepatosit) bersifat reversibel, akan tetapi apabila steatosis tersebut terjadi terus-menerus dan terjadi dalam bentuk yang berat, maka perlemakan tersebut dapat mengawali suatu kematian sel (nekrosis) (Robbins *et al.*, 2007). Steatosis dapat terdiri dari steatosis

mikrovaskuler yang tidak menggeser inti dan steatosis makrovesikuler yang merupakan droplet tunggal besar yang menggeser inti hepatosit (Putri, 2009, Kim *et al.*, 2008). Faktor risiko yang berhubungan dengan steatosis (perlemakan hati) adalah umur, hiperlipidemia, diabetes melitus dan kegemukan yang merupakan penyebab utama terjadinya perlemakan hati (Machmud, 2001).

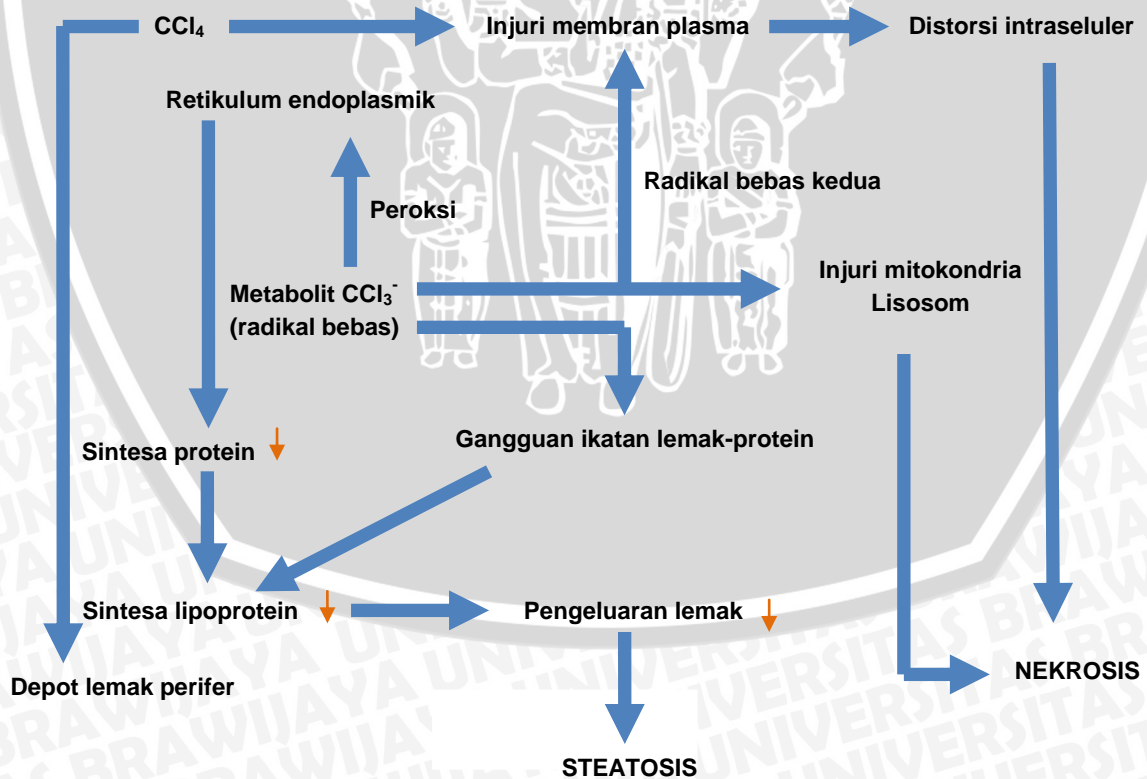
2.4.7 Mekanisme Terjadinya Steatosis

Secara teoritis steatosis pada jaringan hati dapat terjadi melalui 4 mekanisme:

1. Adanya peningkatan pengiriman lemak atau asam lemak dari makanan ke hati. Makanan berlemak dikirim melalui sirkulasi terutama dalam bentuk kilomikron. Lipolisis pada jaringan adipose melepaskan asam lemak kemudian bergabung dengan trigliserida di dalam adiposit, tetapi beberapa asam lemak dilepaskan ke dalam sirkulasi dan diambil oleh hati. Sisa kilomikron juga dikirim ke hati.
2. Peningkatan sistesa asam lemak atau pengurangan oksidasi di mitokondria, keduanya akan meningkatkan produksi trigliserida.
3. Gangguan pengeluaran trigliserida keluar dari sel hepatosit. Pengeluaran trigliserida dari sel hepatosit tergantung ikatannya dengan apoprotein, fosfolipid, dan kolesterol untuk membentuk VLDL.
4. Kelebihan karbohidrat yang dikirim ke hati dapat dirubah menjadi asam lemak.

(Trihatmowijoyo dan Nusi, 2011)

Pada keadaan intoksikasi CCl_4 , sintesis apoprotein yang merupakan bahan untuk pembentukan VLDL menurun sehingga kelebihan lemak di dalam hati tidak dapat dikeluarkan dan akan menyebabkan terjadinya akumulasi lemak di dalam sel hepatosit pada jaringan hati (Robbins *et al.*, 2007). Selain itu, adanya peningkatan pengiriman lemak atau asam lemak dari depot lemak perifer ke hati menyebabkan akumulasi lemak di dalam hati semakin berat karena adanya gangguan pada sintesa apoprotein sebagai prekursor pembentukan lipoprotein yang mengangkut lemak ke luar jaringan hati. Apabila steatosis yang terjadi semakin berat maka sel hepatosit tersebut dapat berkembang menjadi nekrosis (kematian sel) (Panjaitan RGP *et al.*, 2007; Robbins *et al.*, 2007). Mekanisme pathogenesis CCl_4 pada hati dapat dilihat pada **Gambar 2.7**

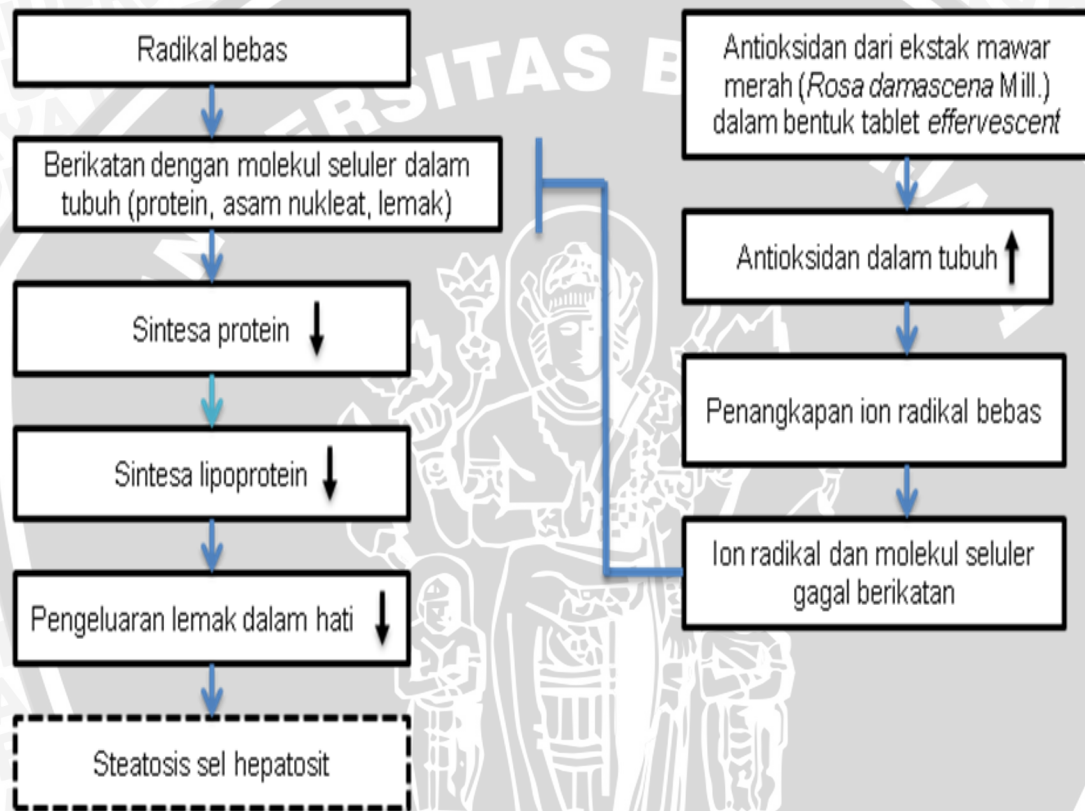


Gambar 2.7 Mekanisme Patogenesis Steatosis dan Nekrosis Akibat CCl_4 (Zimmerman dalam Aini, 2002)

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

Variabel yang diukur

Variabel yang tidak diukur

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan xenobiotik yang lazim digunakan untuk menginduksi peroksidasi lipid dan keracunan (Shanmugasundaram P *et al.*, 2006). CCl_4 setelah melalui system sitokrom P_{450} menjadi metabolit reaktifnya, CCl_3^- , Cl^- , Cl_3COO^- . Radikal triklorometil tersebut yang secara kovalen mengikat protein dan lipid tak jenuh yang merupakan bahan dasar membran sel. Hal itu menyebabkan peroksidasi lipid. Proses metabolisme yang terjadi juga semakin terganggu dan tidak seimbang. Hingga lama-kelamaan sel hati mengalami nekrosis dan steatosis (Schiff *et al.*, 1993; Khan *et al.*, 2009)

Pengaruh senyawa antosianin dalam tablet *effervescent* ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) mencegah dan memperlambat terjadinya oksidasi lipid, walaupun dengan konsentrasi substrat yang lebih rendah dibanding substrat yang dioksidasi. Sehingga terlindungilah protein dan lipid tak jenuh dari pengikatan secara kovalen oleh radikal triklorometil tersebut (Francis, 1999). Dan akhirnya proses kematian sel dan penurunan fungsi metabolisme hati dapat dihindarkan. Steatosis pada sel hati juga menjadi menurun.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

3.2.1 Pemberian antioksidan dari ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* mampu menurunkan steatosis sel hepatosit tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) sebagai radikal bebas.

3.2.2 Pemberian antioksidan dari ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* mampu memperbaiki struktur anatomi hati tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) sebagai radikal bebas.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vivo* pada hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis pada jaringan hati tikus putih strain wistar yang telah diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Randomized Post Test Only Control Group Design*, di mana setiap hewan coba memiliki probabilitas yang sama mendapat perlakuan, sehingga dapat menjaga validitas internal.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu

Penelitian dilaksanakan selama kurang lebih empat bulan, dimulai pada bulan Februari - Mei 2012.

4.2.2 Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Histo Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Sampel dan Pengulangan

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar yang sehat berumur 3 bulan. Perhitungan besarnya

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

pengulangan pemeriksaan pada sampel adalah mengikuti rumus sebagai berikut (Anshory, 2008).

Bila t: jumlah perlakuan, r: jumlah ulangan, maka penelitian ini jumlah pengulangan yang sesuai adalah 4,75, sehingga jumlah sampel hewan coba

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

$$r - 1 \geq 15 : 4$$

$$r \geq 3,75 + 1$$

$$r \geq 4,75$$

yang digunakan untuk tiap kelompok perlakuan sebanyak 5.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah:

- Dosis tablet *effervescent* dari ekstrak bunga mawar yaitu 1,25 gr, 2,5 gr, dan 5 gr.
- Induksi karbon tetraklorida (CCl_4) sebesar 0,18 ml/136gBB/3hari.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis.

4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional yang digunakan adalah:

1. Tablet *effervescent* ekstrak mawar merah:

Ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* ini diperoleh dan dibuat oleh peneliti Saati dkk (2007) dari Universitas Muhammadiyah Malang. Tablet *effervescent* ini diberikan secara sonde pada tikus dengan dosis 1,25 gr, 2,5 gr, dan 5 gr setiap hari selama dua minggu.

2. Induksi karbon tetraklorida (CCl₄):

Pemberian karbon tetraklorida dilakukan sebanyak dua kali dalam seminggu dengan dosis 0,18 ml/136gBB/3hari pada 4 group, selain tikus kontrol negatif.

3. Steatosis sel hepatosit:

Banyaknya jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis merupakan indikator terjadinya kerusakan hati. Steatosis merupakan terjadinya suatu akumulasi lemak di dalam sitoplasma sel hepatosit karena adanya gangguan pada metabolisme lemak (Panjaitan RGP *et al.*, 2007). Steatosis sel hepatosit yang dihitung pada jaringan hati merupakan sel hepatosit yang sitoplasmanya tercat berwarna putih dengan inti sel hepatosit berada di

sentral maupun perifer akibat adanya desakan lemak yang memenuhi sitoplasma setelah dilakukan pengecatan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Penghitungan sel hepatosit yang mengalami steatosis dilakukan dengan mikroskop dengan perbesaran 400x. Sel dihitung dalam dua puluh lapang pandang yang berbeda kemudian hasilnya di rerata.

4.6 Dasar Penentuan Dosis

4.6.1 Dosis Ekstrak Mawar Merah dalam Bentuk Tablet *Effervescent*

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

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

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

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

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

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

Berdasarkan pertimbangan tersebut dosis yang dipilih adalah dosis I 1,22 mg, dosis II 2,43 mg, dan dosis III 4,86 mg. Penelitian sebelumnya tingkatan dosis yang ada belum menimbulkan efek toksik dan kematian bagi tikus, sehingga membuka peluang untuk peningkatan dosisnya karena sensitivitas tikus sangat rendah dibanding dengan sensitivitas manusia, maka kebutuhan dosis tikus yang terlalu sedikit dapat dikalikan 10 kali (Ganiswara, 1995), juga bentuk sediaan yang berupa tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg, maka dosis yang digunakan ialah :

1. Dosis I \rightarrow 1,22 mg/136 gBB. Mengingat berat total tablet sebesar 5 g/tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg/ tablet. Maka dosis I menggunakan 1/4 tablet atau 1,25 mg.
2. Dosis II \rightarrow 2,43 mg/136 gBB. Mengingat berat total tablet sebesar 5 g/tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg/ tablet. Maka dosis II menggunakan 1/2 tablet atau 2,5 mg.
3. Dosis III \rightarrow 4,86 mg/136 gBB. Mengingat berat total tablet sebesar 5 g/tablet dengan kandungan antosianin sebesar 4,85 mg/ tablet. Maka dosis III menggunakan 1 tablet atau 5 mg.

4.6.2 Dosis Toksik CCl₄

Dalam literatur disebutkan bahwa dosis toksik CCl₄ konsentrasi 50 % pada binatang percobaan adalah 1,3 ml/kg/3hari (Yamamoto *et al.*, 1996). Pada penelitian ini rata-rata berat tikus adalah 136 gr. Sehingga dosis toksik tiap ekor adalah:

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

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

Sehingga dalam penelitian ini dosis toksik yang dibutuhkan adalah 0,18 ml/ekor/2x seminggu. Karena sifat CCl₄ yang tidak larut dalam air maka perlu diencerkan dengan minyak jagung dengan perbandingan 1:1 (Yamamoto *et al.*, 1996). Sehingga setiap pemberian 0,18 ml CCl₄ disertai dengan minyak jagung 0,18 ml.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Perawatan Tikus

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

Bahan: air, sekam, dan pakan tikus

4.7.2 Alat dan Bahan Pengambilan Sampel

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

Bahan: eter, PBS (*Phosphat Buffer Solution*) pH 7,4, dan HCl 10%.

4.7.3 Alat dan Bahan Pengecekan Jumlah Steatosis Sel Hepatosit

Alat: Object glass, cover glass, mikrotom, pinset, mikroskop, incubator, dan *Tissue Tex Processor*

Bahan: Jaringan hati basah, formalin 10%, xylol, alkohol 80%, alcohol 90%, alkohol 96%, alkohol asam 1%, eosin 1%, parafin

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pengelolahan dan Pemeliharaan Tikus Putih

- 1 Menimbang berat badan tikus.
- 2 Memasukkan tikus ke dalam kandang yang dibuat dari bak plastik dengan penutup kawat ram yang dibingkai dengan kayu dan mengadaptasikan tikus putih jantan selama 1 minggu.
- 3 Memberi alas pada kandang berupa sekam dengan ketebalan secukupnya dan melakukan penggantian sekam setiap 3 hari sekali.
- 4 Memberi minum dengan aquades setiap hari yang ditempatkan pada botol minum ukuran 100 ml dan terdapat pipa dengan bola katup tempat keluarnya air minum. Tempat ini diletakkan di atas kawat penutup kandang.
- 5 Memberi pakan yang berupa BR1 sebanyak 10% dari berat badan tikus untuk setiap harinya.
- 6 Mengelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok. Lalu memberi tanda pada ekor menggunakan spidol. Juga memberi label pada kandang tikus sesuai perlakuan yaitu label kontrol negatif, kontrol positif, Dosis I, Dosis II, dan Dosis III.

- 7 Memberikan ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* dan CCl_4 secara sonde sesuai dengan perlakuan selama 14 hari (Kusumawati, 2004).

4.8.2 Pemberian Tablet *Effervescent* Mawar Merah

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

4.8.3 Pemaparan Karbon tetraklorida (CCl_4) Pada Tikus

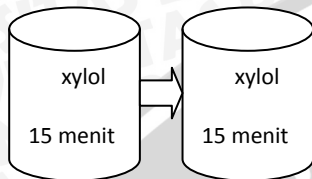
1. Mengambil CCl_4 dengan pipet ukur sebanyak 5ml/hari.
2. Melarutkan CCl_4 dengan minyak jagung senyak 1:1 di dalam beaker glass, yaitu untuk CCl_4 sebanyak 5 ml dan minyak jagung 5ml dengan konsentrasi 50 %, kemudian mengaduk hingga tercampur rata.
3. Mengambil larutan CCl_4 dengan dosis 0,180 ml/136gBB/3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

4.8.4 Pembuatan Slide Jaringan Hati dengan Pengecatan HE

Pada awal minggu keempat, semua kelompok tikus dianestesi dengan eter inhalasi kemudian dilakukan pembedahan. Kemudian hati tikus diperfusi dengan PBS pH 7,4 melalui vena porta tikus untuk membersihkan darah dari hati tikus. Setelah hati tampak berwarna putih, hati diambil lalu dimasukkan botol plastik yang sudah diisi dengan formalin 10%. Sebaiknya botol plastik dibersihkan terlebih dahulu sebelum digunakan dengan larutan HCl 10% lalu dibilas dengan air untuk mencuci sisa larutan HCl. Sampel bisa langsung diproses atau disimpan dalam refrigerator pada suhu 4° C maksimal tujuh hari setelah pengambilan sampel. Pengamatan dan penghitungan steatosis sel hepatosit dilakukan dengan membuat preparat. Berikut langkah-langkah pembuatan preparat histologis jaringan hati:

1. Proses pemotongan jaringan berupa makros:
 - a. Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan yang akan diteliti.
 - b. Jaringan dipotong dengan ketebalan \pm 2-3 mm.
 - c. Dimasukkan ke kaset sesuai dengan kode gross.
 - d. Dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% untuk fiksasi.
 - e. Diproses menggunakan *Tissue Tex Processor*.
2. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan:
 - a. Jaringan diangkat dari mesin *Tissue Tex Processor*.
 - b. Kemudian jaringan di blok dengan parafin sesuai kode jaringan.
 - c. Jaringan dipotong dengan mesin microtom ketebalan 3-5 mikron.

3. Proses deparafinisasi



Setelah di sayat atau di potong sesuai dengan ketebalan kemudian, di taruh dalam oven selama 15 menit kurang lebih 70 derajat, kemudian di masukan ke dalam larutan xylol masing-masing 15 menit dengan temperatur suhu xylol 70 derajat.

4. Proses pewarnaan:

- Dicelupkan ke dalam masing-masing tabung alkohol 96% selama 3 menit.
- Masukkan/cuci ke dalam air mengalir selama 10 menit.
- Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit.
- Cuci dengan air mengalir selama 15 menit.
- Alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup.
- Amonia air 3-5 celup.
- Cat pembeding eosin 1% selama 15 menit.

5. Dehidrasi:

- Alkohol 80% selama 3 menit.
- Alkohol 96% selama 3 menit.
- Alkohol 96% selama 3 menit.

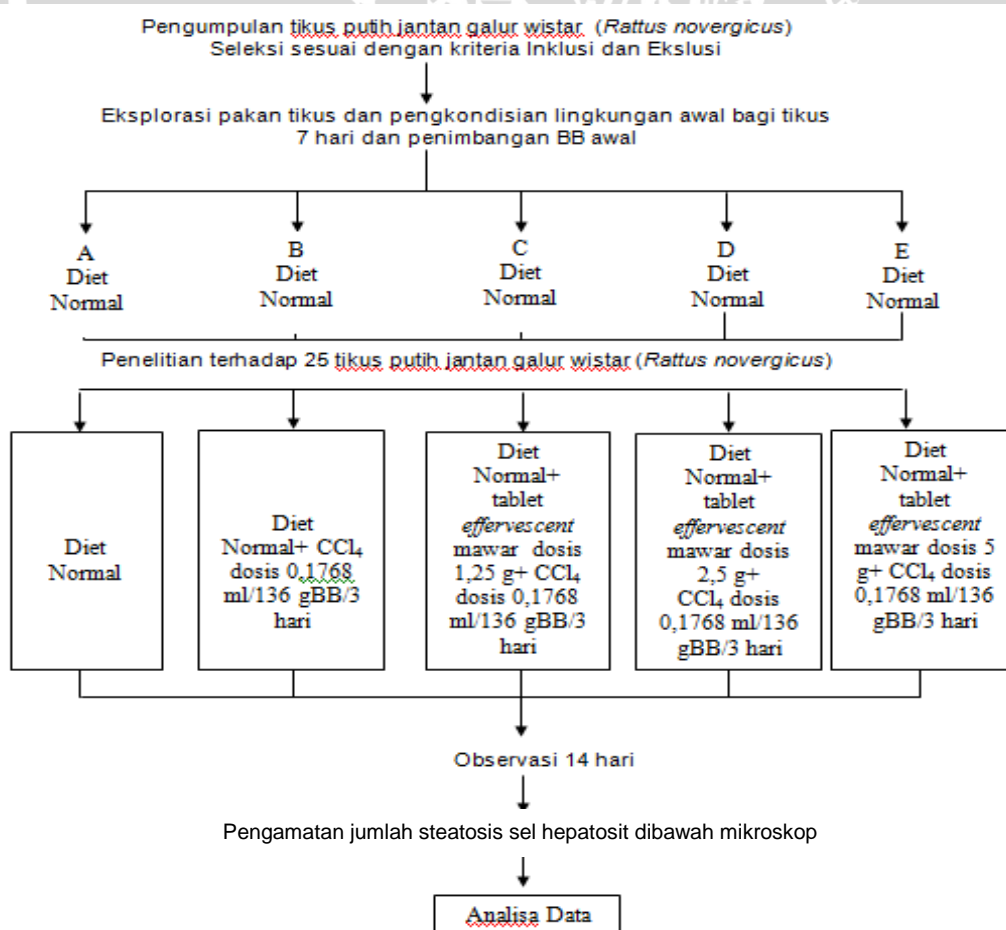
6. Penjernihan (Clearing):

- Xylol selama 15 menit.

- b. Xylol selama 15 menit.
 - c. Keringkan.
7. Mounting dengan entelan dan deckglass.
 8. Preparat siap untuk diamati di bawah mikroskop.

Pengamatan slide dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x. Steatosis sel hepatosit yang dihitung merupakan sel hepatosit yang sitoplasmanya tercat berwarna putih dengan inti sel yang berada di sentral atau di perifer akibat adanya pendesakan lemak yang terakumulasi di dalam sitoplasma. Penghitungan dilakukan dengan pengulangan sebanyak dua puluh lapang pandang yang kemudian di rerata jumlahnya.

4.8.5 Alur Kerangka Kerja Penelitian



Prosedur Pengumpulan dan Analisis Data

4.8.6 Pengumpulan Data

Pengumpulan data pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Diberikan sonde tablet *effervescent* mawar merah (*Rosa damascena* Mill.) dengan dosis berbeda-beda tiap kelompoknya yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) yang keseluruhannya selama 14 hari.
- b. Setelah perlakuan selesai selama 14 hari, kemudian dibedah, dan diambil organ hati untuk dibuat sediaan preparat histologis dan diamati hasilnya di bawah mikroskop.

4.9.2 Analisa Data

Hasil pengukuran jumlah steatosis sel hepatosit dianalisa secara statistik dengan menggunakan uji normalitas (untuk mengetahui apakah data yang diperoleh dari setiap kelompok memiliki sebaran normal). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian (untuk menguji apakah data yang diperoleh dari setiap kelompok memiliki variasi homogen). Jika sebaran data normal dan varian homogen, analisa dilanjutkan dengan uji *One-way Anova* yang bertujuan untuk membandingkan nilai rerata masing-masing kelompok, serta mengetahui bahwa minimal terdapat dua kelompok yang berbeda signifikan. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes *Anova*, dilakukan analisis *Post Hoc Tukey LSD*. Teknik pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program *SPSS 16.0 Windows 7* dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 ($p=0,05$) dan taraf kepercayaan 95%

($\alpha=0,05$). Penelitian ini bermakna bila nilai $p < 0.05$ dan hipotesis yang menyatakan bahwa ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* dapat menurunkan jumlah steatosis sel hepatosit pada jaringan hati tikus galur wistar yang diinduksi karbon tetraklorida. Namun, apabila $p > 0.05$ berarti hipotesis tersebut ditolak.

4.9.3 Jadwal Kegiatan Program

Tabel 4.1 Rencana Kerja dan Jadwal Penelitian

Kegiatan	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	Minggu ke-5 sampai ke-16
Pemilihan dan pengacakan sampel	√				
Adaptasi	√				
Pemberian tablet <i>effervescent</i> mawar merah + diinduksi karbon tetraklorida (CCl ₄)		√	√		
Monitoring	√	√	√		
Penghitungan jumlah steatosis sel hepatosit				√	
Analisis data				√	√

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

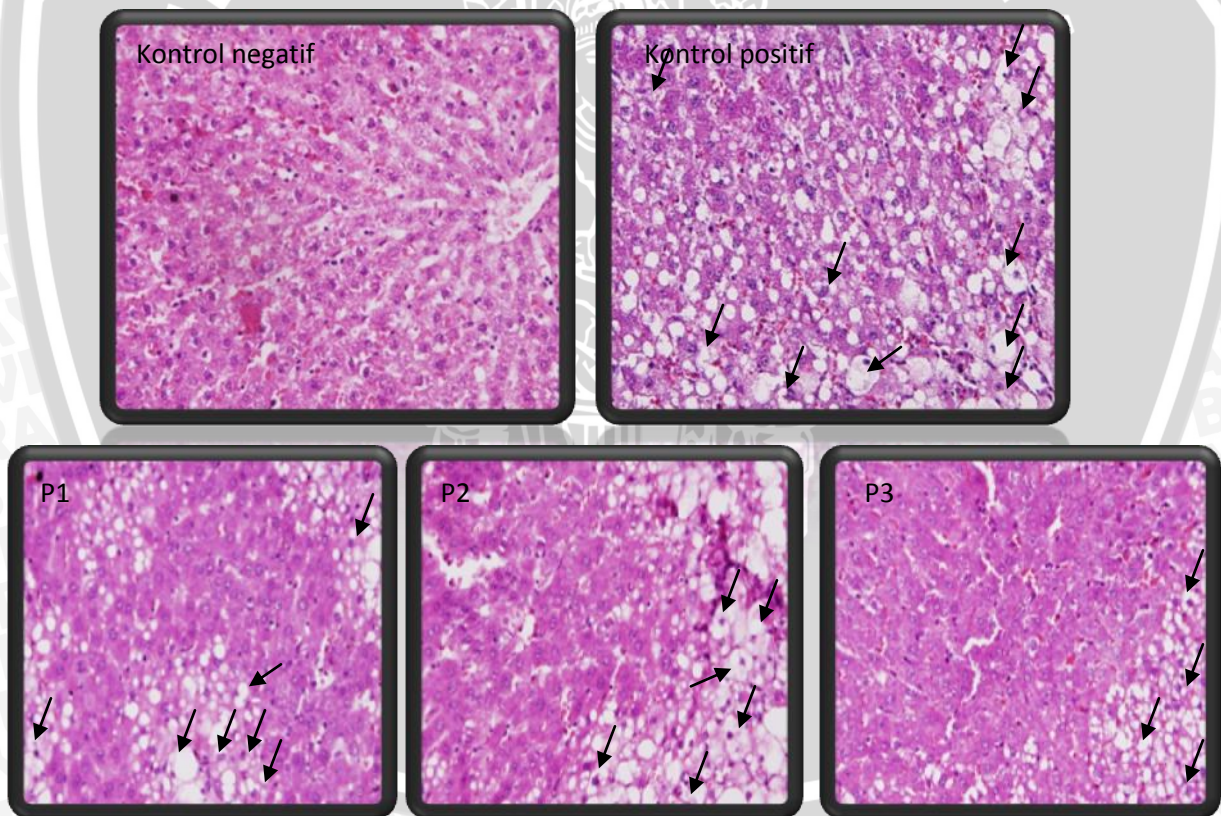
5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan memberikan perlakuan berupa pemaparan karbon tetraklorida (CCl_4) dan pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* pada kelompok-kelompok perlakuan, yang merupakan langkah awal dalam serangkaian proses penghitungan jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis. Berikut ini merupakan tabel yang menunjukkan rerata jumlah steatosis sel hepatosit pada jaringan hati tikus tiap kelompok :

Tabel 5.1 Jumlah Steatosis Sel Hepatosit pada Hati Tikus

Nama Kelompok	Jumlah Steatosis Sel Hepatosit Tikus (rerata \pm SD)
Kontrol Negatif	1.4937 \pm 1.05330
Kontrol Positif	20.2463 \pm 1.71821
Perlakuan 1	17.2644 \pm 1.03941
Perlakuan 2	11.6185 \pm 1.25791
Perlakuan 3	9.1602 \pm 1.26352

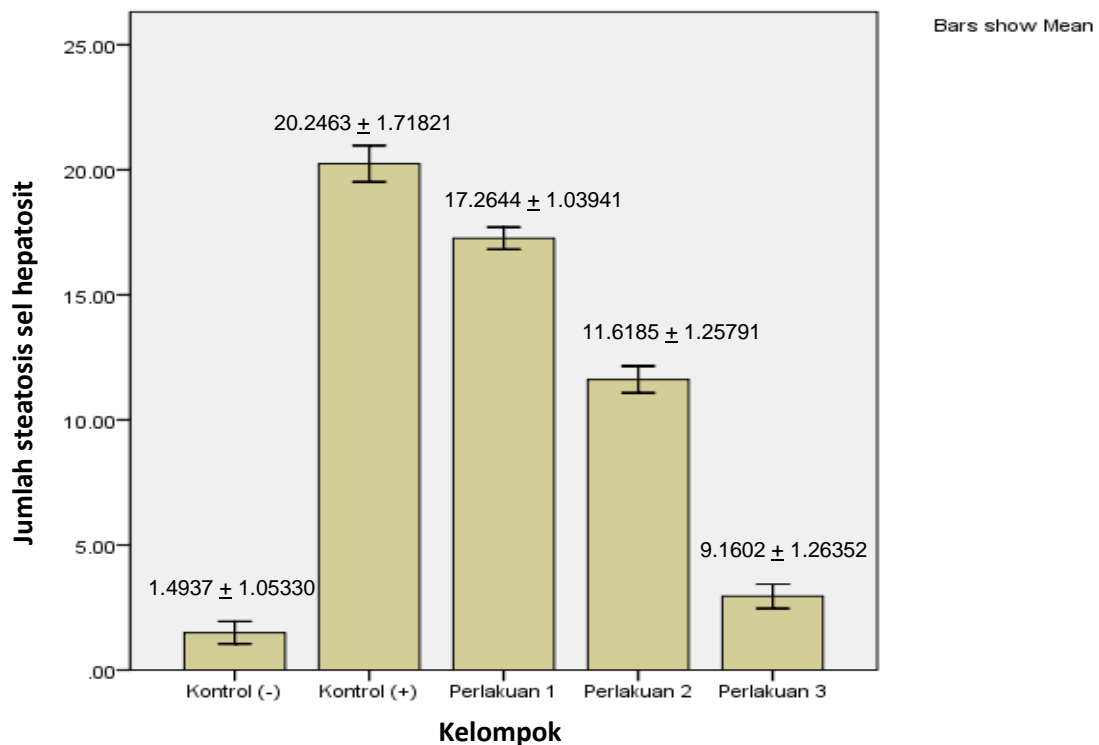
Penghitungan steatosis pada sel hepatosit dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 400x dan diamati sel hepatosit yang di dalam sitoplasmanya terdapat lemak berwarna putih yang dapat dilihat pada **Gambar 5.1**. Data steatosis sel hepatosit yang didapatkan merupakan data rerata jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis dari 20 lapang pandang. Berikut ini merupakan gambar histopatologis yang menunjukkan perbedaan antara sel hepatosit yang normal dengan sel hepatosit yang mengalami steatosis pada jaringan hati tikus wistar tiap kelompok:



Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopis Steatosis Sel Hepatosit dengan Pembesaran 400x

Keterangan : tanda panah menunjukkan sel hepatosit yang mengalami steatosis dengan ciri sitoplasmanya yang berwarna putih karena adanya akumulasi lemak dalam sitoplasma

Untuk penyajian data hasil perhitungan steatosis sel hepatosit pada jaringan hati tikus wistar ditulis dengan cara mean \pm standar deviasi. Cara penulisan tersebut dipilih karena pada hasil uji normalitas data, dihasilkan data dengan sebaran normal ($p > 0,05$).



Gambar 5.2 Grafik Rerata Jumlah Steatosis Sel Hepatosit Pada Hati Tikus ($p < 0,05$)

Keterangan : notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang bermakna di mana dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok P1, P2, dan P3 dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

5.2 Analisa Data

Sebelum melakukan analisa data dengan uji anova, maka harus dipenuhi 2 syarat dalam melakukan uji *One-way Anova* untuk lebih dari 2 kelompok data

tidak berpasangan. Syarat uji *One-way Anova* adalah sebaran data harus normal dan varian data Harus sama. Sebaran data yang normal diketahui dengan uji normalitas data (uji Shapiro-Wilk). Sedangkan varian data yang sama, diketahui dengan uji homogenitas varian. Adapun hasil dari uji normalitas data, didapatkan bahwa data untuk semua kelompok mempunyai sebaran normal (uji Shapiro-Wilk, $p > 0,05$). Sedangkan hasil dari uji homogenitas varian, didapatkan bahwa data belum mempunyai varian yang sama, yakni $p = 0,000$ sehingga dilakukan transformasi data terlebih dahulu sehingga didapatkan hasil varian data yang sama. Setelah dilakukan transformasi data, didapatkan hasil $p = 0,188$ ($p > 0,05$). Dengan demikian, analisa data dapat dilakukan dengan menggunakan uji *One-way Anova*.

Dari hasil analisa data dengan menggunakan metode *One-way Anova*, didapatkan nilai $p = 0,00$ yang berarti terdapat minimal dua kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dilakukan analisa *post hoc* dari uji *One-way Anova*, yaitu uji Least Significant Difference (LSD). Berdasarkan hasil uji LSD didapatkan bahwa kelompok P1 (tablet *effervescent* mawar dosis 1,25 gr), P2 (tablet *effervescent* mawar dosis 2,5 gr), dan P3 (tablet *effervescent* mawar dosis 5 gr) mampu menurunkan jumlah steatosis sel hepatosit secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Selain itu, terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok P1, P2, dan P3 dengan kontrol negatif ($p < 0,05$).

Setelah melihat **Gambar 5.2**, dapat disimpulkan bahwa kelompok P1 (tablet *effervescent* ekstrak mawar dosis 1,25 gr), P2 (tablet *effervescent* ekstrak mawar dosis 2,5 gr), dan P3 (tablet *effervescent* pigmen mawar dosis 5 gr) mampu menurunkan jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Meskipun demikian, masih didapatkan perbedaan yang bermakna antara hasil kelompok P3 dengan pemberian dosis tablet *effervescent* ekstrak mawar merah yang tertinggi dan kelompok kontrol negatif yang dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor.



BAB 6

PEMBAHASAN

Perlemakan hati atau steatosis pada jaringan hati merupakan suatu keadaan dimana lemak, sebagian besar TG, yang melebihi 5% berat hati (Pettinelli *et al.*, 2011; Trihatmowijoyo dan Nusi, 2011; Fatmawati, 2006). Steatosis hati terjadi karena adanya gangguan pada metabolisme lemak hati yang normal baik oleh karena adanya kerusakan di dalam sel hati (*hepatocyte*) atau transportasi lemak, asam lemak atau karbohidrat terhadap kapasitas sekresi lemak hati (Trihatmowijoyo dan Nusi, 2011; Sherlock, 2002). Berdasarkan faktor penyebab, perlemakan hati dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu perlemakan hati alkoholik (*Alcoholic Fatty Liver Disease/AFLD*) dan non alkoholik (*Non Alcoholic Fatty Liver Disease/NAFLD*) (Sears, 2011). Penyakit perlemakan hati sampai saat ini masih merupakan kondisi klinis yang sering ditemukan sebagai salah satu bentuk penyakit hati kronik (Dabhi *et al.*, 2008). Perlemakan hati non alkoholik (NAFLD) bervariasi mulai dari perlemakan hati sederhana (*steatosis*), perlemakan hati dengan inflamasi (*steatohepatitis*), fibrosis, sampai menjadi sirosis (Charlton, 2009). Prevalensi NAFLD di populasi perkotaan di Indonesia diperkirakan mencapai 30% dengan obesitas sebagai faktor resiko yang paling berpengaruh (Trihatmowijoyo dan Nusi, 2011). Terapi untuk penyakit hati yang banyak dikenal masyarakat sampai saat ini berupa terapi tanpa obat yaitu dengan diet seimbang dan mengatur gaya hidup sehat, terapi dengan obat, terapi dengan vaksinasi, dan terapi dengan transplantasi hati. Salah satu terapi yang saat ini sedang dikembangkan adalah

dengan pemberian antioksidan yang diharapkan mampu menghambat atau menurunkan efek radikal bebas yang berperan utama dalam proses terjadinya steatosis hati. Mawar merah merupakan salah satu bunga yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi dibuktikan dengan adanya penelitian yang dilakukan oleh Saati, *dkk.*, 2011. Pengembangan ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* merupakan salah satu inovasi yang dapat dijadikan alternatif dalam pengobatan steatosis hati.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* dalam mencegah progresivitas steatosis hati pada tikus putih strain wistar. Hewan coba yang digunakan berjumlah 25 ekor yang kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif tanpa pemberian CCl_4 dan tablet *effervescent*, kontrol positif yang diberikan CCl_4 0,18 ml/136grBB/3 hari, perlakuan 1 yang diberikan CCl_4 0,18 ml/136grBB/3 hari + tablet *effervescent* 1,25 gr, perlakuan 2 yang diberikan CCl_4 0,18 ml/136grBB/3 hari + tablet *effervescent* 2,5 gr, dan perlakuan 3 yang diberikan CCl_4 0,18 ml/136grBB/3 hari + tablet *effervescent* 5 gr. Hewan coba diberikan diet normal selama 14 hari. Setelah perlakuan mencapai hari ke-14, hewan coba dibedah dan diambil organ hati untuk diamati jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis di bawah mikroskop.

Berdasarkan hasil analisis data dengan LSD *One-way* Anova didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif yang diinduksi CCl_4 . Perbedaan tersebut tampak dengan adanya peningkatan rata-rata steatosis sel hepatosit dari 1.4937

± 1.05330 menjadi 20.2463 ± 1.71821 pada kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CCl_4 dapat menyebabkan terjadinya steatosis pada sel hepatosit.

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan salah satu senyawa toksik yang dapat menyebabkan stress oksidatif di dalam tubuh (Simanjuntak, 2007). Mekanisme patogenesis toksisitas CCl_4 yang terjadi segera setelah masuk ke dalam tubuh adalah kerusakan membran plasma akibat CCl_4 nonmetabolik, sehingga menyebabkan masuknya ion-ion dari ekstraseluler, misalnya Ca^{2+} . Hampir bersamaan dengan dimulainya distorsi intraseluler, CCl_4 diubah menjadi radikal bebas $\text{CCl}_3\cdot$ di retikulum endoplasmic oleh enzim sitokrom P_{450} pada jaringan hati. Radikal $\text{CCl}_3\cdot$ yang terbentuk dengan adanya oksigen akan mempercepat reaksi membentuk radikal $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ (Yan H *et al.*, 2011). Reaksi ini akan semakin kompleks membentuk reaksi berantai. Dengan adanya reaksi berantai tersebut maka sintesis lipoprotein VLDL yang berfungsi sebagai alat transport lemak dalam tubuh tidak dapat berjalan dengan normal sehingga terjadi hambatan pengeluaran lemak dari hati serta masuknya lemak dari depot perifer dan kemudian memicu timbulnya steatosis (Simanjuntak, 2007; Aini, 2002).

Hasil analisa data dengan LSD *One-way* Anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,005$) antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yang sudah diberikan tablet *effervescent* dengan dosis yang berbeda-beda. Hal ini terbukti bahwa ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* mempunyai efek antihepatotoksik.

Menurut penelitian Saati, *dkk.*, 2011. dikatakan bahwa ekstrak mawar merah mempunyai efek antihepatotoksik. Kandungan mawar merah yang memberikan efek antihepatotoksik tersebut pada percobaan *in vitro* adalah senyawa antosianin. Antosianin merupakan suatu senyawa antioksidan golongan polifenol yang dapat menghambat terjadinya kerusakan sel-sel hati yang diinduksi oleh CCl_4 dan bertindak sebagai scavenger terhadap radikal bebas yang terbentuk selama proses metabolisme dalam tubuh manusia (Valko *et al.*, 2007; Cho *et al.*, 2003). Dinyatakan Dewanti (2006), bahwa antioksidan polifenol mempunyai daya antioksidan berkekutaan 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kalinya dibandingkan vitamin E. Hasil penelitian lainnya, menunjukkan bahwa antosianin bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi mengurangi resiko penyakit jantung, kanker, hiperlipidemia dan penyakit kronis lainnya, seperti penyakit diabetes dan stroke (Garz'on *et al.*, 2009).

Berdasarkan hasil penelitian yang tampak pada gambar 5.1 dan 5.2, pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* pada masing-masing kelompok perlakuan 1 (tablet *effervescent* 1,25 gr), perlakuan 2 (tablet *effervescent* 2,5 gr), dan perlakuan 3 (tablet *effervescent* 5 gr) menunjukkan adanya penurunan rerata sel hepatosit yang mengalami steatosis dan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 ($p < 0,05$). Cedera sel hepatosit semakin berkurang seiring dengan banyaknya dosis tablet *effervescent* yang diberikan. Meskipun terjadi penurunan yang signifikan, namun pada kelompok perlakuan 3 tetap terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Hasil

tersebut mungkin dapat disebabkan karena dosis yang digunakan kurang besar atau kurang lamanya waktu pemberian tablet *effervescent* sehingga kurang memberikan efek yang maksimal.

Hasil yang diperoleh dari percobaan eksperimental ini mungkin dipengaruhi oleh beberapa faktor kesalahan, sehingga berpengaruh terhadap reabilitas dan validitas data. Faktor-faktor kesalahan tersebut antara lain : pemilihan jenis mawar, prosedur pembuatan ekstrak mawar merah dan tablet *effervescent* sehingga menyebabkan hilangnya bahan-bahan aktif yang penting, pemberian CCl_4 yang berulang sehingga menyebabkan kerusakan hati yang cukup berat, dan pengamatan mikroskopis yang tidak objektif. Selain itu, masih diperlukan juga penelitian lebih lanjut mengenai efek samping pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* ini kepada hewan coba sehingga harapannya dengan efek samping yang minimal tablet *effervescent* ini dapat diimplementasikan kepada manusia dan memberikan manfaat yang baru bagi kesehatan manusia.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* terhadap jumlah steatosis sel hepatosit pada jaringan hati tikus wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4), maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Induksi karbon tetraklorida (CCl_4) dapat meningkatkan jumlah steatosis sel hepatosit tikus wistar yang menandakan adanya kerusakan jaringan akibat efek radikal bebas yang ditimbulkan oleh CCl_4 .
2. Pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* mampu melindungi organ hati tikus dari efek radikal bebas yang ditandai dengan penurunan jumlah steatosis sel hepatosit tikus wistar yang diinduksi CCl_4 .
3. Kemampuan ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* dalam menurunkan jumlah steatosis sel hepatosit tikus wistar yang diinduksi CCl_4 diduga karena mawar merah mengandung senyawa antioksidan golongan polifenol yang mampu menangkap anion radikal.

7.2 Saran

Beberapa saran untuk mengeliminasi kekurangan-kekurangan dan sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya:

1. Diperlukan suatu penelitian lebih lanjut untuk mencari dosis optimal dan juga efek samping pemberian ekstrak mawar merah dalam bentuk tablet *effervescent* sehingga nantinya dapat dikembangkan sebagai salah satu alternatif terapi farmakologi akibat efek radikal bebas yang berbahaya.
2. Dilakukan pengecatan khusus untuk jaringan lemak, yaitu: pengecatan Oil Red O.
3. Dilakukan perhitungan jumlah sel hepatosit yang mengalami steatosis dengan memberikan grading ukuran/keparahan sel hepatosit yang mengalami steatosis.
4. Perlunya pengamatan mikroskopis dengan menghitung jumlah steatosis sel hepatosit dalam satu lobulus hati.
5. Perlunya penelitian untuk mengetahui bahan-bahan aktif lainnya dari mawar merah yang mempunyai efek farmakologi.
6. Pada penelitian ini perlu dilakukan pengembangan penelitian lebih lanjut sehingga dapat diaplikasikan pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aal ESM, Hucl P. J Agric Food Chem. 2003;51:2174. [[PubMed](#)] hmed J, Shivhare US, Raghavan GSV. *Eur Food Res Tech*. 2004;218:525.
- Aini, Maslihatul. 2002. *Efek Pemberian Ekstrak Meniran (Phyllanthus niruri) terhadap Gambaran Steatosis Sel Hepar Tikus (Rattus norvegicus) Strain Wistar yang Diinduksi Karbon tetraklorida (CCl₄)*. Malang.
- Al- Hidayah, Asri, 2006. *Profil Tumbuhan Bunga mawar (Rosa Damascena Mill.)*. http://sidamas.org/index.php?option=com_frontpage&Itemid=1. Diakses pada 20 September 2011.
- Anonymous. International Programme on Chemical Safety. Available from : URL;<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc.208.htm>. Diakses : 21 Januari 2006 dan Carbon tetrachloride. Available from : URL ; <http://www.nsc.org/library/chemical/carbonte.htm>. Diakses : 21 Januari 2006.
- Ansel, H. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi ke 4. UI Press. Jakarta, pp. 56-60.
- Ansory, M. 2008. Tugas Akhir (Skripsi): *Efek Pemberian Cornmeal dan Cornmeal-soy terhadap Ketebalan Aorta Tikus Putih (Rattus norvegicus) strain wistar yang Diberi Diet Aterogenik*. FKUB.
- Ashihara H, Suzuki T. 2004. Distribution and biosynthesis of caffeine in plants. *Front Biosci* 9(2): 1864–76.

- Azmi, U. 2010. Skripsi. *Uji Stabilitas Warna Tablet Effervescent Dari Ekstrak Pigmen Mawar Merah (Rosa sp.) (Kajian Varietas dan Kopigmentasi)*. FPUMM.
- Baillie, J.K., *et al.* Oral antioxidant supplementation does not prevent acute mountain sickness: double blind, randomized placebo-controlled trial. *QJM*. 2009. 102 (5): 341–8.
- Bank C, Keller A. Multidose toxicity and carcinogenicity studies. In: Kram DJ, Keller KA, editors. *Toxicology testing handbook*. New York: Headquarters. 2001. pp. 33-37,55-58.
- Banks C, Keller KA. Multidose toxicity and carcinogenicity studies. In: *Toxicology Testing Handbook: principles, applications, and data interpretation*. New York: Marcel Dekker Inc, 2001: 33-72.
- Bashandy dan Alwasel. 2011. Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Rats: Protective Role of Vitamin C. *Journal of Pharmacology and Toxicology* 6(3): 283-292.
- Bjelakovic G., *et al.* Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 297, 2007, (8): 842–57.
- Boskabady M.H., Shafei M.N., Saberi Z., Amini S. *Pharmacological Effects of Rosa Damascena*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2011; 14(4): 295-307.

BPOM. 2004. *Uji Keamanan Sediaan Jadi Ekstrak Kering Daun Jati Belanda (GuazumaUlmifolia L.) Terhadap Fungsi Dan Histologis Ginjal Tikus Jantan*. Info Pom. Vol 5. No. 5.

Brambilla D, Benedetto GD, Pezzino S, and Bernardini R. *The role of antioxidant supplement in immune system, neoplastic, and neurodegenerative disorders: a point of view for an assessment of the risk/benefit profile*. Nutrition Journal. 2008; 7(29): 1475-2891.

Cadenas E, *Mitochondrial Free Radical Production and Cell Signalling*. Mol Aspects Med. 2004; 25(1-2): 17-26.

Cai YZ, Xing J, Sun M, Zhan ZQ, Corke H. Phenolic antioxidants (hydrolyzable tannins, flavonols, and anthocyanins) identified by LC-ESI-MS and MALDI-QIT-TOF MS from Rosa chinensis flowers. J Agric Food Chem. 2005; 53: 9940-9948.

Charlton, M. 2009. Liver Transplantations: Challenging Controversies and Topics. 1st edition. Humana Press. Chapter 10. Page 169-190. Available from: usagedu.com/articles/naflid05/naflid05.pdf. Accessed: December 2nd, 2012.

Cho EJ, Yokozawa T, Rhyu DY, Kim SC, Shibahara N, Park JC. Study on the inhibitory effects of Korean medicinal plants and their main compounds on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Phytomedicine*, 2003, 10(6/7):544–51.

Dabhi, A.S., Brahmbhatt K.J., Pandya T.P., Thorat P.B., Shah, M.C., 2008. Non Alcoholic Fatty Liver (NAFLD). Journal, Indian Academy of Clinical Medicine. Volume : 9, No. 1. January-March. Available from : medind.nic.in/jac/t08/i1/jact08i1p36.pdf. Accessed October 28th, 2010.

Day L, Shikuma C, Gerschenson M. Mithochondrion 4 (2004) 95-109.

Devasagayam TPA., Tilak JC., Bloor KK., Sane K.S., Ghaskadbi S.S., Lele RD, 2004, *Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects*, JAPI, edisi 52, p. 794-804.

Dewanti. 2006. *Pangan Fungsional*. Diktat Jurusan THP-FTP Universitas Brawijaya Malang, pp 35-42.

Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82;2002:47-95.

Durst Robert W. and Wrolstad Ronald E. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International.* 2005; 88(5): 1269.

Ercisli, S. 2005. Rose (*Rosa* spp.) Germplasm Resources of Turkey. *Genet Resour and crop Evolut* 52(2): 787-795.

Eroschenko, Victor. 2008. Atlas Histologi di Fiore. Edisi 11. Diterjemahkan oleh dr. Brahm U. Pendit. Jakarta : EGC. Hal. 331.

Fajariyah Susantin, Utami TE, dan Arisandi Y. Efek Pemberian Estrogen Sintetis (Diethylstilbestrol) terhadap Struktur Hepar dan Kadar SGOT dan SGPT

- pada Mencit (*Mus musculus*) Betina Strain Balb'C. *Jurnal ILMU DASAR*. 2010; 11(1): 76-82.
- Farooq A., Khan M.A., Ali A., and Ria A. *Diversity of Morphology and Oil Content of Rosa D Landraces and Related Rosa Species From Pak*. *Pak. J. Agri. Sci*, 2011; 48(3): 177-183.
- Fatmawati, Nur Khoma. Efek Proteksi Kombinasi Minyak Wijen dengan α -Tocopherol Terhadap Steatosis Melalui Penghambatan Stres Oksidatif Pada Tikus Hiperkolesterolemia. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 2006; 1(2): 60-67.
- Ferreira Eduardo Antonio *et al*. *Potent hepatoprotective effect in CCl4-induced hepatic injury in mice of phloracetophenone from Myrcia multiflora*. Federal University of Santa Catarina, Brazil; 2010.
- Flora, Swaran JS. *Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloids exposure*. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2(4): 191-206.
- Francis, F.J. 1999. *Analysis of Anthocyanins*. Academic Press. New York, pp 67.
- Garz'on, G.A. K.M. Riedi, and S.J. Schwartz. 2009. *Determination of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth)*. *J. Food Sci*. pp. 227-232.
- Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. UI press, Jakarta, pp 243-244.
- Gene DL, *et al*. Acute carbon tetrachloride feeding induces damage of large. *J. Med. G*, 1999, pp. 1289-301.

Ghany, Marc et al. 2005. *Approach to the Patient With Liver Disease*. In : Kasper et al, ed : Harrison's Principles of Internal Medicine 16th edition, McGraw-Hill, 2005.

Guterman I, et al. *Rose scent: Genomics approach to discovering novel floral fragrance-related genes*. *The Plant Cell*, 2002; 2325-2338.

Guyton AC, Hall JE. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Edisi 11. Jakarta: EGC, 2007. Hal. 902-908.

Halliwell B, Gatteridge J. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford, London : Claredon Press; 1999. pp.106, 229-230.

He, Fei et al. *Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II, Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution*. *Molecules*. 2012; Volume 17: 1483-1519.

Hembing W. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Pustaka Kartini, Jakarta, pp. 46-48.

Herani dan M. Rahardjo. 2005. *Tanaman berkhasiat antioksidan*. Penebar Swadaya. Jakarta. 99p.

Inoue M. *Protective mechanisms against reactive oxygen species*. In: Arias IM *The liver biology and pathobiology* Lippincott Williams and Wilkins 4th-ed. Philadelphia. 2001: pp. 281-290.

Iwashina T. *J Plant Res*. 2000;113:287.

Jing Pu. *Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemopreventive activity and structure/function relationships*. PhD thesis, 2006; The Ohio State University, U.S.A. pp. 5-90.

Junqueira, Luiz Carlosa. 2007. *Basic Histology : Text and Atlas*. Edisi 10.

Diterjemahkan oleh Jan Tambayong, Frans Dany. Jakarta : EGC. Hal. 318-323.

Kader F, Irmouli M, Nicolas JP, Metche M. J Food Sci. 2002; 67: 910.

Kataoka Takahiro, Nishiyama Yuichi, Yamato Keiko, Teraoka Junichi, Morii Yuji,

Sakoda Akihiro, Ishimori Yuu, Taguchi Takehito, and Yamaoka Kiyonori.

Comparative study on the inhibitory effects of antioxidant vitamins and radon on carbon tetrachloride-induced hepatopathy. Journal of Radiation Research. 2012; Volume 53. pp 830-839.

Katzung BG. Farmakologi dasar dan klinik 1. Edisi 1. Jakarta : Salemba Medika, 2001.

Katzung BG. *Basic Clinical Pharmacology*. Edisi 9. Jakarta : Salemba Medika, 2008. Hal. 73.

Kaul, K., S. Karthigeyan, D. Dhyani, N. Kaur, R.K. Sharma and P.S. Ahuja. 2009. Morphological and molecular analyses of *Rosa damascena* × *Rosa bourboniana* interspecific hybrids. *Sci. Hortic.*122:258-263.

Kaur N., *et al.* Molecular evaluation and micropropagation of field selected elites of *R. damascena*. *General and Applied Plant Physiology*, 2007; 33: 171–186.

Ke Cui, Xiaoling Luo, Keyi Xu, Ven Murthy MR, Progress in neuropsychopharmacology and biological psychiatry, 2004, 28 (5), 771-799.

Khalaf, Abdel Azeem A et al. *Comparative Study on The Protective Effect of Some Antioxidants Against CCl₄ Hepatotoxicity In Rats*. Egyptian Journal of Natural Toxins. 2009; Vol. 6(1): 59-82.

Khanal RC, Howard LR, Prior R. *Effect of heating on the stability of grape and blueberry pomace procyanidins and total anthocyanins*. Food Research International. 2010; edisi 43: 1464-1469.

Kim Hyeonjin et al. *Induced Hepatic Fibrosis in Rats: Hepatic Steatosis, Macromolecule Content, Perfusion Parameters, and Their Correlations—Preliminary MR Imaging in Rats*. Radiology. 2008; 247(3): 696-705.

Kiroa A, Ozkan M, Cemeroglu B. *Food Chem*. 2007;101:212.

Kumar Shiv. *Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System*. Advances in Applied Science Research. 2011; 2(1): 129-135.

Lebaschi, Mohammad Hosein. *Yield and Quality of Damask Rose (Rosa damascena Mill.) Genotypes under Irrigated Conditions*. Annals of Biological Research. 2012; 3(5): 2148-2152.

Lestari D. *Efek protektif dari lesitin terhadap hepatotoksisitas akibat induksi karbon tetraklorida pada tikus putih (Rattus norvegicus)*.

<http://adln.lib.unair.ac.id/go.php?id=gdlhub-gdl-s2-2006-dewilestar-4944>.

Diakses tanggal 28 September 2011.

Lu, Frank C. *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko*. Edisi kedua. Diterjemahkan oleh Nugroho, Edi. Jakarta : Universitas Indonesia; 1995. Hal. 211-215.

Lin-Hua Wu *et al.* 2010. Protective Effect of Anthocyanins Extract from Blueberry on TNBS-Induced IBD Model of Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2011, Article ID 525462.

Machmud, Rizanda. 2001. Faktor-faktor risiko dan kontribusi faktor risiko pada kejadian perlemakan hati di Kelurahan Abadi Jaya Kecamatan Sukmajaya Depok Jawa Barat 2001: analisis data sekunder. Tesis. Universitas Indonesia. Jakarta.

Makiyah SNN, Tasminatun S. Uji toksisitas subkronis ekstrak etanolik biji srikaya (*Annona squamosa* L) sebagai repelan. *Mutiara Medika* 2006 Januari; 6 (1): 9-17.

Mansur. 2008. Toksikologi dan distribusi agent toksik. <http://library.usu.ac.id/download/fk/kedokteran-mansyur2.pdf>. Diakses tanggal 20 Oktober 2011.

Markakis, P., 1982. *Anthocyanins as Food Additive*. Di dalam Markakis, P. (ed). *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, New York.

Mitchell, R. N., Kumar, V., Abbas, A. K., & Fausto, N. 2008. Adaptasi Sel, Jejas Sel, dan Kematian Sel. Dalam: Buku Saku Dasar Patologis Penyakit. EGC, Jakarta. 9 hal.

Mukazayire, Marie-Jeanne *et al.* *Evaluation of The Hepatotoxic and Hepatoprotective Effect of Rwandes Herbal Drugs on In Vivo (Guinea Pigs Barbiturate-Induced Sleeping Time and In Vitro (Rat Precision-Cut Liver Slices, PCLS) Models*. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2010; Vol. 62: 289-299.

Murray, R.K., D.K. Granner, P.A. Mayes, and V.W. Rodwell. 2009. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal.135-639.

Musthofa, Z. 2008. *Pembuatan Tablet Effervescent dari Ekstrak Mawar Merah (rosa sp.): Kajian Varietas Bunga, Jenis Pelarut dan Jenis Gula*. Skripsi. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan UMM. Malang.

Myers C.E. 2006. *Memory Loss and the Brain*. (Online) <http://www.memorylossonline.com/glossary/freeradical.html>. Diakses tanggal 20 Agustus 2011.

Navarro, Victor J and Senior, John R. *Drug-Related Hepatotoxicity*. N Engl J Med. 2007; 354: 731-739.

Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. *Hepatology* 37 (2003) 1202-1219.

Nikbakht A, Kafi M, Mirmasoudi M, Babalar M. Micropropagation of Damask rose (*Rosa damascena* Mill.) cvs Azaran and Ghamsar. *International J of Agriculture and Biology*. 2004. 2005; 7(4):535-538.

Nurman A dan Huang A. Perlemakan hati non alkoholik. *Universa Medicina*. 2007; 26(4): 205-215.

Olivia, Femi *dkk*. 2004. *Seluk Beluk Suplemen*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Hal. 47-52.

Ozturk F., *et al*. Protective effect of apricot (*Prunus armeniaca* L.) on hepatic steatosis and damage induced by carbon tetrachloride in Wistar rats. *Br J Nutr*. 2009 Dec; 102(12): 1767-1775.

Pan Xiaoyue, Hussain F.N., Iqbal J., Feuerman M., and Hussain M.M. Inhibiting Proteasomal Degradation of Microsomal Triglyceride Transfer Protein Prevents CCl₄ – induced Steatosis. *JBC Papers*, 2007; 282(23): 17078-17089.

Panjaitan, RGP, EkowatiHandharyani, Chairul, Masriani, ZulfaZakiah, Wasmen Manalu6 *MAKARA, KESEHATAN, VOL. 11, NO. 1, JUNI 2007: 11-16.*

Pettinelli P, Obregón AM, Videla LA. *Molecular mechanisms of steatosis in nonalcoholic fatty liver disease.* *Nutr Hosp.* 2011; 26(3): 441-450.

Pham-Huy Lien Ai, He Hua, Pham-Huy Chuong. *Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health.* *International Journal of Biomedical Science.* 2008; 4(2): 89-96.

Prakash T et al. *Hepatoprotective Activity of Leaves of Rhododendron. Arboreum in CCl₄-Induced Hepatotoxicity in Rats.* *Journal of Medicinal Plants Research.* 2008; 2(11): 315-320.

Proctor PH, Reynolds ES. Free radicals and disease in man. *Physiol Chem Phys Med.* 16;1984:175-95.

Pulungan, M.Hindun., Suprayogi dan Beni Yudha. 2004. *Membuat Effervescent Tanaman Obat.* Trubus Agrisarana. Surabaya.

Putri, Widya Nugroho. 2009. *Aktivitas Spesifik Katalase Jaringan Hati Tikus Yang Diinduksi Hipoksia Hipobarik Akut Berulang.* Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

Qin Chuan-guang, Li Yang, Niu Weining, Ding Yan, Shang Xiaoya, and Xu Chunlan. *Composition Analysis and Structural Identification of*

- Anthocyanins in Fruit of Waxberry. *Czech J. Food Sci.* 2011; 29(2): 171-180.
- Qusti Safaa Y, Abo-khatwa AN, and Lahwa MAB. *Screening of Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Food Items Cited In The Holly Quran.* *EJBS.* 2010; 2(1). pp. 40-51.
- Rahayu. NTE.2005.UJI Sari Ubi Wortel(Daucus Carota L) Terhadap Kadar SGOT dan SGPT pada Mencit Jantan (Mus Musculus) yang Diinduksi Dengan CCL₄. Skripsi Jurusan Biologi.FKIP-UMM.
- Rahman, Khalid. *Studies on Free Radicals, Antioxidants, and Co-factors.* School of Biomolecular Sciences, Liverpool John Moores University, Liverpool, England, UK. 2007; 2(2): 219-236.
- Rajan AV et al. Hepatoprotective Effects of Cassia tora on CCl₄ Induced Liver Damage in Albino Rats. *Indian Journal of Science and Technology.* 2009; 2(3): 41-44.
- Reda, I. 2001. *The Effect Of sports Training with All of Environment High & Low Pollution on The Free Radicals Level and The Efficiency Of The Physical Work at The Football Players.* PhD, Dissertation. Faucal Physic Educ, El-Menia Univ.
- Reyes LF, Cisneros-Zevallos L. *Food Chem.* 2007;100: 885
- Robbins, S.L., Kumar, V., Cotran, R.S. 2003. *Robbins Basic Pathology 7th ed.* Terjemahan oleh Awal Prasetyo et al. 2007. Jakarta: EGC.
- Rukmana, R., 1995. *Mawar. Seri Bunga Potong.* Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 65-70.

Saati, E.S., Sukardi, Zaenab S. 2011. Formulasi Tablet *Effervescent* Kaya Antioksidan dari Ekstrak Pigmen Tiga Varietas Bunga Mawar Merah. Perolehan Dana Hibah Dikti 2011.

Saati, E. S., Mujiyanto, Susestyarini, R.E. 2007. *Optimalisasi Fungsi Ekstrak Pigmen Bunga Kana (Canna sp) sebagai Zat Pewarna dan Antioksidan Alami melalui Isolasi dan Karakterisasi*. Laporan Fundamental Research (Tahun I- II). DP3M-DIKTI DIKNAS, Jakarta, hal 34-40.

Saleh MA, Clark S, Woodard B, Sobogun SAD. *Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Essential Oils*. Ethnicity & Disease. 2010; Volume 20.

Sarjadi. 2003. *Patologi Umum*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang, pp. 56-60.

Sears, D. 2011. Fatty Liver,[online]. Available at www.emedicine.com. Accesed 2011 March 23.

Senapati S.K., Rout G.R. Study of culture conditions for improved micropropagation of hybrid rose. *Horticultural Science*, 2008; 35: pp. 27–34.

Sen Saikat and Chakraborty Raja. *The Role of Antioxidants in Human Health*. ACS Symposium Series. 2011; Vol. 1083. Chapter 1, pp. 1-37.

Setiati. 2003. Radikal Bebas, Antioksidan, dan Proses Menua. *Jurnal medika* Vol.6, hal 45-47.

Sherlock S et al.(2002).Hepatic Transplantation.In : Textbook of Disease of the liver and biliary system. Blackwell Publishing 11th edition. Page 657-675.

Simanjutak, K. Radikal bebas dari senyawa toksik Karbon tetraklorida (CCl₄).

Bina Widya. 2007; 18(01): 25-31.

Snell RS. 2006. *Anatomi. Klinik untuk Mahasiswa Kedokteran*. Ed. 6 .EGC.

Jakarta. pp. 103-105.

Soliman KM, Badeaa RI. Effect of oil extracted from some medicinal plants on

different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol.*. 2002; 40: pp. 1669-1675.

Staf Pengajar Bagian PA. *Kumpulan Kuliah Patologi*. Himawan, Sutrisno, dr.

(editor). Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1973.

Hal.230.

Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi. 1997.

Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty dan Pusat Antar Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

Suliantini NWS, Sadimantara GR, Wijayanto T, dan Muhidin. Pengujian Kadar

Antosianin Padi Gogo Beras Merah Hasil Koleksi Plasma Nutfah Sulawesi Tenggara. *Crop Agro*. 2011; 4(2). pp. 43-48.

Sylvia A..Prince, Lorraine M wilson. 2006. *Patofisiologi. Konseo Klinis*

Proses proses Penyakit Ed 6. EGC, Jakarta, pp. 473-474.

Syarif, Amir., Ascobat, Purwastyastuti *et al*. 2008. *Farmakologi dan Terapi*.

Jakarta : Balai Penerbit FK UI. Hal.8.

Tellingen, Christa van. 2003. *Organ Physiology From a Phenomenological Point*

of View, Louis Bolk Instituut, Driebergen, pp. 89-90.

Thadeus MS, Marwoto W, Wuyung PE, Jusman SWA, Siregar NC. Perubahan gambaran histopatologik hati, jantung dan aorta akibat pencekokan minyak jelantah pada mencit *Mus musculus* L dengan atau tanpa suplementasi vitamin C dan vitamin E. *Profesi Medika* 2005 Juli-Desember; 5 (2): pp. 44-56.

Tirkey Naveen, Pilkhwal Sangeeta, Kuhad Anurag, and Chopra Kanwaljid. *Hesperidin, A Citrus Bioflavonoid, Decreases The Oxidative Stress Produced By Carbon Tetrachloride in Rat Liver and Kidney.* *BMC Pharmacology.* 2005; 5(2): pp. 1471-2210.

Trihatmowijoyo, B.M., Nusi, A.I. 2009. Fatty liver dan transplantasi liver. Available from : www.scribd.com/doc/38683046/final-FT-1. Accessed: October 15th, 2010.

Uma M.M, Rao P.G.M. Antihepatotoxic effects of Cotton seed oil in Rats *Ind J Pharmaco* 37:180.

Valko M, et al. 2006. *Free radical, metal and antioxidant in oxidative stress induced cancer,* *J.Chem-Biol,* Rusia, edisi 160, pp. 1-40.

Valko M, et al. 2007. *Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.* *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,* edisi 39, pp. 44-84.

Vertuani, et al. *The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overview.* *Current Pharmaceutical Design,* 2004; 10 (14): pp. 1677–1694.

Vinokur et at. 2006. Rose petal tea as an antioxidant rich Beverage: cultivar effects. *Journal of food science,* 71(1): pp. 42-47.

- Vries, DPD, LAM Dubois. 2004. Early selection in hybrid Tea-rose seedlings for cut stem length. *Euphyt* 26(3) : pp. 761-767
- Wardatul, N. 2008. Skripsi: Uji Keamanan Konsumsi Ekstrak Bunga Mawar Merah (*Rosa damascena* Mill.) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Dengan Metode LD₅₀. FP UMM.
- Weber LWD, Bull M, Stamsfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkans: carbon tetrachloride as a toxicological model. *Crit Rev Toxicol* 2003; 33: pp. 105–36.
- Wesche-Ebeling P, Montgomery MW. *J Food Sci.* 1990; 55: pp. 731.
- Wijayanti. 2008. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol 70% Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight] Walp.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄). Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Wrolstad RE. *J Food Sci.* 2004;69:C419
- Yamamoto. Y, Nagata, Katsurada. 1996. Charger In Rat Plasma Free Fatty Acid Composition Underoxidative Stress Induced By Increase Of Palmitoleic Acid In Redox Report Communication In Free Radical Research.Vol 2. Churchill Livingstone, Tokyo, Japan.
- Yan Hui, Gui Zhongzheng, and Wang Bochu. A Study on Effect of Glutathione S-Transferase From Silkworm on CCl₄-Induced Mouse Liver Injury. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2011; 24(1): pp. 1-5.
- Zimmerman HJ. *Hepatotoxicity*. USA : Appleton Century Crofts; 1978.p.203-208.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Lestari Fajerin

NIM : 0910710119

Program Studi : Program Studi Kedokteran Umum

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya bersama dengan teman-teman satu tim dalam program PKMP PIMNAS DIKTI 2012, dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Desember 2012

Yang membuat pernyataan,

Sri Lestari Fajerin
NIM 0910710119

LAMPIRAN

Lampiran 1. Output Analisis Data Menggunakan SPSS 16

Descriptives

Kelompok		Statistic	Std. Error		
Σsteatosis	Kontrol (-)	Mean	3.27	.720	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.72	
			Upper Bound	4.81	
		5% Trimmed Mean	3.19		
		Median	3.00		
		Variance	7.781		
		Std. Deviation	2.789		
		Minimum	0		
		Maximum	8		
		Range	8		
		Interquartile Range	6		
		Skewness	.207	.580	
		Kurtosis	-1.386	1.121	
	Kontrol (+)	Mean	412.67	18.041	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	373.97	
			Upper Bound	451.36	
		5% Trimmed Mean	411.96		
		Median	407.00		
		Variance	4.882E3		
		Std. Deviation	69.873		
		Minimum	320		
		Maximum	518		
		Range	198		



	Interquartile Range		137	
	Skewness		.189	.580
	Kurtosis		-1.404	1.121
Perlakuan 1	Mean		299.07	9.289
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	279.14	
		Upper Bound	318.99	
	5% Trimmed Mean		298.41	
	Median		300.00	
	Variance		1.294E3	
	Std. Deviation		35.975	
	Minimum		242	
	Maximum		368	
	Range		126	
	Interquartile Range		40	
	Skewness		.200	.580
	Kurtosis		-.348	1.121
	Perlakuan 2	Mean		136.47
95% Confidence Interval for Mean		Lower Bound	120.74	
		Upper Bound	152.19	
5% Trimmed Mean			137.07	
Median			142.00	
Variance			806.410	
Std. Deviation			28.397	
Minimum			80	
Maximum			182	
Range			102	
Interquartile Range			36	
Skewness		-.374	.580	

	Kurtosis	.087	1.121
Perlakuan 3	Mean	85.40	5.773
	95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound	73.02	
	Upper Bound	97.78	
	5% Trimmed Mean	85.72	
	Median	89.00	
	Variance	499.971	
	Std. Deviation	22.360	
	Minimum	40	
	Maximum	125	
	Range	85	
	Interquartile Range	25	
	Skewness	-.241	.580
Kurtosis	.150	1.121	

Tests of Normality

Kelompok	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Steatosis Hepatosit	Kontrol (-)	.146	15	.200*	.909	15	.130
	Kontrol (+)	.173	15	.200*	.915	15	.163
	Perlakuan 1	.098	15	.200*	.978	15	.952
	Perlakuan 2	.143	15	.200*	.961	15	.704
	Perlakuan 3	.105	15	.200*	.986	15	.996

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Test of Homogeneity of Variances

trn_steatosis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.585	4	70	.188

ANOVA

trn_steatosis	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3214.451	4	803.613	482.890	.000
Within Groups	116.492	70	1.664		
Total	3330.943	74			

Multiple Comparisons

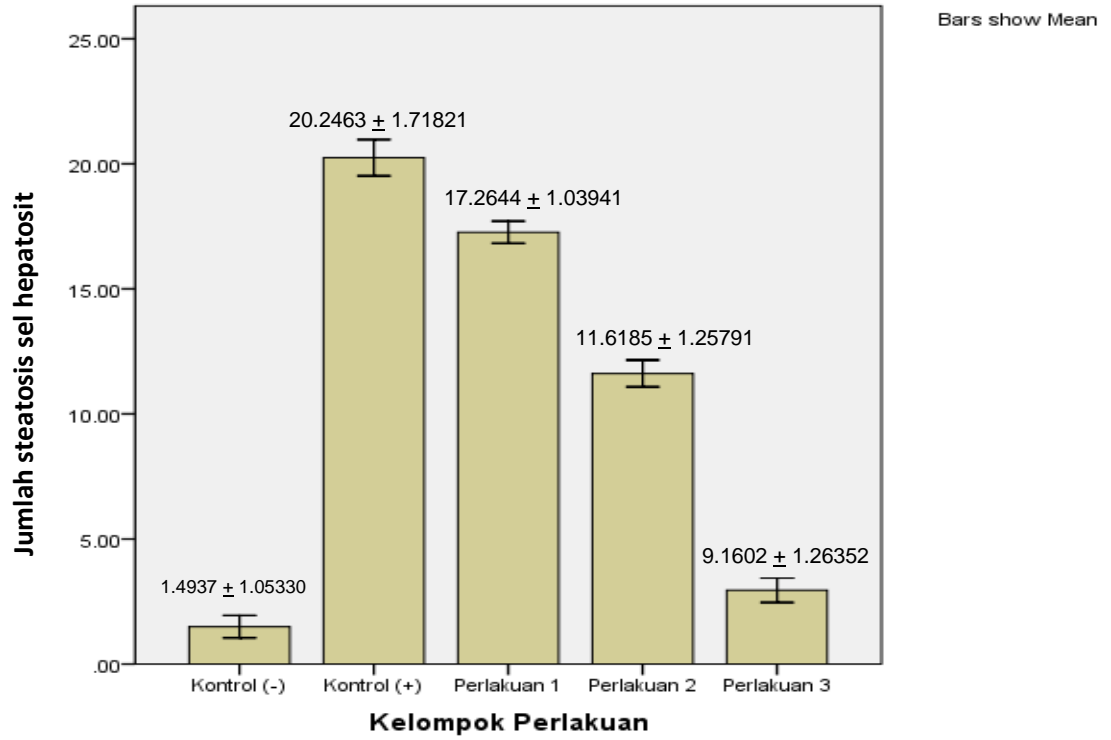
Dependent Variable:trn_steatosis

	(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey y HSD	Kontrol (-)	Kontrol (+)	-18.75255*	.47105	.000	-20.0716	-17.4335
		Perlakuan 1	-15.77065*	.47105	.000	-17.0897	-14.4516
		Perlakuan 2	-10.12479*	.47105	.000	-11.4438	-8.8058
		Perlakuan 3	-7.66652*	.47105	.000	-8.9855	-6.3475
	Kontrol (+)	Kontrol (-)	18.75255*	.47105	.000	17.4335	20.0716
		Perlakuan 1	2.98190*	.47105	.000	1.6629	4.3009
		Perlakuan 2	8.62775*	.47105	.000	7.3087	9.9468
		Perlakuan 3	11.08603*	.47105	.000	9.7670	12.4050
	Perlakuan 1	Kontrol (-)	15.77065*	.47105	.000	14.4516	17.0897
		Kontrol (+)	-2.98190*	.47105	.000	-4.3009	-1.6629
		Perlakuan 2	5.64585*	.47105	.000	4.3268	6.9649
		Perlakuan 3	8.10413*	.47105	.000	6.7851	9.4231
Perlakuan 2	Kontrol (-)	10.12479*	.47105	.000	8.8058	11.4438	
	Kontrol (+)	-8.62775*	.47105	.000	-9.9468	-7.3087	
	Perlakuan 1	-5.64585*	.47105	.000	-6.9649	-4.3268	
	Perlakuan 3	2.45827*	.47105	.000	1.1393	3.7773	
Perlakuan 3	Kontrol (-)	7.66652*	.47105	.000	6.3475	8.9855	

	Kontrol (+)	-11.08603 [*]	.47105	.000	-12.4050	-9.7670
	Perlakuan 1	-8.10413 [*]	.47105	.000	-9.4231	-6.7851
	Perlakuan 2	-2.45827 [*]	.47105	.000	-3.7773	-1.1393
LSD	Kontrol (-)					
	Kontrol (+)	-18.75255 [*]	.47105	.000	-19.6920	-17.8131
	Perlakuan 1	-15.77065 [*]	.47105	.000	-16.7101	-14.8312
	Perlakuan 2	-10.12479 [*]	.47105	.000	-11.0643	-9.1853
	Perlakuan 3	-7.66652 [*]	.47105	.000	-8.6060	-6.7270
	Kontrol (+)					
	Kontrol (-)	18.75255 [*]	.47105	.000	17.8131	19.6920
	Perlakuan 1	2.98190 [*]	.47105	.000	2.0424	3.9214
	Perlakuan 2	8.62775 [*]	.47105	.000	7.6883	9.5672
	Perlakuan 3	11.08603 [*]	.47105	.000	10.1465	12.0255
	Perlakuan 1					
	Kontrol (-)	15.77065 [*]	.47105	.000	14.8312	16.7101
	Kontrol (+)	-2.98190 [*]	.47105	.000	-3.9214	-2.0424
	Perlakuan 2	5.64585 [*]	.47105	.000	4.7064	6.5853
	Perlakuan 3	8.10413 [*]	.47105	.000	7.1646	9.0436
	Perlakuan 2					
	Kontrol (-)	10.12479 [*]	.47105	.000	9.1853	11.0643
	Kontrol (+)	-8.62775 [*]	.47105	.000	-9.5672	-7.6883
	Perlakuan 1	-5.64585 [*]	.47105	.000	-6.5853	-4.7064
	Perlakuan 3	2.45827 [*]	.47105	.000	1.5188	3.3978
	Perlakuan 3					
	Kontrol (-)	7.66652 [*]	.47105	.000	6.7270	8.6060
	Kontrol (+)	-11.08603 [*]	.47105	.000	-12.0255	-10.1465
	Perlakuan 1	-8.10413 [*]	.47105	.000	-9.0436	-7.1646
	Perlakuan 2	-2.45827 [*]	.47105	.000	-3.3978	-1.5188

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

Interactive Graph



Lampiran 2. Dokumentasi Kegiatan

1. Pembuatan Ekstrak Mawar Merah dalam Bentuk Tablet *Effervescent*



Mawar merah



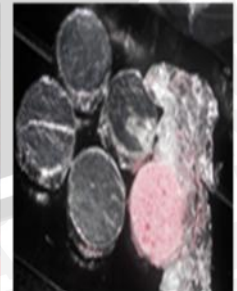
Penyaringan ekstrak mawar



Pembuatan bubuk mawar oleh mesin spray dryer



Pencetakan tablet *effervescent*



Pengemasan menggunakan aluminium foil

2. Pengelompokan Hewan Coba dan Penyuntikan CCl₄



Pengelompokan tikus menjadi 5 kelompok perlakuan



Persiapan penyondean tablet dan induksi CCl₄



Induksi CCl₄ subkutan

3. Pembedahan dan Pengambilan Organ



Persiapan pembedahan



Euthanasia tikus dengan menggunakan ether



Penyimpanan organ hati dalam botol berisi formalin 10%

4. Proses Pewarnaan HE dan Pengamatan Mikroskopis Hati



Pewarnaan HE



Paraffin block



Preparat hati



Pengamatan steatosis dengan mikroskop