

1. GARLIC

2. ANTIOKSIDAN IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

3. RATS

KIK

TKD 24/01

Hid

S

TESIS

**SIFAT ANTIOKSIDAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum*) YANG BERPERAN SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley*) YANG DIINDUKSI DENGAN  $CCl_4$**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



NOVE HIDAJATI

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2001**

**SIFAT ANTIOKSIDAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum*) YANG BERPERAN SEBAGAI HEPATOPROTEKTOR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley*) YANG DIINDUKSI DENGAN CCl<sub>4</sub>**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS**

**TESIS**

Untuk memperoleh Gelar Magister  
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

**NOVE HIDAJATI  
NIM 099813030/M**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA**

**Tanggal 5 Juni 2001**

**Lembar pengesahan**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI  
TANGGAL 5 Juni 2001**

**Oleh :**

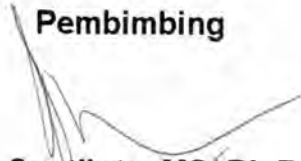
**Pembimbing Ketua,**



**Prof. dr. Purnomo Suryohudoyo**

-----  
**NIP. 130 122 377**

**Pembimbing**



**dr. Soetjipto, MS, Ph.D**

-----  
**NIP. 130 687 606**

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
Program Pascasarjana Universitas Airlangga**



**dr. Soetjipto, MS, Ph.D**

-----  
**NIP. 130 687 606**

## SUSUNAN PANITIA PENGUJI

Ketua : Prof. dr. Sri Utari PS

Anggota : 1. Prof. dr. Purnomo Suryohudoyo  
2. dr. Soetjipto, MS, Ph.D  
3. Prof. Dr. H. Sarmanu, Drh, MS  
4. Dr. dr. Harianto Notopuro, MS

## UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan hidayatnya, sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Terima kasih tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Prof. dr. Purnomo Suryohudoyo, pembimbing ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran yang sangat berguna dalam penyusunan mulai proposal sampai selesainya tesis ini.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya juga saya sampaikan kepada dr. Soetjipto, MS., Ph.D, pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran yang sangat berguna mulai proposal sampai selesainya tesis ini.

Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Pemerintah Republik Indonesia cq. Menteri Pendidikan Nasional melalui Tim manajemen Program Doktor yang memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankan saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof. H. Soedarto, dr., DTMH, Ph.D atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Mantan Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof.Dr.M.Soedjiono, dr yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk mengikuti pendidikan program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof.Dr.H. Muhammad Amin, dr atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Ketua dan mantan ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga, dr. Soetjipto, MS., Ph.D dan Prof. Dr. Joeliati Hood A, dr., MS., DSPA., FIAC yang telah memberikan kesempatan pada saya untuk menyelesaikan program magister.

Ketua minat studi Ilmu Biokimia, Prof. dr. Sri Utari P yang telah banyak membantu sehingga saya dapat menyelesaikan program magister.

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Dr. Ismudiono, MS., Drh atas kesempatan yang diberikan pada saya untuk mengikuti pendidikan program magister.

Kepala Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Kepala Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Laboratorium Kesehatan Daerah Jawa Timur dan Drh. Ajik Azmijah, SU atas fasilitas, sarana laboratorium dan bantuan yang diberikan selama penelitian berlangsung.

Prof.Dr.H. Sarmanu, MS., Drh yang membantu memberikan bimbingan metodologi penelitian dan analisis statistik mulai dari proposal sampai penulisan tesis.

Kedua orang tua yang telah membimbing dan mendidik saya mulai kecil hingga sekarang

Suami tercinta Anwar Ma'ruf, M.Kes., Drh dan kedua putraku tersayang Amal Arifi Hidayat dan Hadyan Zulfahmi Hawali Hidayat atas doa, dorongan moril, materiil, kesabaran, pengertian keikhlasan dan pengorbanan yang diberikan mulai awal pendidikan program pra pascasarjana, program magister hingga selesainya tesis ini.

Akhirnya dengan penuh penulis hanya dapat memohonkan doa kepada Allah SWT, semoga melimpahkan segala rahmat dan hidayatnya kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan pendidikan program magister ini, Amien.

Penulis

## RINGKASAN

Bawang putih telah digunakan di seluruh dunia sebagai obat tradisional untuk mengobati beberapa macam penyakit dan diketahui dapat menetralkan radikal bebas (oksidan), mempunyai kemampuan sebagai peredam bahan yang bersifat oksidan pada sel tubuh.

Sari bawang putih dapat melindungi membran biologis mikrosom hati tikus dari peroksidasi lipid yang dilakukan secara invitro. Pemberian sari bawang putih dengan dosis 10 g/kg berat badan yang diberikan selama 8 hari berturut-turut dapat melindungi hati dari keracunan karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ).

Ketidakseimbangan aktivitas oksidan, radikal bebas dan antioksidan dapat mendasari beberapa keadaan patologis. Dalam usaha untuk mengurangi keadaan patologis yang disebabkan ketidakseimbangan oksidan, radikal bebas dan antioksidan perlu diketahui bagaimana antioksidan itu dapat mencapai keadaan yang berimbang dengan oksidan dan radikal bebas.

Induksi peroksidasi lipid yang akan menghasilkan kerusakan hati dapat menggunakan  $\text{CCl}_4$  sebagai bahan hepatotoksik. Peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel akan menghasilkan produk yang stabil yaitu malondialdehida (MDA). Pengukuran kadar MDA dapat menggunakan *thiobarbituric acid test (TBA test)*. Adanya kerusakan hati dapat dilihat dari



kadar glutamate transaminase serum yang semakin meningkat dan pemeriksaan histopatologi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui peran bawang putih sebagai antioksidan dan hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$ .

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris dengan 3 perlakuan (sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan, 5 g/kg berat badan dan 10 g/kg berat badan) yang diberikan tiap hari selama 8 hari. Untuk pembandingan digunakan 2 kontrol yaitu kontrol negatif dan positif. Rancangan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap, selanjutnya data yang diperoleh dari pemeriksaan MDA dan GPT serum dianalisis dengan *analysis of variance (Anova)*, yang kemudian dilanjutkan dengan uji *least significant difference (LSD)*. Pemeriksaan histopatologi diuji dengan statistik nonparametrik (Kruskal Wallis) yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bawang putih pada dosis 10 g/kg berat badan dapat mencegah kerusakan hati yang ditandai pencegahan terjadinya nekrosis sentrilobuler, pencegahan peningkatan kadar MDA dan GPT serum pada tikus putih yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  dosis 0,55g/kg berat badan. Hal ini menunjukkan bahwa bawang putih dengan dosis 10 g/kg berat badan mempunyai efek antioksidan dan hepatoprotektor.

## ABSTRACT

This study was aimed to identify the role of garlic as antioxidant and hepatoprotector on CCl<sub>4</sub>-induced rat.

Experimental laboratory method was used in this study. Three different treatments (garlic extract of 2.5 g/kg bw, 5 g/kg bw, and 10 g/kg bw) were given everyday for 8 days. Two control, negative and positive, were used for comparison. MDA (malondialdehyde) examination was performed using TBA (thiobarbituric acid) test, serum GPT (glutamate pyruvate transaminase) , and histopathological examination.

Results showed that garlic administration of 10 g/kg bw could prevent the increase of MDA concentration, the occurrence of centrilobular necrosis, and the increase of GPT concentration. It indicated that garlic dose of 10 g/kg bw had antioxidant and hepatoprotective activity on CCl<sub>4</sub>-induced rat.

**Keywords :** *garlic, antioxidant, hepatoprotective, MDA, GPT, histopathological*

## DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi.....	i
Daftar Tabel.....	v
Daftar Gambar.....	vi
Daftar Lampiran .....	viii
Bab 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
Bab 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Oksidan, Radikal Bebas Dan Antioksidan.....	5
2.2 Bawang Putih.....	11
2.2.1 Tinjauan Umum.....	11
2.2.2 Komposisi Umbi Bawang Putih .....	12
2.2.3 Efek Biologis Bawang Putih.....	15

4.4.4 Bahan Kimia.....	38
4.4.5 Bahan-Bahan Lain.....	39
4.5 Instrumen Penelitian.....	39
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	39
4.7 Prosedur Penelitian.....	40
4.7.1 Persiapan Penelitian.....	40
4.7.2 Cara Kerja dan Pemeriksaan .....	41
4.7.2.1 Pengambilan dan Pemeriksaan Sampel Darah.....	42
4.7.2.2 Pembuatan Preparat Histologi.....	43
4.8 Analisis Data.....	45
 BAB 5. ANALISIS HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Penelitian.....	47
5.1.1 Kadar MDA Serum.....	47
5.1.2 Kadar GPT Serum.....	48
5.1.3 Perubahan Histopatologi Sel Hati.....	48
5.2 Analisis Hasil Penelitian.....	50
5.2.1 Kadar MDA Serum.....	50
5.2.2 Kadar GPT Serum.....	51

2.3.1 Kerusakan Hati.. .....	18
2.3.2 Nekrosis.....	25
2.3.3 Biotransformasi Bahan Toksik.....	26
2.4 <i>Glutamate Pyruvate Transaminase</i> .....	27
2.5 Kontrol Ekspresi Gen.....	28
<b>Bab 3 KERANGKA KONSEPTUAL</b>	
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	31
3.2 Hipotesis Penelitian.....	34
<b>Bab 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Rancangan Penelitian.....	35
4.2 Sampel dan Besar Sampel.....	35
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	36
4.3.1 Variabel Penelitian.....	36
4.3.2 Definisi Operasional.....	36
4.4 Bahan Penelitian.....	38
4.4.1 Hewan Percobaan.....	38
4.4.2 Bahan Pakan dan Minum.....	38
4.4.3 Bahan Uji.....	38

5.2.3 Perubahan Histopatologi Sel Hati.....	54
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b>	
6.1 Kadar MDA Serum.....	57
6.2 Kadar GPT Serum.....	58
6.3 Histopatologi Sel Hati.....	60
6.4 Kadar Bawang Putih Yang Masih Mempunyai Sifat Sebagai Antioksidan.....	61
<b>BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
7.1 Kesimpulan.....	64
7.2 Saran.....	64
DAFTAR PUSTAKA.....	65
LAMPIRAN.....	69

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Kadar MDA serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $\text{CCl}_4$ yang diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 534 .....	47
Tabel 5.2 Kadar GPT serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan $\text{CCl}_4$ dan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 339 nm.....	48
Tabel 5.3 Perubahan sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $\text{CCl}_4$ .....	49
Tabel 5.4 Rata-rata kadar MDA serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $\text{CCl}_4$ .....	50
Tabel 5.5 Rata-rata kadar GPT serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $\text{CCl}_4$ .....	52
Tabel 5.6 <i>Rank</i> perubahan sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $\text{CCl}_4$ .....	54
Tabel 5.7 Rata-rata perubahan histopatologi sel hati tikus putih yang beri sari bawang putih dan diinduksi dengan $\text{CCl}_4$ .....	55

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Skema peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel dengan hasil akhir malondialdehida.....	8
Gambar 2.2 Reaksi MDA pada TBA Test untuk menghasilkan produk yang berwarna.....	9
Gambar 2.3 Rumus kimia <i>alliin</i> , <i>allicin</i> , <i>diallyl sulfide</i> , <i>diallyl disulfide</i> , <i>diallyl trisulfide</i> , <i>S-allyl-cysteine</i> dan <i>S-allylmercaptocysteine</i> .....	14
Gambar 2.4 Mekanisme $CCl_4$ menyebabkan nekrosis dan perlemakan hati.....	21
Gambar 2.5 Proses hambatan $CCl_4$ pada metabolisme sel hati yang mengakibatkan terjadinya penurunan sintesa apoprotein dan akumulasi lemak pada sel hati.....	23
Gambar 2.6 Urutan terjadinya degenerasi melemak dan nekrosis yang diinduksi dengan $CCl_4$ .....	24
Gambar 2.7 Tanaman pengontrolan ekspresi gen organisme eukariotik.....	29
Gambar 5.1 Grafik rata-rata kadar MDA serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $CCl_4$ .....	51
Gambar 5.2 Grafik rata-rata kadar GPT serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan $CCl_4$ .....	53



	Halaman
Gambar 5.3 Grafik rata-rata perubahan histopatologi sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan CCl <sub>4</sub> .....	56
Gambar 5.4 <i>Cloudy swelling</i> pada daerah sentrilobuler hati tikus putih (100 x) .....	78
Gambar 5.5 Degenerasi sentrilobuler dan nekrosis fokal pada daerah sentrilobuler hati tikus putih (100 x)...	78
Gambar 5.6 Degenerasi masif dan nekrosis masif pada daerah sentrilobuler hati tikus putih (100 x).....	79

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan pembuatan sari bawang putih.....	69
Lampiran 2. Bagan prosedur penelitian.....	70
Lampiran 3. Perhitungan kadar MDA serum darah.....	71
Lampiran 4. Perubahan sel hati tikus yang dievaluasi dengan kriteria skor empiris.....	73
Lampiran 5. Analisis statistik kadar MDA serum darah tikus putih Yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan CCl <sub>4</sub> .....	80
Lampiran 6. Analisis statistik kadar GPT serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan CCl <sub>4</sub> .....	81
Lampiran 7. Analisis statistik perubahan histopatologi sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan CCl <sub>4</sub> .....	82

## BAB I PENDAHULUAN



### 1.1 Latar Belakang Masalah

Bawang putih telah digunakan di seluruh dunia sebagai obat tradisional untuk mengobati beberapa macam penyakit (Nagae *et al.*, 1993) dan diketahui dapat menetralkan radikal bebas (oksidan), mempunyai kemampuan sebagai pemusnah bahan yang bersifat oksidan pada sel tubuh (Saynor, 1995).

Ekstrak bawang putih yang telah tua yang mengandung *diallyl polysulfide* dapat melindungi membran biologis mikrosom hati tikus dari peroksidasi lipid yang dilakukan secara invitro (Horie, 1991). Pemberian sari bawang putih dengan dosis 10 g/kg berat badan yang diberikan selama 8 hari berturut-turut dapat melindungi hati dari keracunan karbon tetraklorida (CCl<sub>4</sub>) yang ditandai dengan pencegahan peningkatan kadar *Glutamate pyruvate transaminase* (GPT) serum (Sadikin, dkk, 1995).

Ketidakseimbangan aktivitas oksidan, radikal bebas dan antioksidan dapat mendasari beberapa keadaan patologis. Antioksidan berfungsi sebagai peredam pada proses pembentukan radikal bebas, akan tetapi ada kalanya antioksidan sama dengan beberapa radikal yang ada pada proses fisiologis tubuh yang dapat menimbulkan kerusakan. Disamping bersifat sebagai peredam, radikal bebas ataupun antioksidan dapat bersifat sebagai prooksidan. Dalam usaha untuk mengurangi keadaan patologis yang disebabkan ketidakseimbangan oksidan, radikal bebas dan antioksidan perlu

diketahui bagaimana antioksidan itu dapat mencapai keadaan yang berimbang dengan oksidan dan radikal bebas, mengingat suatu antioksidan pada dosis tertentu dapat bersifat sebagai prooksidan (Bast *et al*, 1991).

Adanya kerusakan sel hati dapat dilihat dari aktifitas *GPT* serum dan enzim ini sensitif untuk menunjukkan kerusakan hati (White, 1976). Kadar *GPT* sangat meningkat dalam serum pada keracunan karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ) (Sadikin, dkk,1995).

Karbon tetraklorida dapat digunakan sebagai model kerusakan hati yang disebabkan oleh radikal bebas (Contran, *et al.*, 1989). Pada gambaran hati, karbon tetraklorida dapat menyebabkan nekrosis sentrilobuler (Vessey, 1990).

Malondialdehida merupakan produk yang stabil hasil dari peroksidasi lipid. Malondialdehida dapat bereaksi dengan *thiobarbituric acid* yang akan menghasilkan produk yang berwarna, sehingga pengukuran malondialdehida dapat menggunakan tes *thiobarbituric acid (TBA test)*(Rice-Evans *et al.*,1991)

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka peneliti menganggap perlu melakukan penelitian mengenai sifat antioksidan bawang putih yang berperan sebagai hepatoprotektor pada tikus putih yang diinduksi  $\text{CCl}_4$  dengan mengadakan pemeriksaan histopatologi sel hati, kadar MDA dan *GPT* serum.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas maka rumusan permasalahannya adalah sebagai berikut :

1. Apakah bawang putih dapat mencegah terjadinya kerusakan hati yang ditandai dengan pencegahan nekrosis sentrilobuler, pencegahan peningkatan kadar MDA dan GPT serum tikus putih yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  ?
2. Pada dosis berapakah bawang putih yang masih dapat mempunyai efek antioksidan dan hepatoprotektor ?

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui peran bawang putih sebagai antioksidan dan hepatoprotektor pada tikus putih yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$ .

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui apakah bawang putih dapat mencegah terjadinya kerusakan hati yang ditandai dengan pencegahan nekrosis sentrilobuler, pencegahan peningkatan MDA dan GPT serum setelah induksi dengan oksidan  $\text{CCl}_4$  .
2. Mengetahui dosis tertentu dari bawang putih yang dapat mempunyai efek sebagai antioksidan dan hepatoprotektor.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Melalui hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui peran bawang putih sebagai antioksidan dan hepatoprotektor dalam upaya memberi sumbangan ilmu pengetahuan tentang kegunaan obat tradisional.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Oksidan, Radikal Bebas Dan Antioksidan

Akhir-akhir ini perhatian dunia kedokteran terhadap oksidan makin meningkat. Perhatian ini disebabkan oleh timbulnya kesadaran bahwa oksidan dapat menimbulkan kerusakan sel, dan menjadi penyebab atau mendasari berbagai macam keadaan patologik.

Oksidan dapat mengganggu integritas sel karena dapat bereaksi dengan komponen-komponen sel yang penting untuk mempertahankan kehidupan sel, baik komponen struktural maupun komponen fungsional.

Oksidan yang dapat merusak sel berasal dari berbagai sumber yaitu :

1. Berasal dari tubuh sendiri, berupa senyawa-senyawa yang sebenarnya berasal dari proses biologik normal (fisiologis), namun oleh suatu sebab terdapat dalam jumlah berlebihan.
2. Berasal dari sel-sel yang berperan dalam proses peradangan
3. Berasal dari luar tubuh, misalnya : obat-obatan dan senyawa pencemar
4. Berasal dari akibat penyinaran (radiasi)

Dalam kepustakaan kedokteran pengertian oksidan dan radikal bebas sering dibaurkan, karena keduanya memiliki sifat-sifat yang mirip. Aktivitas kedua jenis senyawa ini sering menghasilkan akibat yang sama walaupun prosesnya berbeda.

Oksidan dalam pengertian ilmu kimia adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron.

Sebaliknya radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan.

Sifat radikal bebas yang mirip dengan oksidan terletak pada kecenderungannya untuk menarik elektron. Jadi sama halnya dengan oksidan, radikal bebas adalah penerima elektron. Itulah sebabnya maka dalam kepustakaan kedokteran, radikal bebas digolongkan dalam oksidan. Dikatakan radikal bebas adalah oksidan tetapi tidak setiap oksidan adalah radikal bebas (Suryohudoyo, 1995).

Radikal bebas lebih berbahaya dibanding dengan oksidan yang bukan radikal. Hal ini disebabkan oleh kedua sifat radikal bebas tersebut di atas, yaitu reaktivitasnya tinggi dan kecenderungannya untuk membentuk radikal baru, yang pada gilirannya bila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal bebas baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*). Reaksi rantai tersebut baru berhenti apabila radikal bebas tersebut dapat diredam (*quenched*).

Seluruh reaksi radikal bebas dapat dijabarkan menjadi tiga tahap yaitu tahap inisiasi, propagasi dan terminasi. Reaksi-reaksi yang menyangkut radikal hidroksil sebagai berikut :

1. Tahap inisiasi



2. Tahap propagasi







### 3. Tahap terminasi



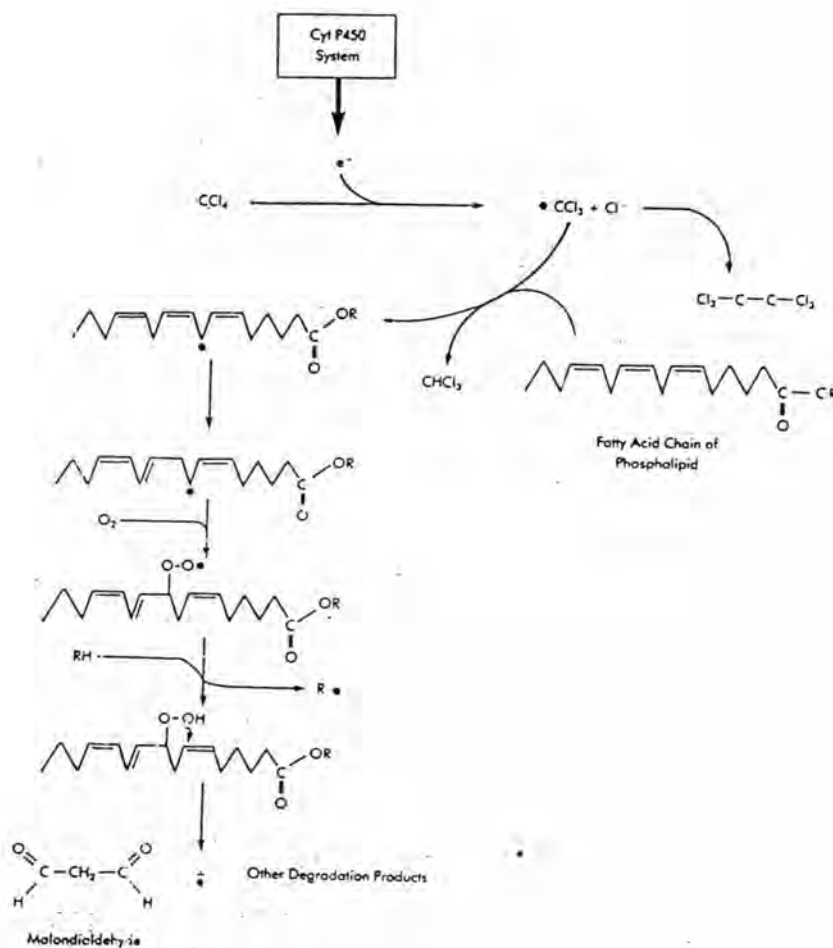
dst

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh. Asam-asam lemak tak jenuh ini (asam linoleat, linolenat dan arakidonat) sangat rawan terhadap serangan radikal bebas. Radikal bebas dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid. Akibat akhir dari reaksi rantai adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain aldehida-aldehida seperti malondialdehida, 9-hidroksi-nonenal serta berbagai hidrokarbon seperti etana dan pentana (Suryohudoyo, 1995).

Malondialdehida (MDA) kadang disebut malonaldialdehid, sebagian besar merupakan hasil dari peroksidasi *PUFA* (*polyunsaturated fatty acid*) yang mempunyai lebih dari dua ikatan ganda seperti asam linolenat, arakidonat dan dokosaheksanoat.

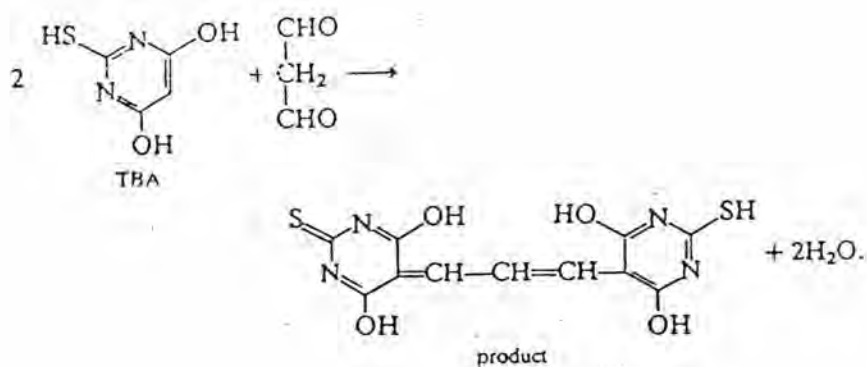
Diketahui bahwa *thiobarbituric acid test* (*TBA test*) adalah pemeriksaan umum dari peroksidasi lipid secara *in vitro* untuk mengukur MDA bebas. Malondialdehida merupakan produk yang stabil hasil dari peroksidasi lipid. Malondialdehida dapat bereaksi dengan *thiobarbituric acid* yang akan

menghasilkan produk yang berwarna, sehingga pengukuran malondialdehida dapat menggunakan *TBA test* (Rice-Evans *et al.*, 1991). Skema peroksidasi lipid yang terjadi pada membran dengan hasil akhirnya malondialdehida terlihat pada gambar 2.1.



**Gambar 2.1.** Skema peroksidasi lipid yang terjadi pada membran sel dengan hasil akhir malondialdehida (Sumber : Vessey, 1990)

Reaksi MDA pada *TBA test* untuk menghasilkan produk yang berwarna seperti gambar 2.2 di bawah ini.



**Gambar 2.2** Reaksi MDA pada *TBA test* untuk menghasilkan produk yang berwarna  
(Sumber : Halliwell dan Gutteridge, 1999)

Organisme aerobik dapat bertahan hidup karena alam menyediakan sarana untuk meredam dampak negatif oksidan, yaitu senyawa-senyawa antioksidan.

Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron (*electron donor*). Namun dalam arti biologis, pengertian antioksidan lebih luas, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein pengikat logam.

Radikal bebas dapat menyebabkan reaksi berantai, yang akan terus berlanjut sampai radikal bebas itu dihilangkan oleh reaksi dengan radikal bebas lain atau sistem anti oksidan tubuh. Cara radikal bebas bereaksi dengan senyawa lain adalah sebagai berikut (Wijaya, 1996) :

## 1. Penambahan



## 2. Donasi elektron



## 3. Penghilangan elektron



Hanya bila dua radikal bebas bertemu reaksi rantai ini dapat dihentikan



Dalam meredam dampak negatif oksidan diterapkan strategi dua lapis yaitu mencegah terhimpunnya senyawa-senyawa oksidan secara berlebihan dan mencegah reaksi rantai yang berkelanjutan. Berdasarkan dua mekanisme pencegah dampak negatif oksidan tersebut, antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu antioksidan pencegah dan antioksidan pemutus reaksi rantai (Suryohudoyo, 1995).

Antioksidan berfungsi sebagai penghambat terbentuknya radikal, akan tetapi adakalanya antioksidan bersifat sama dengan beberapa radikal yang ada pada proses fisiologis dalam tubuh dan dapat menyebabkan kerusakan. Disamping bersifat sebagai peredam radikal bebas, antioksidan secara intrinsik dapat bertindak sebagai prooksidan. Ketidak seimbangan aktivitas radikal bebas (oksidan) dan antioksidan dapat mendasari beberapa keadaan patologis. Sebagai contoh adalah vitamin C dan vitamin E. Vitamin C pada konsentrasi 0,2 mM atau kurang yang dipotensiasi dengan  $Fe^{2+}$  10  $\mu$ M

dapat menyebabkan peroksidasi lipid, dengan meningkatkan konsentrasi vitamin C di atas 0,2 mM menunjukkan kapasitasnya sebagai antioksidan. Sebaliknya dengan vitamin E dengan konsentrasi rendah merupakan antioksidan yang baik dan pada konsentrasi tinggi bersifat prooksidan yang akan menghasilkan radikal bebas (Bast *et al*, 1991) .

## 2.2 Bawang Putih

### 2.2.1 Tinjauan Umum

Bawang putih (*Allium sativum*) sudah lama dikenal sebagai tanaman obat tradisional dan bumbu dapur, dan akhir-akhir ini ditemukan atau dibuktikan khasiatnya secara medis teknis (Handali, 1988). Tidak dapat dipastikan sejak kapan manusia menggunakan bawang putih dalam makanannya, akan tetapi dapat dikatakan bahwa bawang putih sebagai bumbu dapur sudah dikenal sejak manusia mulai mengolah makanannya. Catatan-catatan yang berasal dari zaman dahulu, diketahui bahwa selain sebagai bumbu dapur, bawang putih juga dipergunakan sebagai obat. Dalam ilmu pengobatan tradisional bawang putih dapat dipakai untuk mengurangi atau menyembuhkan berbagai macam gangguan penyakit (Liang, 1991).

Menurut Purseglove (1985) secara taksonomi bawang putih diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta

Anak Divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledoneae  
Bangsa : Liliiflorae  
Suku : Liliceae  
Marga : Allium  
Jenis : *Allium sativum* Linn.



### 2.2.2 Komposisi Umbi Bawang Putih

Untuk kepentingan pengobatan, tanaman *Allium sativum* Linn. telah banyak dibudidayakan di berbagai negara. Senyawa karakteristik yang terkandung di dalamnya adalah turunan sistein (Eckner, 1993). Bawang putih mengandung 0,2 % minyak atsiri yang berwarna kuning kecoklatan dengan komposisi utama adalah turunan asam amino yang mengandung sulfur (*alilin*, 0,2-1 % dihitung terhadap bobot segar). Dalam proses destilasi dan pengirisan umbi, *alilin* akan berubah menjadi *Allicin*. Kadar *alilin* sangat tergantung dari penyiapan simplisia (pada cara penyiapan simplisia yang kurang baik, maka  $\frac{1}{4}$  bagian *Alliin* akan mengalami perubahan) (Hensel, 1991). *Alicin* adalah senyawa yang memberikan bau khas bawang putih (Atal, 1982; Stecher, 1968; Watt, 1962).

Senyawa lain yang terkandung di dalam bawang putih adalah *diallyl sulfide* (DAS) (Yang et al, 2001).

*Allicin* merupakan senyawa yang tidak stabil, adanya pengaruh panas air, oksigen udara dan lingkungan basa akan berubah menjadi senyawa *poli*

*sulfide, diallyl disulfide* (yang menimbulkan bau tidak enak). *Allicin* stabil dalam lingkungan asam.

Analisis kandungan gizi 100 gram *Allium sativum* Linn. adalah sebagai berikut :

Air	61-68 %
Kalori	122 kal
Protein	3,5-7 %
Lemak	0,3 %
Karbohidrat	24-28 %
Serat	0,7 %
Beta- karoten	sangat sedikit (hanya terdeteksi)
Thiamin (vitamin B1)	sedikit
Riboflavin (vitamin B2)	sedikit
Niacin	sedikit
Asam askorbat (vitamin C)	sedikit
Calcium	28,00 mg
Kalium	377,00 mg
Natrium	16,00 mg
Zat besi	1,5 mg
Fosfor (sebagai P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	109,00 mg

(Sumber Atal, 1982)

Ekstraksi bawang putih yang telah tua dalam waktu lama akan menghasilkan zat yang bersifat antioksidan yang tidak stabil yaitu *allicin* dan





### 2.2.3 Efek Biologis Bawang Putih

Bawang putih telah diketahui berpengaruh terhadap sistem biologis seperti menurunkan kolesterol serum dan hati, menghambat agregasi platelet (Horie *et al.*, 1991 ) dan mempunyai efek antibakterial (Cavalilito *et al.*,1989). Ekstrak bawang putih dapat mencegah peroksidasi lipid membran mikrosom hati tikus, sehingga memungkinkan ekstrak bawang putih dapat digunakan sebagai pelindung membran terhadap peroksidasi lipid (Horie, 1989). Ekstrak bawang putih yang telah tua, dimana komponen utamanya adalah *s-allylcysteine* (SAC) dapat melindungi kerusakan sel endotel dari oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) dengan cara mencegah penurunan glutathion intrasel . Pencegahan penurunan glutathion ini meminimalkan pembentukan peroksida dari sel endotel (Ide, 2001).

Horie dkk, 1991 mengidentifikasi komponen *diallyl polysulfide* yang terdapat pada ekstrak bawang putih yang ternyata menunjukkan sifat dapat melindungi mikrosom hati dari peroksidasi lipid.

Di dalam bawang putih banyak terdapat senyawa yang mengandung gugus SH atau pada metabolisemenya mengandung gugus SH. Dengan demikian pemberian bawang putih akan menetralkan radikal bebas yang terbentuk, sehingga tidak akan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh jamak (Wati, 1991).

*Diallylsulfide* yang terkandung dalam bawang putih menghambat ekspresi sitokrom P-450 2E1 (CYP 2E1) dan menginduksi enzim detoksifikasi

fase 2. Komponen organosulfur yaitu *allylsulfide*, *Allylmercaptan* dan *allylmethylsulfide* sangat efektif untuk menekan unsur-unsur kimia yang menginduksi ekspresi sitokrom P-450 2E1 dan menginduksi glutathion S-transferase, mikrosomal epoxide hydrolase (mEH) dan kadar mRNA yang merangsang ekspresi tersebut. Beberapa komponen organosulfur merupakan kemopreventif yang poten terhadap hepatotoksisitas dengan asumsi merubah aktivitas enzim-enzim detoksifikasi fase 1 dan 2.

*Diallyl Sulfide (DAS)* merupakan komponen yang memberi aroma bawang putih oleh sitokrom P-450 dikonversi menjadi *diallyl sulfoxide (DASO)* dan *diallyl sulfone (DASO<sub>2</sub>)*. Komponen ini menunjukkan penurunan kejadian tumor hewan percobaan yang diinduksi oleh beberapa bahan kimia. *DAS*, *DASO*, *DASO<sub>2</sub>* ini adalah inhibitor kompetitif sitokrom P-450. *DASO<sub>2</sub>* merupakan inhibitor bunuh diri dari sitokrom P-450. Ketiga komponen ini mengurangi toksisitas yang disebabkan karbon tetraklorida, *N-nitrosodimethylamine*, dan *acetaminophen* pada rodensia. *DAS*, *DASO*, dan *DASO<sub>2</sub>* merupakan substrat sitokrom P-450. Efek proteksi komponen tersebut dapat terjadi setelah perlakuan. *DAS* menunjukkan induksi enzim-enzim detoksifikasi fase 2 dan mengurangi aktivitas enzim katalase hepar (Yang,2001).

*Diallyl sulfone (DASO<sub>2</sub>)* menghambat sitokrom P-450 2E1 (CYP2E1). Gugusan epoxide dari *DASO<sub>2</sub>* bertanggung jawab terhadap inaktivasi sitokrom P-450 2E1 hepar pada tikus. Epoxide dari *DASO<sub>2</sub>* (1,2-epoxypropil-3,3-sulfonyl-1-propene ; *DASO<sub>3</sub>*) disintesa dan dikonjugasi oleh glutathion

(GSH) untuk memproduksi konjugat S-(1R,S-[[1-hydroxymethyl-2,3-sulfonyl]-1-propenyl]ethyl)glutathione(diastereomers) dan S-(1-[[2R,S-hydroxypropyl]-3,3-sulfonyl]-1-propenyl)glutathione(diastereomers). DASO<sub>2</sub> menginduksi penurunan jumlah sitokrom P-450 yang terdeteksi melalui imunodeteksi (Premdas, 2000).

Bawang putih mempunyai kapasitas sebagai antioksidan yang tertinggi terhadap peroksil radikal dibandingkan dengan bawang merah, jagung, brokoli, paprika, kecambah, bayam, gula bit, terung.

Modifikasi oksidatif dari DNA, protein, dan lipid oleh *reactive oxygen species (ROS)* memainkan peranan penting terhadap penyakit dan ketuaan. Ekstrak bawang putih yang telah tua (*aged garlic extract*) berisi antioksidan fitokimia yang mencegah kerusakan yang disebabkan oleh oksidan. Ekstrak tersebut dapat memicu enzim seluler yang bersifat antioksidan yaitu *superoxide dismutase*, katalase, glutathion peroksidase dan meningkatkan glutathion pada sel. Ekstrak bawang putih yang telah tua ini dapat juga melindungi DNA terhadap radikal bebas yang memperantarai kerusakan dan mutasi, menghambat perkembangan karsinogenesis. Efek biologis dari beberapa eksperimen menunjukkan bahwa ekstrak tersebut dapat melindungi beberapa penyakit yang disebabkan oleh induksi oksidan, kerusakan akut yang berakibat ketuaan, radiasi, paparan bahan kimia, dan kerusakan yang disebabkan keracunan dalam jangka panjang (Borek, 2001).

Ekstrak bawang putih yang telah tua dapat mencegah hemolisis yang diinduksi oleh oksidan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut

mempunyai fungsi sebagai antioksidan, stabilisator membran eritrosit. Pada peristiwa penghambatan hemolisis, ekstrak bawang putih yang telah tua tidak hanya melindungi struktur dan fungsi eritrosit melalui proses oksidan-antioksidan tetapi dapat juga tidak melalui proses oksidan-antioksidan. Diduga proses tersebut dapat melalui alur glikolisis dan stabilisasi membran eritrosit (Moriguchi, 2001).

### 2.3.1 Kerusakan Hati

Hati adalah salah satu organ yang sangat potensial terhadap kerusakan akibat masuknya racun atau bahan kimia ke dalam tubuh. Hal ini disebabkan karena hati merupakan organ yang pertama setelah saluran cerna yang terpapar oleh racun tersebut (Gitlin, 1990).

Salah satu fungsi hati adalah proteksi tubuh terhadap racun dan benda asing yang masuk ke dalam tubuh (detoksifikasi). Hati berperan dalam mengubah semua bahan-bahan asing atau toksin dari luar tubuh. Bahan-bahan tersebut dapat berupa makanan, obat-obatan dan bahan lainnya. Disamping itu dapat juga bahan dari dalam tubuh sendiri dijadikan bahan yang tidak aktif atau kurang toksik.

Metabolisme obat-obatan, racun dan benda asing yang dilakukan oleh hati dikatalisa oleh 3 kelas enzim yaitu oksidoreduktase, hidrolase dan transferase. Reaksi metabolisme obat-obatan, racun dan benda asing yang dikatalisa oleh oksidoreduktase dan hidrolase sering disebut fase 1 sedangkan reaksi yang dikatalisa oleh transferase disebut fase 2. Reaksi

fase 1 pada umumnya cenderung untuk meningkatkan polaritas molekul dari bahan kimia dan daya larutnya terhadap air yang akan memicu pembuangan molekul tersebut dari tubuh. Fase 1 ini tidak selalu mendetoksifikasi molekul bahan kimia tetapi kadang-kadang dapat menghasilkan metabolit yang lebih toksik. Reaksi fase 2 akan lebih meningkatkan kelarutan molekul bahan kimia yang masuk. Reaksi fase 1 dan 2 ini merupakan efek kombinasi detoksifikasi dan ekskresi suatu bahan kimia yang masuk ke dalam tubuh. Beberapa molekul dapat dimetabolisme langsung dengan reaksi fase 2 tanpa melalui fase 1.

Kemampuan hati untuk fungsi detoksifikasi ini terbatas, sehingga tidak semua bahan yang masuk didetoksifikasikan dengan sempurna tetapi ditimbun dalam darah dan dapat menimbulkan kerusakan sel-sel hati (Doxey,1977).

Pada umumnya kerusakan sel yang diakibatkan oleh bahan kimia dapat melalui 2 mekanisme yaitu :

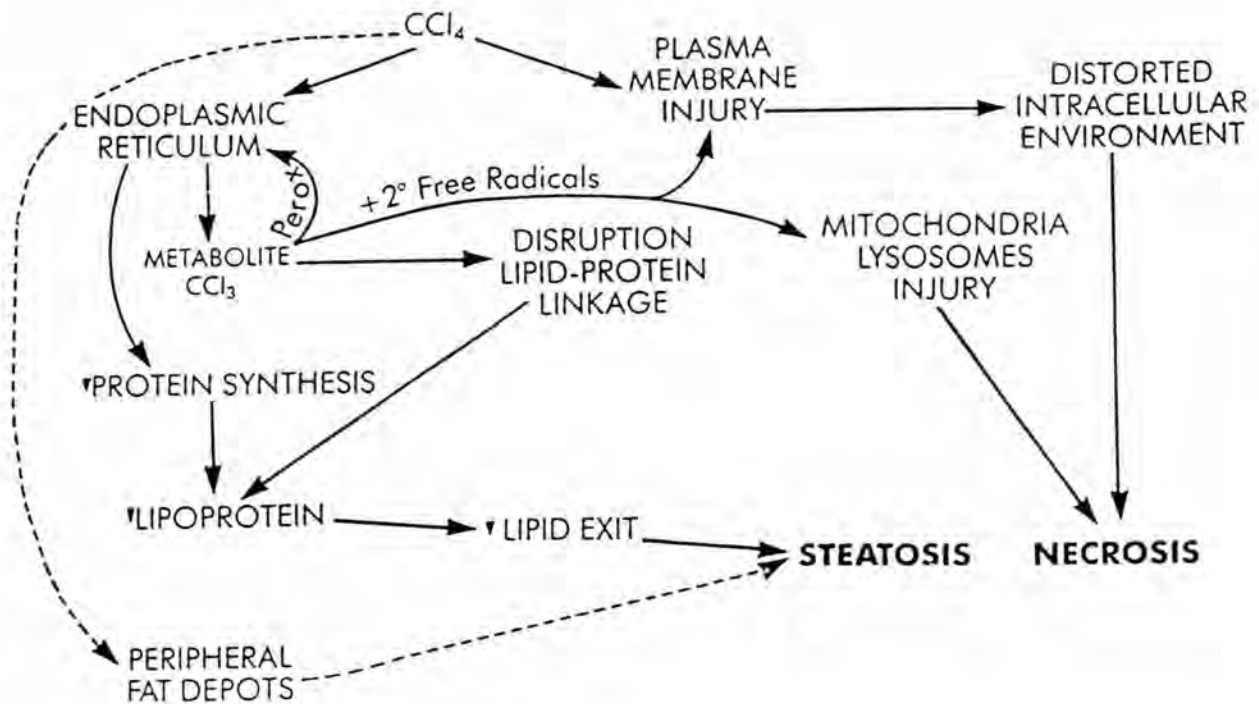
1. Beberapa bahan kimia secara langsung bereaksi dengan komponen molekul yang sangat penting pada organel sel.
2. Hampir sebagian besar bahan kimia tidak secara langsung bereaksi dengan komponen biologis yang ada dalam tubuh tetapi harus dikonversikan dulu menjadi metabolit yang bersifat toksik dan sangat reaktif baru kemudian metabolit tersebut bereaksi dengan sel target.

Karbon tetraklorida merupakan salah satu contoh model dari mekanisme dimana bahan kimia tersebut tidak secara langsung bereaksi

dengan komponen biologis tetapi harus dikonversikan dulu menjadi metabolit yang bersifat toksik dan sangat reaktif. Karbon tetraklorida telah lama digunakan sebagai bahan pembersih, pelarut, pemadam kebakaran, fumigasi biji-bijian, pembasmi cacing cambuk dan juga untuk sintesa fluorokarbon. Kerentanan suatu organisme terhadap  $\text{CCl}_4$  tergantung dari jenis spesies. Ayam, burung, amfibi dan ikan sangat tahan terhadap efek hepatotoksik  $\text{CCl}_4$  (Gitlin,1990).

Dalam proses detoksifikasi agen toksik oleh hati, kadang dapat menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat lebih toksik daripada bahan toksik turunannya (Gitlin,1990). Karbon tetraklorida adalah salah satu bahan hepatotoksin yang dapat menghasilkan senyawa metabolit radikal *trichloromethyl* bersifat lebih toksik daripada karbon tetraklorida asalnya. radikal *trichloromethyl* dapat menyebabkan terjadinya serangkaian reaksi yang akhirnya menghasilkan peroksidasi lipid membran. Karbon tetraklorida ini dapat menyebabkan nekrosis sentrilobuler dan perlemakan hati (Timbrell,1994). Mekanisme  $\text{CCl}_4$  menyebabkan nekrosis dan perlemakan hati dapat dilihat pada gambar 2.4.

Efek toksik dari  $\text{CCl}_4$  terjadi pada retikulum endoplasma dimana terlibat sistem *mixed-function oxidase* yaitu enzim-enzim yang berperan pada metabolisme obat yang larut lemak dan komponen lain yang ada pada sitokrom P-450.



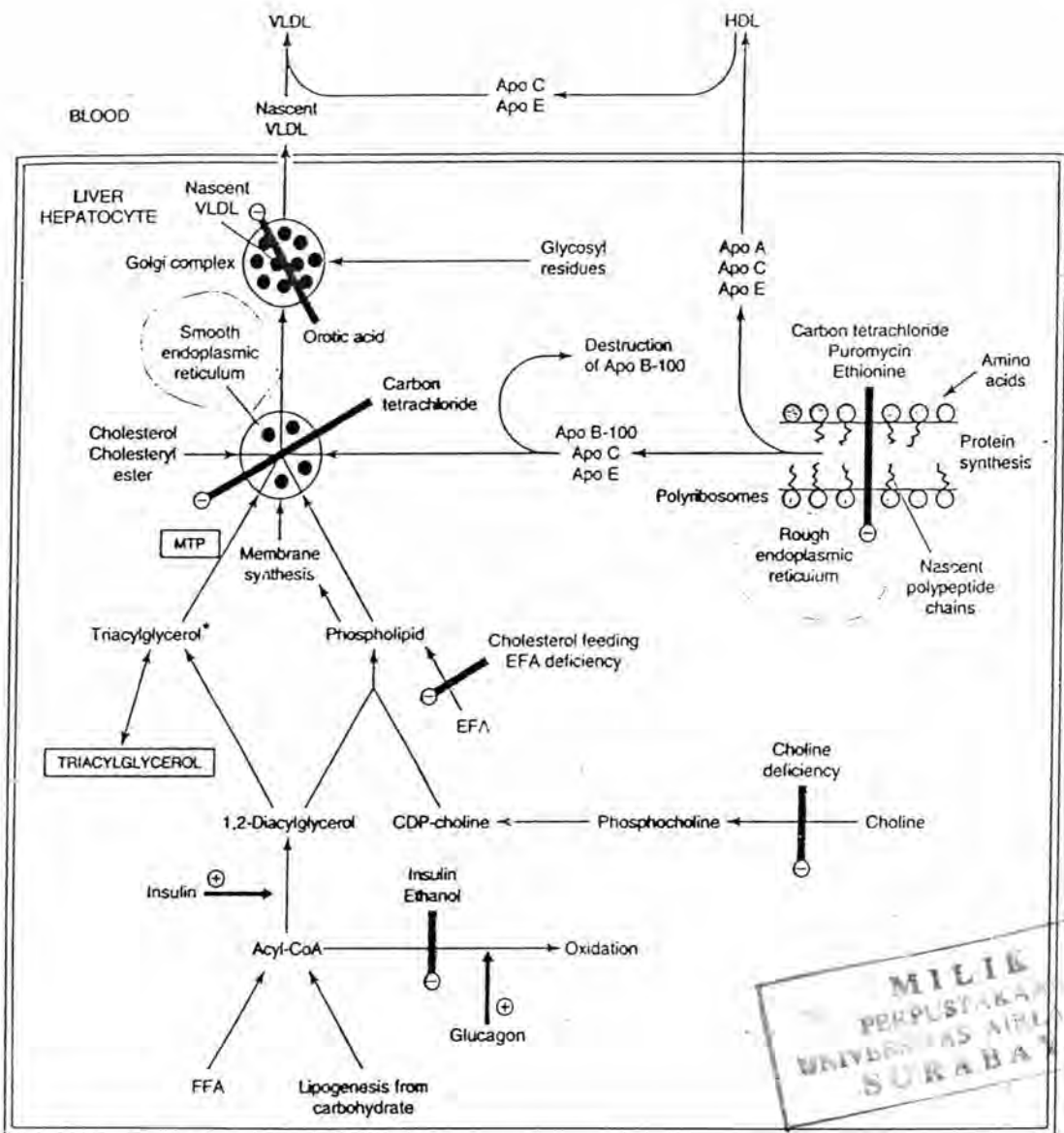
Gambar 2.4 Mekanisme  $\text{CCl}_4$  menyebabkan nekrosis dan perlemakan hati  
(Sumber : Gitlin, 1990)

Triklorometil radikal mengawali peroksidasi lipid melalui autooksidasi dari asam lemak tidak jenuh (polienoat) yang ada pada membran fosfolipid dan membentuk peroksida organik setelah bereaksi dengan oksigen. Reaksi ini merupakan autokatalisis dimana radikal-radikal baru dibentuk dari

peroksida itu sendiri sehingga terjadi pemecahan secara cepat pada struktur dan fungsi retikulum endoplasma. Reaksi ini mengakibatkan  $\text{CCl}_4$  yang menginduksi kerusakan hati dapat terjadi cepat dan hebat. Kurang dari 30 menit terjadi pengurangan sintesa protein pada hati, dan dalam waktu 2 jam sisterna retikulum endoplasma membengkak, disosiasi ribosom dari membran retikulum endoplasma kemudian diikuti disagregasi polisom.

Kejadian berikutnya adalah terjadinya akumulasi lemak pada sitoplasma yang dimulai pada retikulum endoplasma. Akumulasi lemak ini disebabkan oleh ketidak mampuan sel untuk mensintesa lipoprotein dari trigliserida dan protein pengemban lipid (apoprotein) (Contran,1989), dimana apoprotein ini diperlukan untuk membawa lipid keluar dari sel hati seperti *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) (Timbrell,1994). Kegagalan sintesis protein pengemban lipid adalah suatu tanda khas dari kerusakan hati yang disebabkan oleh keracunan  $\text{CCl}_4$ . Efek toksik hambatan  $\text{CCl}_4$  pada metabolisme sel hati yang dapat menurunkan sintesa apoprotein dan terjadinya akumulasi lemak pada sel hati dilihat pada gambar 2.5 berikut ini



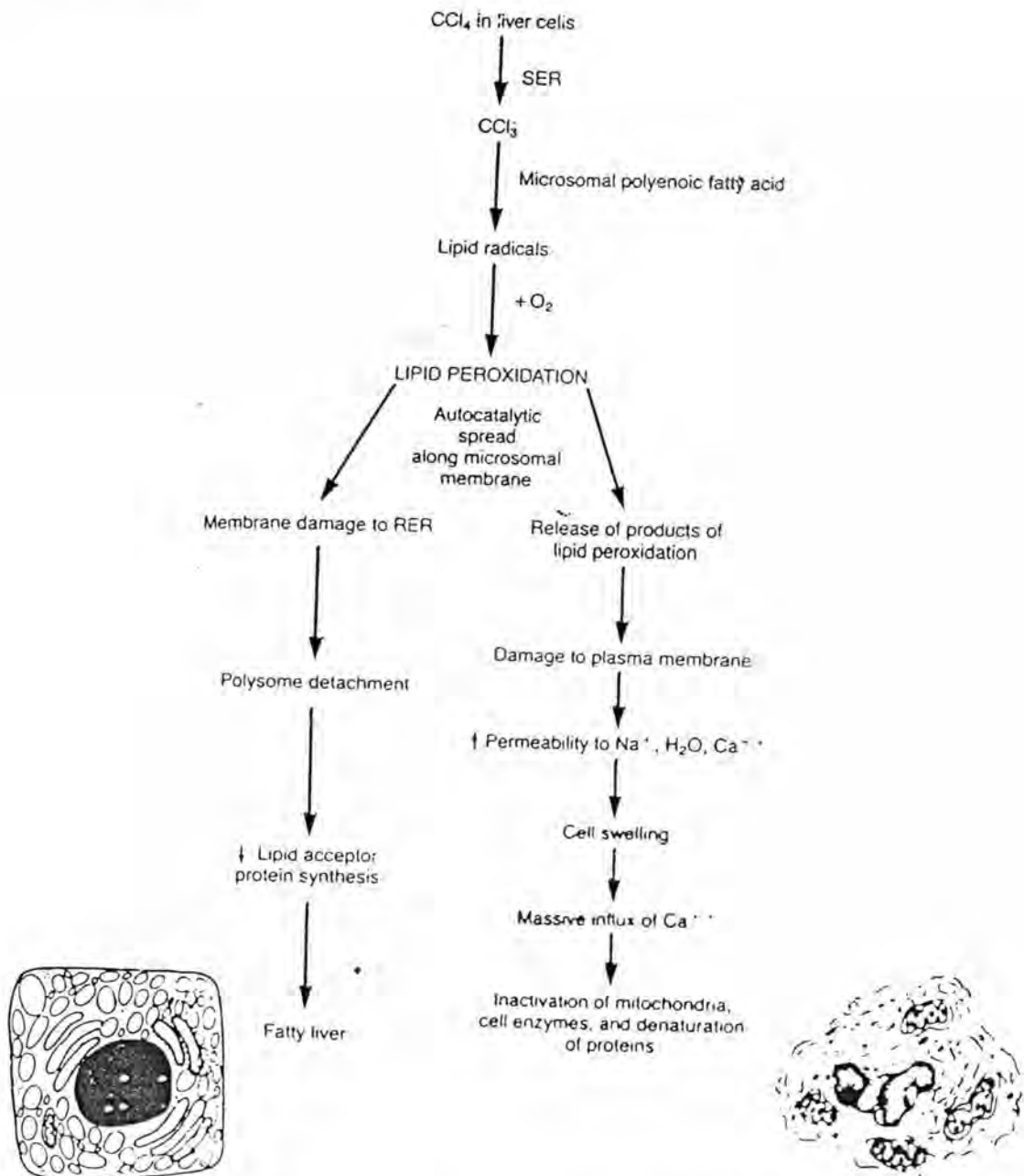


Gambar 2.5 Proses hambatan  $CCl_4$  pada pada metabolisme sel hati yang mengakibatkan terjadinya penurunan sintesa apoprotein dan akumulasi lemak pada sel hati.

(Sumber : Murray, 1996)

Setelah itu diikuti kebengkakan sel yang disebabkan oleh meningkatnya permeabilitas membran plasma. Meningkatnya permeabilitas membran plasma ini diakibatkan oleh aldehida lemak yang relatif stabil hasil dari peroksidasi lipid di dalam retikulum endoplasma halus berdifusi ke seluruh membran sel. Jika permeabilitas membran plasma terus meningkat

akan disusul oleh masuknya kalsium ke dalam sel dan terjadilah kematian sel (nekrosis) (Contran *et al.*, 1989). Secara skematis dapat dilihat pada gambar 2.6 berikut ini



Gambar 2.6 Urutan terjadinya degenerasi melemak dan nekrosis yang diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>. (Sumber : Contran *et al.*, 1989)

### 2.3.2. NEKROSIS

Nekrosis adalah perubahan morfologi yang mengikuti kematian sel akibat tindakan degradasi progresif oleh enzim katalitik yang berasal dari lisosom. Ada 2 proses yang mengiringi perubahan dari nekrosis yaitu yang pertama adalah digesti enzim dari sel yang mengalami kematian oleh enzim katalitik yang berasal dari lisosom dan yang ke dua adalah denaturasi protein. Nekrosis ditandai dengan perubahan karakteristik inti sel yang disebut

1. *Piknotis* yaitu kondensasi kromatin inti sel dimana inti sel terlihat lebih gelap, bulat, mempunyai masa homogen yang lebih kecil daripada inti sel yang normal.
2. *Karyorhexis* yaitu inti sel tampak terbagi menjadi beberapa bagian.
3. *Karyolisis* yaitu larutnya kromatin inti sel, meninggalkan lubang besar, bulat.

Nekrosis ini merupakan perubahan yang *irreversibel*, sedangkan degenerasi lemak merupakan perubahan yang *reversibel* (Cotran *et al.*, 1989)

Berdasarkan jumlah penerimaan darah, Rappaport membagi lobulus hati menjadi tiga *zone* yaitu *zone 1* yang menerima darah dari *arteriol hepatica* dan *venul porta* pertama yang disebut *zone periportal*. *Zone 3* terletak di sekitar *vena centralis* disebut sebagai *zone centrilobuler*. *Zone 2*

terletak diantara *zone 1* dan *3* (Bowman *et al*, 1980). Pada *zone 3* atau *zone centrilobuler* jumlah sitokrom P-450, NADPH sitokrom P-450 reduktase lebih banyak dari *zone* yang lain dan sintesa lipid lebih tinggi pada *zone* ini dari *zone 1* dan *2*, hal ini menyebabkan kerusakan atau nekrosis dan akumulasi lemak sering terjadi pada bagian ini (Timbrell,1989).

### 2.3.3. BIOTRANSFORMASI BAHAN TOKSIK

Manusia dan hewan sering terpapar bahan kimia yang merupakan benda asing bagi tubuh. Bahan kimia yang asing bagi tubuh disebut juga sebagai xenobiotik. Xenobiotik ini dapat berasal dari alam maupun buatan manusia. Pada umumnya komponen yang bersifat lipofilik dapat secara cepat diabsorpsi melalui kulit, paru, ataupun melalui saluran gastrointestinal. Paparan xenobiotik yang terus menerus akan menghasilkan akumulasi pada organisme yang terpapar, sampai pada akhirnya suatu sarana dari organisme tersebut mengeliminasi. Suatu bahan kimia dapat diekskresi tanpa perubahan melalui urin, empedu, feces, ekspirasi, dan keringat. Suatu perkecualian untuk ekshalasi, kemudahan eliminasi tergantung dari kelarutan bahan kimia terhadap air. Komponen yang lipofilik cenderung untuk berdifusi ke dalam membran sel dan diabsorpsi, sedangkan komponen hidrofilik langsung dapat diekskresi tanpa berdifusi dan diabsorpsi. Kenyataan ini menyebabkan agen kimia yang bersifat lipofilik berakumulasi di dalam tubuh dan diabsorpsi dengan cepat, tetapi sangat sedikit diekskresi atau dieliminasi oleh tubuh.

Organisma hidup mempunyai sarana untuk merubah xenobiotik atau benda asing dari lipofilik menjadi metabolit yang lebih hidrofilik. Proses biokimia ini dinamakan biotransformasi yang biasanya merupakan proses enzimatik. Metabolit yang dihasilkan dari proses biotransformasi biasanya lebih hidrofilik daripada molekul asalnya. Hal ini akan meningkatkan kelarutannya terhadap air dan akan mengurangi kemampuan metabolit untuk berakumulasi dengan membran sel, memotong distribusi metabolit ke bermacam-macam jaringan, mengurangi reabsorpsi metabolit pada tubulus ginjal dan usus, merangsang ekskresinya dari urin, saluran empedu dan feces (Vessey. 1990).

Sejumlah enzim pada organisma hidup dapat melakukan biotransformasi xenobiotik, reaksi enzimatik ini ada 2 fase yaitu fase 1 meliputi oksidasi, reduksi dan hidrolisis dan fase 2 merupakan reaksi konjugasi dan sintesa (Sipes dan Gandolfi, 1986).

#### **2.4 *Glutamate Pyruvate Transaminase***

*Glutamate pyruvate transaminase (GPT)* yang disebut juga alanin amino transferase, ditemukan pada konsentrasi tinggi pada sel hati dan mempunyai konsentrasi yang lebih rendah pada bagian lain dari sel tubuh. Konsentrasi *Glutamate pyruvate transaminase* serum meningkat berhubungan dengan penyakit hati parah yang pada biasanya akibat hepatitis yang disebabkan oleh virus atau nekrosis hati yang disebabkan oleh racun.

Jika sel dari jaringan tertentu terkena gangguan/penyakit dan dengan berbagai cara gangguan tersebut akan merusak membran sel ataupun membran organel sel, sehingga terjadi kebocoran membran sel. Kebocoran membran sel ini berakibat isi dari sel keluar menuju peredaran darah. Enzim adalah salah satu isi dari sel tersebut, oleh karena itu pemeriksaan enzim tertentu dapat membantu mengidentifikasi lokasi dari mana asal kerusakan sel tersebut (Palmer, 1991).

## 2.5. Kontrol Ekspresi Gen

Gen diketahui mempunyai peran yang mendasar terhadap adaptasi tubuh oleh masuknya berbagai macam makanan ke dalam tubuh yang akan mempengaruhi kesehatan individu. Masuknya makanan ke dalam tubuh terdeteksi oleh sel yang akan mengakibatkan aparatus genetik terprogram (Berdanier et al., 1993).

DNA sebuah organisme mengkode semua RNA dan molekul protein yang diperlukan untuk pembentukan sel. Organisme multiselluler mempunyai mekanisme pengontrolan ekspresi gen yang terdiri dari beberapa tahapan. Suatu sel dapat mengubah pola ekspresinya sebagai tanggapan terhadap sinyal eksternal.

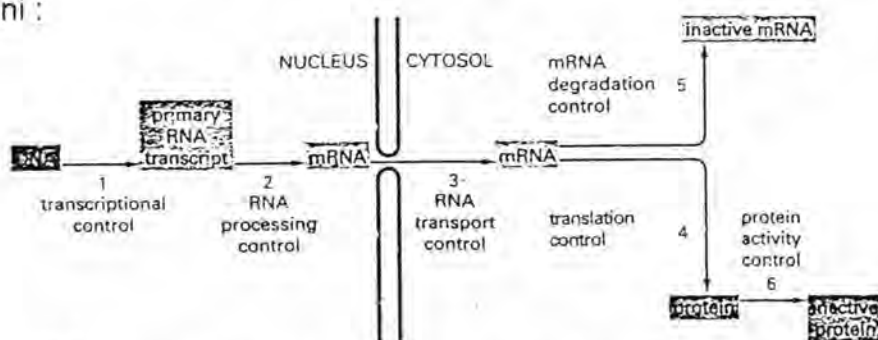
Ekspresi gen dari DNA ke RNA kemudian menjadi protein diregulasi atau diatur oleh beberapa tahapan. Sel dapat mengontrol protein yang dihasilkannya dengan cara :

1. Mengontrol kapan dan berapa sering sebuah gen ditranskripsikan ( kontrol transkripsi).
2. Mengontrol bagaimana transkrip RNA disambungkan (*spliced*) atau diproses dengan cara lain (kontrol pemrosesan RNA) .
3. Memilih mRNA mana yang telah terbentuk dalam inti sel akan dikirim ke sitoplasma (kontrol transport RNA).
4. Memilih mRNA mana di dalam sitoplasma yang akan mengalami translasi pada ribosom (kontrol translasi).
5. Memilih molekul mRNA tertentu yang akan dibuat tidak stabil pada sitoplasma (kontrol degradasi mRNA).
6. Memilih molekul protein tertentu yang akan diaktifasi, dinaktifasi atau ditempatkan pada organel sel setelah terbentuk (kontrol aktivitas protein).

Kontrol transkripsi gen adalah ujung pangkal dari semua kontrol sel yang merupakan pengontrol semua sintesa agar tidak dihasilkan dalam jumlah yang berlebih.

Mekanisme pengontrolan ekspresi gen dapat dilihat pada gambar 2.7

berikut ini :



Gambar 2.7 Tahapan pengontrolan ekspresi gen organisme eukariotik. (Sumber : Albert, 1994)

Inisiasi dari transkripsi RNA adalah titik utama dari kontrol ekspresi gen, meskipun setiap tahapan dari ekspresi gen merupakan prinsip dari regulasi ekspresi gen.

Suatu organisme akan memberikan tanggapan terhadap rangsangan luar, antara lain terhadap nutrisi yang masuk ke dalam tubuh dengan cara mengubah ekspresi gen yang mengkode enzim-enzim metabolisme. Ekspresi tersebut mengubah enzim metabolisme yang tidak diperlukan dan yang diperlukan pada keadaan tertentu (Albert, 1994).



## BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

### 2.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Pada proses detoksifikasi  $\text{CCl}_4$  yang terjadi di hati akan menghasilkan metabolit radikal triklorometil ( $\text{CCl}_3^*$ ). Senyawa metabolit ini sangat reaktif dan akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid.

Membran yang mengelilingi sel dan organel terdiri dari *polyunsaturated fatty acid (PUFA)*. Pada proses peroksidasi lipid, *PUFA* yang terdapat pada membran sel akan diserang oleh radikal triklorometil sehingga akan menghasilkan serangkaian reaksi rantai. Reaksi rantai tersebut akan menghasilkan produk yang stabil yaitu MDA.

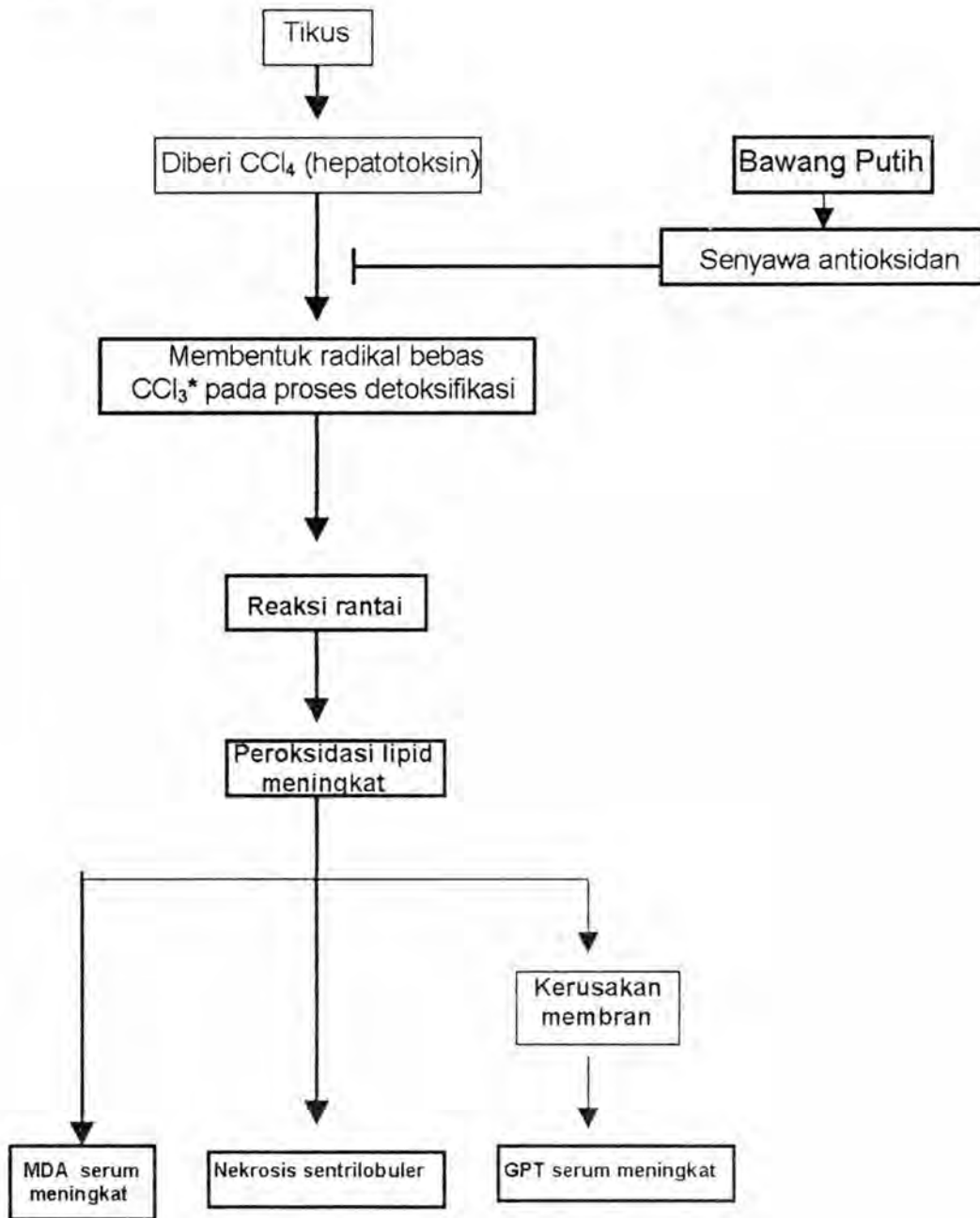
Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan membran sehingga terjadi kebocoran membran. Kebocoran membran ini mengakibatkan enzim yang berada dalam sel akan keluar dari sel menuju peredaran darah. *GPT* banyak terdapat dalam sel hati. Kerusakan sel hati akan berakibat keluarnya *GPT* menuju peredaran darah.

Peroksidasi lipid juga menyebabkan nekrosis. Pada keracunan  $\text{CCl}_4$ , nekrosis yang terjadi terutama pada zona 3, yang disebut nekrosis sentrilobuler.

Bawang putih yang mengandung senyawa antioksidan dapat menetralkan radikal bebas/oksidan sebagai antioksidan pencegah reaksi rantai.

Sifat bawang putih sebagai antioksidan pencegah reaksi rantai ini merupakan salah satu khasiat yang dapat dipergunakan sebagai hepatoprotektor.

Kerangka konseptual tersebut di atas dapat diikhtisarkan sebagai berikut :



Keterangan :

┌─── Mencegah reaksi rantai

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konseptual yang ada, maka dapat dibuat hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Bawang putih dapat mencegah terjadinya kerusakan hati yang ditandai dengan pencegahan nekrosis sentrilobuler, pencegahan peningkatan MDA dan GPT serum pada tikus putih yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$ .
2. Pada dosis tertentu bawang putih efektif sebagai antioksidan dan hepatoprotektor.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan rancangan acak lengkap (Steel and Torie,1991).

### 4.2 Sampel dan Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan tikus jantan strain *Sprague Dawley*. Hewan berumur 3 bulan dengan berat badan 200-250 gram. Estimasi besar sampel ditentukan berdasarkan rumus Steel dan Torrie (1991), dengan perhitungan sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta/2})^2 \tau^2}{d^2}$$

dengan menganggap bahwa populasi berdistribusi normal dan perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan mempunyai perbedaan (d) sebesar  $\tau$  (1 standart deviasi) sehingga  $\tau^2 / d^2 = 1$ . Bila  $\alpha = 0,05$  dan  $\beta = 0,20$  maka diperoleh  $Z_{\alpha/2} = 1,96$  dan  $Z_{\beta/2} = 0,842$ . Sehingga diperoleh besar sampel  $n = (1,96 + 0,842)^2 \cdot (1)^2 = 7,85 \dots\dots\dots 8$

### 4.3 Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional

#### 4.3.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis sari bawang putih. Variabel tergantung meliputi kadar MDA, glutamate *GPT serum*, pemeriksaan histopatologi. Variabel kendali meliputi strain, jenis kelamin, umur, berat badan dan makanan tikus.

#### 4.3.2 Definisi Operasional

- Sari bawang putih adalah hasil perasan umbi bawang putih yang menggunakan pelarut air.
- Kadar MDA adalah kadar MDA serum darah tikus perlakuan yang diukur dengan *TBA test*, dan pembacaan dengan menggunakan spektrofotometer.
- Kadar *GPT* adalah kadar *GPT* yang diambil dari serum darah tikus perlakuan dengan menggunakan metode Bergmeyer.
- Pemeriksaan histopatologi adalah hasil dari pembuatan preparat histologis hati tikus perlakuan, kemudian dilihat adanya perubahan sel hepar yang meliputi *cloudy swelling*, degenerasi sentrilobuler, degenerasi melemak, nekrosis *focal*, dan nekrosis *massive* yang terjadi pada daerah sentrilobuler.

*Cloudy swelling* adalah suatu keadaan dimana terjadi pembengkakan sel dan tampak adanya kabut pada bagian sitoplasmanya. Perubahan ini

merupakan perubahan yang paling ringan dan biasanya juga dijumpai dalam keadaan normal.

Degenerasi sentrilobuler adanya akumulasi lemak pada sitoplasma sel yang terletak di sekitar vena sentralis. Hal ini merupakan awal terjadinya degenerasi.

Degenerasi melemap merupakan adanya akumulasi lemak pada sitoplasma sel yang terletak di sekitar vena sentralis dan degenerasi melemap tersebut tampak meluas pada daerah sentrilobuler.

Penentuan nekrosis dilihat dari struktur inti sel. Apabila inti sel terlihat keadaan *picnotic* atau *karyorhexis* atau *karyolisis*, maka disebut nekrosis.

Nekrosis *focal* merupakan nekrosis sel hati dalam jumlah terbatas pada daerah sentrilobuler.

Nekrosis *massive* merupakan nekrosis sel hati yang merata pada daerah sentrilobuler.

Pengamatan dilakukan sebanyak lima lapangan pandang, setiap lapangan pandang dilihat dua lobulus. Perubahan selular dievaluasi dengan kriteria skor empiris (Loegito yang dikutip dari Lilliana, 1991) yaitu

- A = bila normal tidak terjadi perubahan, nilai skor 0
- B = bila terjadi *cloudy swelling*, nilai skor 1
- C = bila terjadi degenerasi sentrolobuler, nilai skor 2
- D = bila terjadi degenerasi melemap, nilai skor 3
- E = bila terjadi nekrosis *focal*, nilai skor 4
- F = bila terjadi nekrosis *massive*, nilai skor 5

## 4.4 Bahan Penelitian

### 4.4.1 Hewan Percobaan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Sprague Dawley* jantan, umur kurang lebih 3 bulan dengan berat badan 200-250 gram

### 4.4.2 Bahan Pakan Dan Minum

Dalam penelitian ini digunakan bahan pakan standar dari kandang percobaan laboratorium Biokimia FK Unair. Minuman yang diberikan adalah minuman air yang berasal dari air PDAM.

### 4.4.3 Bahan Uji

Bahan uji pada penelitian ini berupa sari bawang putih yang berasal dari bawang putih varietas Lumbu hijau yang didapat dari pasar Batu, Malang.

### 4.4.4 Bahan Kimia

- Karbon tetraklorida sebagai bahan hepatotoksik
- Larutan TCA 5 %, larutan asam sulfat 0,05M , larutan natrium sulfat 2M, larutan TBA 0,2% (dalam Natrium sulfat) sebagai bahan pengujian kadar MDA.
- L-alanin, asam oxoglutarat yang digunakan untuk pengujian kadar *GPT* serum



- Formalin 10 %, alkohol 80 %, 95%, 100%, xylol, paraffin, larutan hematoxylin, larutan amonia, larutan eosin, larutan *egg* albumin sebagai bahan pembuatan preparat histologis.

#### 4.4.5 Bahan-Bahan Lain

Penyaring (kain penyaring), minyak kelapa, *aquadestilata*.

#### 4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang diperlukan antara lain sonde, timbangan digital, spektrofotometer, silet, gunting , pinset, mikrotom, *water bath*, gelas obyek dan gelas penutup, *staining jar*, mikroskop , cetakan logam untuk membuat parafin blok, foto tustel, semprit injeksi .

#### 4.6 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini direncanakan dilaksanakan di laboratorium Biokimia FK, Balai laboratorium Kesehatan Surabaya dan Laboratorium Patologi FKH Unair. Penelitian ini dilakukan selama 1 bulan dimulai awal bulan Oktober hingga akhir Oktober 2000.

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Persiapan Penelitian

#### a. Pembuatan sari bawang putih

Sari bawang putih pada penelitian ini adalah hasil perasan umbi bawang putih dengan menggunakan pelarut *aquadestilata*. Urutan pembuatan sediaan sari bawang putih adalah sebagai berikut : Bawang putih dikupas kulit luarnya, ditimbang sebanyak 500 g dan diiris kecil-kecil. Ditambahkan *aquadestilata* 50 ml dan dihaluskan dengan blender, selanjutnya larutan diperas dengan kain flanel dan ditampung sarinya. Kemudian ditambahkan *aquadestilata* sampai volume 500 ml dan dimasukkan dalam botol, selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin. Tiap ml sari bawang putih stok dianggap setara dengan 1g bawang putih. Pada saat akan disondekan pada tikus, sari bawang putih terlebih dahulu diambil sesuai dosis yang dibutuhkan kemudian diencerkan dengan *aquadestilata* hingga 2,5 ml. Jadi tiap-tiap kelompok tikus perlakuan mendapat 2,5 ml sari bawang putih dengan kadar yang berbeda. Bagan pembuatan sari bawang putih ini tertera pada lampiran 1.

#### b. Pembuatan $\text{CCl}_4$ 0,55 g/kg BB

Karbon tetraklorida 0,55 g/kg berat badan setara dengan 0,3459 ml/kg berat badan. Pada saat akan disondekan pada tikus  $\text{CCl}_4$  diambil sesuai dengan dosis yang dibutuhkan kemudian diencerkan sampai 2,5 ml.

- c. Hewan percobaan dipilih tikus putih jantan strain *Sprague Dawley* yang sehat secara fisik, berumur 3 bulan dengan berat badan antara 200-250 gram. Sebelum perlakuan hewan diadaptasikan selama 2 minggu dengan diberi pakan standar formula laboratorium Biokimia FK Unair dan minum PDAM secara *ad libitum*.

#### 4.7.2 Cara Kerja Dan Pemeriksaan

Setelah diadaptasi selama 2 minggu hewan ditimbang berat badannya dan secara acak dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

##### Kelompok kontrol

- A : Delapan ekor tikus diberi pelarut bawang putih 2,5 ml per hari selama delapan hari berturut-turut dan 2,5 ml pelarut  $\text{CCl}_4$  pada hari ke sembilan
- B : Delapan ekor tikus diberi 2,5 ml pelarut sari bawang putih per hari selama delapan hari berturut-turut dan 2,5 ml  $\text{CCl}_4$  dosis 0,55 g/kg berat badan pada hari ke sembilan

##### Kelompok perlakuan

- C: Delapan ekor tikus diberi 2,5 ml sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan per hari selama delapan hari berturut-turut dan 2,5 ml  $\text{CCl}_4$  dosis 0,55 g/kg berat badan pada hari ke sembilan

D: Delapan ekor tikus diberi 2,5 ml sari bawang putih dengan dosis 5 g/kg berat badan per hari selama delapan hari berturut-turut dan 2,5 ml CCl<sub>4</sub> dosis 0,55 g/kg berat badan pada hari ke sembilan

E: Delapan ekor tikus diberi 2,5 ml sari bawang putih dosis 10 g/kg berat badan per hari selama delapan hari berturut-turut dan 2,5 ml CCl<sub>4</sub> dosis 0,55 g/kg berat badan pada hari ke sembilan

Setelah perlakuan selesai sampel berupa darah dan hepar diambil pada hari ke 11. Bagan prosedur penelitian dapat dilihat pada lampiran 2

#### 4.7.2.1 Pengambilan dan pemeriksaan sampel darah

Pada hari ke 11 hewan percobaan dari semua kelompok dianastesi dengan eter secara inhalasi dan diambil darahnya secara *intra cardial* sebanyak 3 ml. Kemudian darah dimasukkan dalam tabung, diamkan ½ jam. Selanjutnya dipusingkan selama 10 menit, serum diambil dan disimpan pada -20 °C sampai dilakukan pemeriksaan.

##### a. Penentuan kadar *GPT*

Penentuan kadar *GPT* dilakukan dengan metode Bergmeyer

Pipetkan campuran reagen *GPT* 2 ml dan plasma 0,2 ml ke dalam kuvet, kemudian dicampur dengan baik. Setelah satu menit dibaca. Pembacaan ini dilakukan pada panjang gelombang 339 nm.

##### b. Penentuan kadar MDA

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan metode Epinosa-Mansilla (1993)

#### 1. Pembuatan kurva baku

Dibuat larutan baku malondialdehida dengan kadar 0,2 ; 0,5 ; 1,0 ; 1,5 ; 2,0 ; 2,5 ; 3,0  $\mu\text{M}$ . Kemudian ditambahkan 3 ml larutan TBA 0,2% dan dipanaskan pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 60 menit pada penangas air yang dilengkapi dengan termostat. Ekstraksi dengan 3 ml n-butanol. Serapan diamati pada panjang gelombang 534 nm dan dibuat persamaan garis regresinya.

#### 2. Penetapan kadar malondialdehida dalam darah

Setengah ml serum ditambah 2,5 ml larutan TCA 5%, dan dikocok selama 10 menit dengan vortex kemudian dipusingkan selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Supernatan dibuang dan endapan dicuci dengan menggunakan 2,5 ml larutan asam sulfat 0,05 M. Endapan yang sudah dicuci ditambah 2,5 ml larutan asam sulfat 0,05 M dan ditambah 3 ml larutan TBA 0,2% dan kocok selama 10 menit. Sampel dipanaskan pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 60 menit. Dinginkan dan ekstraksi dengan 3 ml n-butanol dan kemudian serapannya diukur pada 534 nm. Kadar dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi.

#### 4.7.2.2 Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi dengan metode Harris (Gridley, 1960)

Tahapan pembuatan sediaan

##### 1. Fiksasi

Jaringan hati setebal kurang dari 0,5 cm dimasukkan ke dalam larutan formalin 10 % selama 24 jam

## 2. Pemrosesan jaringan

Dilakukan secara otomatis dengan alat *autotechnicon* selama 24 jam.

Tahap pemrosesan :

- Dehidrasi dengan alkohol 70 %, 96 %, dan 100 %.
- Penjernihan dengan xylol.
- Pengerasan dengan parafin.
- Pembuatan blok parafin.

## 3. Pemotongan jaringan

Dilakukan dengan pisau mikrotom dengan ketebalan 6-7 micron. Pemotongan jaringan dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu 30-60 °C sehingga parafin larut. Kemudian dipilih yang baik, diletakkan di atas gelas slide dan didiamkan sampai kering atau dimasukkan dalam inkubator.

## 4. Pewarnaan jaringan

Pewarnaan yang digunakan adalah hematoxylin eosin metode "Harris" dengan tahapan sebagai berikut:

- |                  |         |
|------------------|---------|
| -Xylol I         | 2 menit |
| -Xylol II        | 2 menit |
| -Alkohol absolut | 1 menit |
| -alkohol absolut | 1 menit |
| -Alkohol 95 %    | 1 menit |

-Alkohol 95%	1 menit
-Air kran	4 celupan
-Larutan hematoxylin	15 menit
-Air kran	4 celupan
-Acid alcohol 1 %	3-10 celupan
-Air kran	4 celupan
-Larutan amonia air	4 celupan
-Aquadest	15 menit
-Larutan eosin	15 detik – 2 menit
-Alkohol 95 %	1 menit
-Alkohol 95 %	1 menit
-Alkohol absolut	1 menit
-Alkohol absolut	1 menit
-Xylol I	2 menit
-Xylol II	2 menit
-Xylol III	2 menit

Dikeluarkan dari Xylol III langsung tetesi dengan egg albumin dan ditutup dengan gelas penutup.

#### 4.8 Analisis Data

Data yang terkumpul dari pemeriksaan MDA, *GPT* serum dianalisis dengan analisis varian. Bila terdapat perbedaan diantara kelompok

perlakuan, dilanjutkan dengan uji *LSD* (*least significant difference*). Pemeriksaan histopatologis diuji dengan statistik non parametrik (Kruskal Wallis) apabila ada perbedaan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney U test* (Steel dan Torrie, 1991).



## BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN

### 5.1. Hasil Penelitian

#### 5.1.1. Kadar MDA Serum

Hasil penelitian mengenai kadar MDA serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  dapat dilihat pada tabel 5.1.

Adapun penghitungan kadar MDA serum dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 5.1. Kadar MDA serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  yang diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 534 nm

Ulangan	Kadar MDA Serum (nmol/ml)				
	Kel. A	Kel. B	Kel. C	Kel. D	Kel. E
1	0,460	0,781	0,781	0,519	0,413
2	0,424	0,805	0,841	0,579	0,424
3	0,484	0,745	0,817	0,496	0,460
4	0,377	0,793	0,793	0,555	0,484
5	0,448	0,769	0,817	0,603	0,508
6	0,377	0,769	0,745	0,555	0,436
7	0,377	0,817	0,769	0,531	0,448
8	0,460	0,805	0,757	0,591	0,448

Keterangan :

A = Kontrol negatif

B = Kontrol positif

C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan

D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan

E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

### 5.1.2. Kadar GPT serum

Hasil pengukuran kadar GPT serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  yang diukur secara spektrofotometri dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Kadar GPT serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dan  $\text{CCl}_4$  dan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 339 nm

Ulangan	Kadar GPT serum ( u/l)				
	Kel. A	Kel. B	Kel. C	Kel. D	Kel. E
1	46	57	59	44	47
2	38	64	63	43	46
3	46	66	60	44	39
4	36	64	56	47	42
5	37	67	59	51	44
6	39	59	61	49	39
7	37	65	60	45	38
8	36	59	57	47	38

Keterangan :

A = Kontrol negatif

B = Kontrol positif

C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan

D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan

E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

### 5.1.3. Perubahan histopatologi sel hati

Hasil pemeriksaan histopatologi sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi  $\text{CCl}_4$  pada kelompok kontrol negatif (kelompok A) terjadi *cloudy swelling*, kelompok kontrol positif (kelompok B) terjadi

degenerasi *massive* dan nekrosis *massive* kelompok yang diberi sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan (kelompok C) terjadi degenerasi sentrilobuler, degenerasi *massive* dan nekrosis *massive*, kelompok yang diberi sari bawang putih dosis 5 g/kg berat badan (kelompok D) terjadi degenerasi sentrolibuler, degenerasi *massive*, nekrosis *focal*, nekrosis *massive*, kelompok E yang diberi 10 g/kg berat badan terjadi *cloudy swelling* dan nekrosis fokal. Hasil pengamatan rata-rata perubahan histopatologis sel hati yang dievaluasi dengan skor empiris dapat dilihat pada tabel 5.3. dan lampiran 4.

Tabel 5.3 Perubahan sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

Ulangan	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
1	1	8	8	6	1
2	1	8	8	6,4	1
3	1	8	8	6	1
4	1	8	8	6	1
5	1	8	8	6,8	1,8
6	1	8	8	6	1
7	1	8	6,8	6	1
8	1	8	8	6	1

Keterangan :

A = Kontrol negatif

B = Kontrol positif

C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan

D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan

E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

## 5.2. Analisis Hasil Penelitian

### 5.2.1 Kadar MDA Serum

Hasil analisis data kadar MDA serum tikus putih yang diberi bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  dengan Anava (*analysis of variance*) dan dilanjutkan dengan LSD (*least significant difference*) dapat dilihat pada lampiran 5, sedangkan rata-rata dan simpangan baku pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Rata-rata kadar MDA serum tikus putih yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

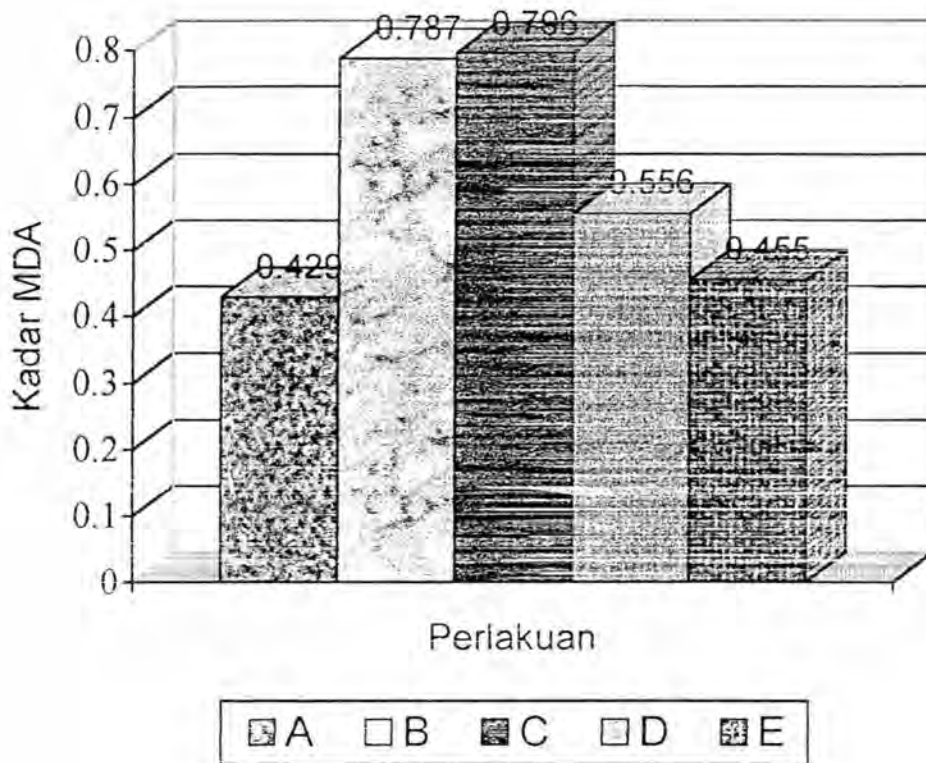
	Perlakuan				
	A	E	D	B	C
Rata-rata	0,426 <sup>a</sup>	0,453 <sup>a</sup>	0,554 <sup>b</sup>	0,785 <sup>c</sup>	0,790 <sup>c</sup>
SD	0,044	0,031	0,037	0,024	0,033

Nilai rata-rata pada baris sama yang diikuti dengan superskrip berbeda, berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Keterangan :

- A = Kontrol negatif
- B = Kontrol positif
- C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan
- D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan
- E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

Rata-rata kadar MDA serum pada tabel 5.3 dapat digambarkan sebagai grafik histogram pada gambar 5.1



Gambar 5.1 grafik rata-rata kadar MDA serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

Keterangan :

- A = Kontrol negatif
- B = Kontrol positif
- C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan
- D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan
- E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan



### 5.2.2 Kadar GPT Serum

Hasil analisis data kadar GPT serum tikus putih yang diberi bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  dengan Anava (*analysis of variance*) dan

dilanjutkan dengan uji LSD (*least significant difference*) dapat dilihat pada lampiran 6 , sedangkan rata-rata dan simpangan baku pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Rata-rata kadar GPT serum tikus putih yang diberi bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

	Perlakuan				
	A	E	D	B	C
Rata-rata	39,375 <sup>a</sup>	41,625 <sup>a</sup>	46,250 <sup>b</sup>	62,625 <sup>c</sup>	59,375 <sup>c</sup>
SD	4,207	3,662	2,765	3,73	2,200

Nilai rata-rata pada baris sama yang diikuti dengan superskrip berbeda, berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

Keterangan :

A = Kontrol negatif

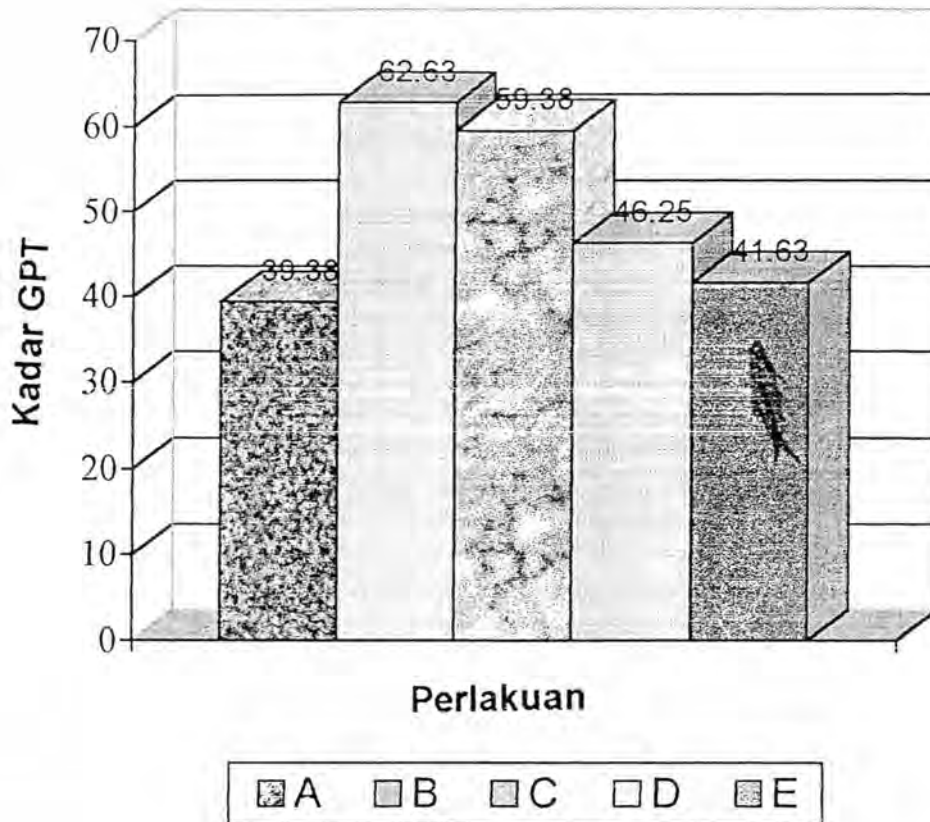
B = Kontrol positif

C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan

D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan

E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

Rata-rata GPT serum pada tabel 5.5 dapat digambarkan sebagai grafik histogram pada gambar 5.2.



Gambar 5.2 Grafik rata-rata kadar GPT serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

Keterangan :

A = Kontrol negatif

B = Kontrol positif

C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan

D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan

E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

### 5.2.3 Perubahan Histopatologi Sel Hati

Hasil pengamatan yang dievaluasi dengan skor empiris dan analisis data histopatologi sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$  yang diuji dengan uji Kruskal Wallis.

Hasil pengamatan perubahan sel hati tikus pada tabel 5.3 kemudian diberi *rank* dalam satu susunan seri. Skor terkecil terdapat pada perlakuan A dan E yaitu 1 dan diberi *rank* 8. Skor terbesar terdapat pada perlakuan B dan C yaitu 8, skor ini diberi *rank* 33 seperti tampak pada tabel 5.6. Analisis data perubahan histopatologi sel hati ini dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 5.6 *Rank* perubahan sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

Ulangan	Perlakuan				
	A	B	C	D	E
1	8	33	33	19,5	8
2	8	33	33	23	8
3	8	33	33	19,5	8
4	8	33	33	19,5	8
5	8	33	33	24,5	16
6	8	33	33	19,5	8
7	8	33	24,5	19,5	8
8	8	33	33	19,5	8

Keterangan :

A = Kontrol negatif

B = Kontrol positif



C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan

D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan

E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

Berdasarkan tabel 5.6 diperoleh :

H = 33,776

DF = 4

P = 8,285E-07

Maka dapat disimpulkan bahwa skor tersebut berbeda sangat nyata ( $p < 0,01$ ) sehubungan dengan kelompok perlakuan.

Untuk membandingkan masing-masing kelompok perlakuan diuji dengan Mann-Whitney U test dan diperoleh hasil perhitungan Z dan P seperti terlampir pada lampiran 7.

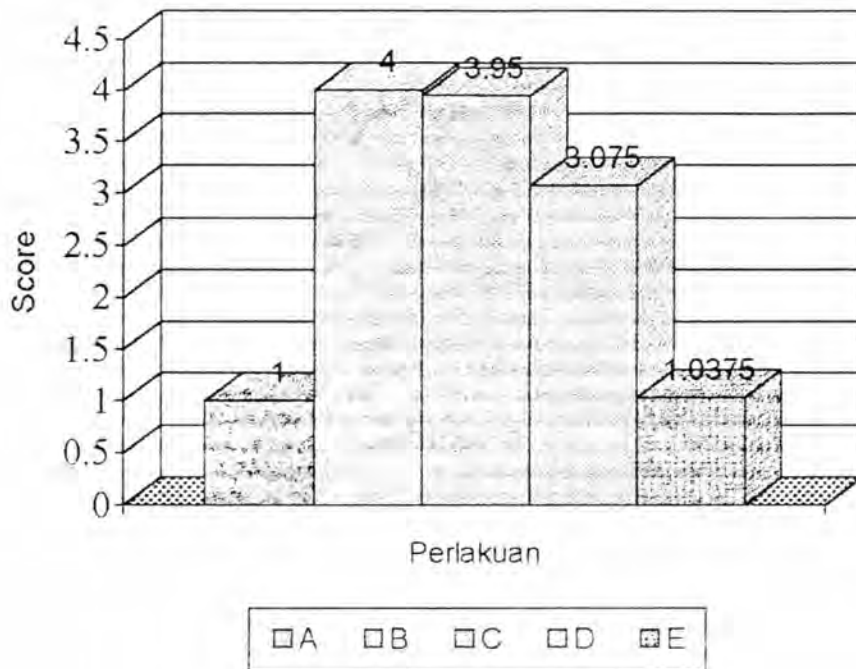
Rata-rata perubahan histopatologi sel hati tikus yang diberi sari bawang putih dan diinduksi  $\text{CCl}_4$  dapat dilihat pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Rata-rata perubahan histopatologi sel hati tikus yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$ .

	Perlakuan				
	A	E	D	C	B
Rata-rata	1 <sup>a</sup>	1,0375 <sup>a</sup>	3,075 <sup>b</sup>	3,95 <sup>c</sup>	4 <sup>c</sup>

Superskrip yang berbeda antar kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Rata-rata perubahan histopatologi sel hati tikus yang digambarkan sebagai grafik histogram pada gambar 5.3



Gambar 5.3 Grafik rata-rata perubahan histopatologi sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$

Keterangan :

- A = Kontrol negatif
- B = Kontrol positif
- C = Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan
- D = Sari bawang putih 5 g/kg berat badan
- E = Sari bawang putih 10 g/kg berat badan

## BAB 6 PEMBAHASAN

### 6.1. Kadar MDA Serum

Pemeriksaan kadar MDA serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dosis 10 g/kg berat badan (kelompok E) ternyata menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (kelompok A). Pemberian sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C) menunjukkan hasil pemeriksaan MDA serum yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (kelompok B) ( $p < 0,05$ ). Pada tikus yang diberi sari bawang putih 5 g/kg berat badan (kelompok D) hasil pemeriksaan serumnya berbeda nyata dengan semua kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan, kelompok pemberian sari bawang putih 10 g/kg berat badan ( $p < 0,05$ ). Hal ini tampak pada lampiran 5.

Jika dilihat pada gambar 5.1 hasil pemeriksaan MDA serum tikus putih kelompok pemberian sari bawang putih 5 g/kg berat badan (kelompok D) menampakkan kenaikan kadar MDA serum dibandingkan kelompok kontrol negatif (kelompok A) dan kelompok pemberian sari bawang putih 10 g/kg berat badan. Apabila dibandingkan dengan kontrol positif dan kelompok pemberian sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C), kelompok D tersebut memberi hasil kadar MDA yang lebih rendah. Kelompok pemberian

sari bawang putih 5 g/kg berat badan sedikit menurunkan kadar MDA serum tikus yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$ .

Terlihat dari pengamatan kadar MDA serum tersebut bahwa pemberian sari bawang putih dosis 10 g/kg berat badan dapat menurunkan kadar MDA serum tikus putih yang diinduksi dengan  $\text{CCl}_4$ , sedangkan pemberian sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan tidak dapat menurunkan kadar MDA serum tikus.

Berdasarkan pemeriksaan MDA serum dapat dikatakan bahwa sari bawang putih pada dosis 10 g/kg berat badan bersifat sebagai antioksidan, karena dapat menurunkan kadar MDA serum. Sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan tidak bersifat sebagai antioksidan, sedangkan dosis 5 g/kg berat badan belum bersifat sebagai antioksidan.

## 6.2. Kadar GPT Serum

Kadar GPT serum tikus putih yang diberi sari bawang putih dosis 10 g/kg berat badan (kelompok E) nampak tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (kelompok A). Hal ini dapat dilihat pada lampiran 6. Pemberiaan sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan, ternyata tidak berbeda nyata dengan kontrol positif (kelompok B) ( $p < 0,05$ ). Pada dosis 5 g/kg berat badan sari bawang putih (kelompok D) berbeda nyata dengan semua kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (kelompok A), kontrol positif

(kelompok B), sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C), sari bawang putih 10 g/kg berat badan (kelompok E) ( $p < 0,05$ ).

Pada gambar 5.2 terlihat kadar GPT serum tikus putih yang diberi sari bawang putih 5 g/kg berat badan (kelompok D) memperlihatkan hasil yang lebih kecil daripada kelompok tikus yang diberi sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C) dan kelompok kontrol positif (kelompok B). Jika dibandingkan dengan kelompok pemberian sari bawang putih 10 g (kelompok E) dan kelompok kontrol negatif (kelompok A) maka kelompok D memberikan hasil kadar GPT serum yang lebih besar.

Pengamatan kadar GPT serum di atas nampak bahwa kelompok sari bawang putih 10 g/kg berat badan (kelompok E) dapat menurunkan kadar GPT serum tikus putih yang diinduksi dengan  $CCl_4$ , sedangkan kelompok pemberian sari bawang putih 2,5 mg/kg berat badan (kelompok C) tidak dapat menurunkan kadar GPT serum. Demikian pula kelompok sari bawang putih 5 g/kg berat badan (kelompok D) ternyata belum dapat menurunkan kadar GPT serum.

Berdasarkan pengamatan kadar GPT serum, sari bawang putih 10 g/kg berat badan (kelompok E) dapat bersifat sebagai antioksidan karena dapat menurunkan kadar GPT serum. Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C) tidak bersifat sebagai antioksidan, sedangkan kelompok sari bawang putih 5 g/kg berat badan (kelompok D) belum bersifat sebagai antioksidan.

### 6.3. Histopatologi Sel Hati.

Hasil pemeriksaan histopatologi sel hati kelompok pemberian sari bawang putih 10 g/kg berat badan (kelompok E) ternyata tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (kelompok A) ( $p < 0,05$ ). Kelompok pemberian sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C) memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif (kelompok B) ( $p < 0,05$ ). Pada kelompok pemberian sari bawang putih 5 g/kg berat badan (kelompok D) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan semua kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (kelompok A), kelompok kontrol positif (kelompok B), kelompok sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C), kelompok sari bawang putih 10 g/kg berat badan (kelompok E) ( $p < 0,01$ ). Perubahan histopatologi dapat ini dapat digambarkan pada gambar 5.3.

Berdasarkan pemeriksaan histopatologi sel hati, pemberian sari bawang putih 10 g/kg berat badan (kelompok E) ternyata dapat mencegah nekrosis sentrilobuler. Hal ini dapat dibuktikan dengan membandingkannya dengan kelompok kontrol negatif (kelompok A). Dosis 2,5 g/kg berat badan sari bawang putih (kelompok C) memberikan gambaran nekrosis sentrilobuler yang sama beratnya dengan kelompok kontrol positif (kelompok B). Pada dosis 5 g/kg berat badan sari bawang putih (kelompok D) menunjukkan nekrosis sentrilobuler yang lebih ringan dari kelompok sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan (kelompok C).

Atas dasar pemeriksaan perubahan histopatologi sel hati maka dapat dikatakan bahwa sari bawang putih dosis 10 g/ kg berat badan (kelompok E) dapat bersifat sebagai antioksidan yang dibuktikan dengan terjadinya pencegahan nekrosis sentrilobuler pada tikus yang diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>. Sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan (kelompok C) tidak bersifat sebagai antioksidan, pada dosis tersebut sari bawang putih tidak dapat mencegah terjadinya nekrosis sentrilobuler. Demikian pula dengan sari bawang putih 5 g/kg berat badan yang belum dapat bersifat sebagai antioksidan.

#### **6.4. Kadar Bawang Putih Yang Masih Mempunyai Sifat Sebagai Antioksidan**

Berdasarkan pemeriksaan MDA serum, GPT serum dan histopatologis sel hati ketiga perlakuan tersebut nampak bahwa dosis 10 g/kg berat badan sari bawang putih bersifat sebagai antioksidan, tetapi pada dosis 2,5 g/kg berat badan tidak bersifat sebagai antioksidan dan dosis 5 g/kg berat badan belum bersifat sebagai antioksidan.

Mekanisme terjadinya pencegahan nekrosis sentrilobuler pada dosis 10 g/kg berat badan, diduga disebabkan oleh modifikasi oksidatif DNA, protein, dan lipid yang dilakukan oleh kandungan bawang putih yang bersifat antioksidan (Borek, 2001). Pembentukan triklorometil radikal pada sitokrom P-450 yang menyebabkan terjadinya serangkaian reaksi rantai dapat dicegah oleh komponen antioksidan sari bawang putih. Pencegahan pembentukan

radikal tersebut dengan cara menekan unsur-unsur kimia yang menginduksi ekspresi sitokrom P-450 (Glitlin, 1990 ; Kim, 2001). Ekspresi m-RNA yang menginduksi terbentuknya enzim-enzim sitokrom P-450 ditekan sehingga radikal tidak terbentuk. Dengan kata lain komponen yang bersifat antioksidan dalam sari bawang putih mengontrol transkripsi DNA ke RNA sehingga ekspresi tidak terjadi (Albert, 1994).

Diallyl sulfide (DAS) yang terkandung dalam sari bawang putih pada sitokrom P-450 dikonversi menjadi diallyl sulfoxide (DASO) dan diallyl sulfone (DASO<sub>2</sub>). Ketiga komponen ini merupakan inhibitor bunuh diri sitokrom P-450, sehingga dapat mengurangi toksisitas akibat radikal yang melalui jalur sitokrom P-450, termasuk toksisitas akibat radikal triklorometil. Dallyl sulfide juga menunjukkan induksi enzim detoksifikasi fase 2. Efek proteksi sari bawang putih tersebut dapat terjadi setelah perlakuan (Yang, 2001). Allyl sulfide merupakan kemoprefentif terhadap hepatotoksisitas dengan mengubah aktivitas enzim detoksifikasi fase 1 dan 2 (Kim, 2001). Pada dosis 10 g/kg berat badan sari bawang putih ini bersifat kemopreventif terhadap hepatotoksisitas dengan mengubah aktivitas enzim-enzim detoksifikasi fase 1 dan fase 2 melalui pengontrolan transkripsi DNA.

Pada dosis 2,5 g/kg berat badan sari bawang putih tidak bersifat antioksidan. Diduga pada dosis tersebut tidak mengubah kontrol ekspresi DNA ke RNA, sehingga transkripsi dan translasi tetap berjalan untuk menghasilkan enzim-enzim pada sistem sitokrom P-450 yang merupakan



enzim detoksifikasi fase 1. Radikal triklorometil tetap dihasilkan karena sistem sitokrom P-450 tetap bekerja kemudian menghasilkan peroksidasi lipid yang akhirnya terjadilah nekrosis sentrilobuler.

Sari bawang putih dosis 5 g/kg berat badan belum dapat bersifat antioksidan tetapi mempunyai efek anti nekrosis yang lebih besar daripada dosis 2,5 g/kg berat badan. Mekanisme terjadinya kadar MDA serum yang lebih rendah, kadar GPT serum yang lebih rendah dan efek nekrosis yang lebih ringan daripada sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan diduga pada dosis tersebut tidak cukup untuk untuk mengubah kontrol ekspresi DNA ke RNA sehingga transkripsi dan translasi tetap berjalan sebagian untuk menghasilkan enzim-enzim pada sistem sitokrom P-450 yang merupakan enzim detoksifikasi fase 1. Hal tersebut mengakibatkan radikal triklorometil masih tetap terbentuk tetapi tidak sebanyak seperti pada sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan.

## BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

### 7.1 Kesimpulan

1. Bawang putih dapat mencegah terjadinya kerusakan hati yang ditandai dengan pencegahan nekrosis sentrilobuler, pencegahan peningkatan kadar MDA dan GPT serum pada tikus putih yang diinduksi  $\text{CCl}_4$ .
2. Dosis tertentu bawang putih efektif sebagai antioksidan dan hepatoprotektor

### 7.2 SARAN

Bawang putih dapat digunakan sebagai obat pencegah kerusakan hati yang penyebabnya adalah oksidan ataupun radikal bebas dimana mekanisme pembentukan oksidan dan radikal bebas tersebut melalui sistim sitokrom P-450.

## DAFTAR PUSTAKA

Albert B, Bray D, Julian L, Raff M, Roberts K, Watson JD. 1994. Molecular Biology of The Cell. 3<sup>th</sup> Edition. Garland Publishing, Inc. New York & London. pp 402-404

Atal CK, Kapur BM. 1982. Cultivation and utilization of aromatic plants, Regional research laboratory, Council of Scientific and Industrial Research. Jamu tawi India, pp 561,744

Bast A, Haenen GRMM, Doelman CJA. 1991. Oxidant and Antioxidants: State of The Art. The American Journal of Medicine. Volume 91 (suppl 3C). 3C-2S

Baron DL. 1984. **Kapita Selekt Patologi Klinik**. Edisi 4. Buku Kedokteran ECG.

Berdanier CD, Hargrove JL. 1993. Nutrition and Gene Expression. Florida: CRC Press. p 2

Block E, Ahmad S, Jain MK, Crecey RW, Apitz-Castro R, Cruz MR. 1984. **J. Am. Chem Soc.** **106**, p 8295

Borek C. 2001. Antioxidant Health Effect of Aged Garlic Extract. Journal of Nutrition. American Society for Nutritional Sciences. 131: 1010S-1015S

Bowman, Rand. 1980. The liver: Hepatic function and affecting the liver. Textbook of Pharmacology, 2<sup>nd</sup> edition. Blackwell Scientific Publication, Oxford London, 1980, p 261

Cavalillito CJ, Bailey CH. 1989. Protection of liver microsomal Membranes from lipid peroxidation by garlic extract. **Planta Medica** **55**, pp 506-508

Contran RS, Kumar V, Robbins SL. 1989. Robbins Pathologic Basis of Disease. 4<sup>th</sup> Edition. W.B. Saunders Company, pp13-28

Doxey DL. 1971. The liver Clinical Patology. 1<sup>st</sup>.Edition. Bailliere Tindal, London, pp 55-70

Eckner MM, Erdelmeier CAJ, Sticher O and Reuter HD. 1993. A novel amino acid glycoside and three amino acid from *Alium sativum* L. **J.Nat Prod.** **56**, 864-869

Epinosa-Mansilla A, et al, 1993. Determination of malondialdehyde in the 2-thiobarbituric acid reaction. *Analyst*; 118 (1), pp 89-95

Fromtling RA, Bulmer GS. 1978. In vitro effect of aqueous extract of garlic (*Allium sativum*) on growth and viability of *Cryptococcus neoformans*. *Index Medicus*. 70, pp 397-405

Gitlin N. 1990. Clinical aspect of liver diseases caused by industrial and environmental toxin. *Hepatology* 12. 2<sup>nd</sup> Edition, WB. Saunders Company, p 791

Gridley MF. 1960. Manual of Histologic and special staining technics, 2<sup>nd</sup> Edition. Mc Graw Hill Book Company inc, New York.

Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3<sup>rd</sup> Edition. Oxford University Press Inc., New York, p 407

Handali S. 1988. Khasiat bawang putih (*Allium sativum*) dalam dunia kesehatan. *Medica* 7, hal 648

Hensel R. 1991. *Phytopharmaka (Grundlagen und Praxis) 2 Aufl.* Springer Verlag, Berlin, pp 192-198

Horie T, Murayama T, Mishima T, Itoh F, Minamide Y, Fuwa T and Awazu S. 1988. Protection of liver microsomal membranes from lipid peroxidation by garlic extract. *Planta Medica* 55, p 506

Horie T, Awazu S, Itakura Y, Fuwa T. 1991. Identified diallyl polysulfides from an aged garlic extract which protect the membranes from lipid peroxidation. *Planta Medica* 58, pp 468-469

Ide N., Lau BHS. 2001. Garlic Compounds Minimize Intracellular Oxidative Stress and Inhibit Nuclear Factor-B Activation. *Journal of Nutrition*. The American Society for Nutritional Sciences, 131: 1020S-1026S

Liang HO, Purwanto A, Sadikin M, Siswojo SK. 1991. Uji toksisitas dan aktivitas biologik ekstrak bawang putih. *Germin Dunia Kedokteran* 73, hlm 28

Loegito M, 1991. Pengaruh vitamin C dan aflatoksin B1 terhadap penampilan struktur histologis hepar dan ginjal anak itik. Tesis, Pascasarjana, Universitas Airlangga. Surabaya

Mc Carthy. 1991. Investigation of consequences of free radical attack on lipids. **Laboratory technique in biochemistry and molecular biology Vol. 22**. Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, Netherlands, p 142

Moriguchi T, Takasugi N, Itakura Y. 2001. The Effect of Aged Garlic Extract on Lipid Peroxidation and the Deformability of Erythrocytes. *Journal of Nutrition. The American Society for Nutritional Sciences.* 131 : 1016S- 1019S

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 1997. *Harper's Biochemistry. Twenty-fourth edition* . Appleton & Lange, p 263

Nagae S, Ushijima M, Hatono S, Imai J Kasuga S, Matsuura H *et al.*, (1993). Pharmacokinetics of the garlic compound S-Allylcysteine. *Planta Medica* 60, pp 214-217

Palmer T. 1991. **Understanding Enzymes**. 3<sup>rd</sup> Edition. Ellis Horwood Limited, England, pp 346-348

Premdas PD, Bowers RJ, Forkert PG. 2000. Inactivation of Hepatic CYP2E1 by an Epoxide of Diallyl Sulfone. Vol. 293 Issue 3, June 2000, pp 1112-1120

Purseglove JW. 1985. **Tropical crops: monocotyledons**. English Language Book Society, Longman Singapore Publisher Ltd, Singapore.

Sadikin M, Jusman SWA, Harahap IP. 1995. Potensi hepatoprotektif bawang-bawangan. **Seminar Nasional XII Perhimpunan Biokimia Dan Biologi Molekuler Indonesia**, Denpasar, hlm 14

Saynor R. 1995. **The garlic effect**. Hodder and Stoughton. Great Britain, London, p 72

Stecher PG. 1968. **The Merck Index, an Encyclopedia of chemical and drugs**. Merck and Co Inc, USA, pp 31-32, 472

Steel RGD, Torie J. 1991. **Prinsip dan prosedur statistika suatu pendekatan biometrik**, Alih bahasa Bambang Sumantri, Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

Suryohudoyo P. 1995. **Oksidan, antioksidan dan radikal bebas**. Kongres Nasional VI, Himpunan Kimia Klinik Indonesia, Surabaya.

Timbrell JA. 1994. **Principles of biochemical toxicology**. Burgess Science Press, Basingstoke, Hants, Great Britain, p 297

Watt JM and Breyer-Bandwijk MG. 1962. **The medicine and poisonous plants of Southern and Eastern Africa**, 2<sup>nd</sup> Edition. ES Livingstones Ltd, London, pp 674-679

Wati A. 1995. Potensi sari bawang putih (*Allium sativum*) pada penghambatan kenaikan kadar peroksidasi lipid dalam hati tikus yang diracuni dengan CCL4. **Proseding Simposium Bahan Obat Alami VIII**, hlm 413-416

Wijaya A. 1996. **Radikal bebas dan parameter status antioksidan**. Forum Diagnostikum. Prodia Diagnostik Educational Service, hlm 2

Yang CS, Chhabra SK, Hong JY, Smith TJ. 2001. Mechanism of Inhibition of Chemical Toxicity and Carcinogenesis by Diallyl Sulfide (DAS) and Related Compounds from Garlic. *Journal of Nutrition*. The American Society for Nutritional Science, 131:1041S-1045S

Zakim D, Boyer TD. 1990. **Hepatology**. 2<sup>nd</sup> Edition WB. Saunders Company, p 756



### Lampiran 1. Bagan pembuatan sari bawang putih



Ditambah *aquadestilata* sampai 500 ml

Keterangan :

1 g bawang putih setara dengan 1 ml sari bawang putih

## Lampiran 2 Bagan prosedur penelitian

Perlakuan	Hari										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
A	P	P	P	P	P	P	P	P	L	--	S
B	P	P	P	P	P	P	P	P	CCl <sub>4</sub>	--	S
C	B1	B1	B1	B1	B1	B1	B1	B1	CCl <sub>4</sub>	--	S
D	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	B2	CCl <sub>4</sub>	--	S
E	B3	B3	B3	B3	B3	B3	B3	B3	CCl <sub>4</sub>	--	S

## Keterangan

- B1 : Pemberian 2,5 ml sari bawang putih dosis 2,5 g/kg berat badan  
 B2 : Pemberian 2,5 ml sari bawang putih dosis 5 g/kg berat badan  
 B3 : Pemberian 2,5 ml sari bawang putih dosis 10 g/kg berat badan  
 CCl<sub>4</sub> : Pemberian 2,5 ml CCl<sub>4</sub> dosis 0,55 g/ kg berat badan  
 S : Pengambilan sampel  
 P : Pemberian 2,5 ml pelarut sari bawang putih  
 L : Pemberian 2,5 ml pelarut CCl<sub>4</sub>



Lampiran 3. Perhitungan kadar MDA serum darah

HEADER DATA FOR: B:1 LABEL:  
 NUMBER OF CASES: 14 NUMBER OF VARIABLES: 2

	MDA	ABS
1	.2	.012
2	.2	.013
3	.5	.038
4	.5	.044
5	1.0	.095
6	1.0	.090
7	1.5	.136
8	1.5	.132
9	2.0	.159
10	2.0	.162
11	2.5	.213
12	2.5	.198
13	3.0	.253
14	3.0	.260

----- REGRESSION ANALYSIS -----

HEADER DATA FOR: B:1 LABEL:  
 NUMBER OF CASES: 14 NUMBER OF VARIABLES: 2

INDEX	NAME	MEAN	STD.DEV.
1	MDA	1.5286	.9949
DEP. VAR.:	ABS	.1289	.0840

DEPENDENT VARIABLE: ABS

VAR.	REGRESSION COEFFICIENT	STD. ERROR	T(DF= 12)	PROB.
MDA	.0841	.0021	40.043	.00000
CONSTANT	3.54130E-04			

STD. ERROR OF EST. = .0075

r SQUARED = .9926  
 r = .9963

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE

SOURCE	SUM OF SQUARES	D.F.	MEAN SQUARE	F RATIO	PROB.
REGRESSION	.0910	1	.0910	1603.418	2.000E-14
RESIDUAL	6.81401E-04	12	5.67834E-05		
TOTAL	.0917	13			

File name: 1

	1	2
1	1	.46
2	1	.424
3	1	.484
4	1	.377
5	1	.448
6	1	.377
7	1	.377
8	1	.46
9	2	.781
10	2	.805
11	2	.745
12	2	.793
13	2	.769
14	2	.769
15	2	.817
16	2	.805
17	3	.781
18	3	.841
19	3	.817
20	3	.793
21	3	.817
22	3	.745
23	3	.769
24	3	.757
25	4	.519
26	4	.579
27	4	.496
28	4	.555
29	4	.603
30	4	.555
31	4	.531
32	4	.591
33	5	.413
34	5	.424
35	5	.46
36	5	.484
37	5	.508
38	5	.436
39	5	.448
40	5	.448

## Keterangan :

1-8 : Kelompok A (kontrol negatif)

9-16 : Kelompok B (kontrol positif)

17-24 : Kelompok C (sari bawang  
putih 2,5 g/kg berat badan)25-32 : Kelompok D (sari bawang  
putih 5 g/kg berat badan)33-40 : Kelompok E (sari bawang  
putih 10 g/kg berat badan)

### Lampiran 4 : Perubahan sel hati tikus yang dievaluasi dengan kriteria skor empiris

#### Perlakuan A (kontrol negatif)

Ulangan	Lapangan Pandang	Tingkat Perubahan					Skor	Rata-rata Skor
		CS	DS	DM	NF	NM		
1	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
2	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
3	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
4	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
5	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
6	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
7	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
8	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
Rata-rata							1	

## Perlakuan B (kontrol positif)

Replikasi	Lapangan Pandang	Tingkat Perubahan					Skor	Rata-rata skor
		CS	DS	DM	NF	NM		
1	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
2	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
3	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
4	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
5	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
6	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
7	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
8	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
Rata-rata							4	

## Perlakuan C (sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan)

Replikasi	Lapangan Pandang	Tingkat Perubahan					Skor	Rata-rata Skor
		CS	DS	DM	NF	NM		
1	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
2	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
3	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
4	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
5	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
6	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
7	1	-	-	3	-	5	4	3,6
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	2	-	-	-	2	
	5	-	-	3	-	5	4	
8	1	-	-	3	-	5	4	4
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	-	3	-	5	4	
	5	-	-	3	-	5	4	
Rata-rata							3,95	

## Perlakuan D (sari bawang putih 5 g/kg berat badan)

Replikasi	Lapangan pandang	Tingkat Perubahan					Skor	Rata-rata skor
		CS	DS	DM	NF	NM		
1	1	-	2	-	4	-	3	3
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
2	1	-	2	-	4	-	3	3,2
	2	-	-	3	-	5	4	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
3	1	-	2	-	4	-	3	3
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
4	1	-	2	-	4	-	3	3
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
5	1	-	-	3	-	5	4	3,4
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	-	3	-	5	4	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
6	1	-	2	-	4	-	3	3
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
7	1	-	2	-	4	-	3	3
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
8	1	-	2	-	4	-	3	3
	2	-	2	-	4	-	3	
	3	-	2	-	4	-	3	
	4	-	2	-	4	-	3	
	5	-	2	-	4	-	3	
Rata-rata								3,075

## Perlakuan E (sari bawang putih 10 g/kg berat badan)

Replikasi	Lapangan Pandang	Tingkat Perubahan					Skor	Rata-rata skor
		CS	DS	DM	NF	NM		
1	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
2	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
3	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
4	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
5	1	1	-	-	-	-	1	1,3
	2	1	-	-	4	-	2,5	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
6	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
7	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
8	1	1	-	-	-	-	1	1
	2	1	-	-	-	-	1	
	3	1	-	-	-	-	1	
	4	1	-	-	-	-	1	
	5	1	-	-	-	-	1	
Rata-rata								1,0375

Gambar 5.4 *Cloudy swelling* pada daerah sentrilobuler hati tikus putih (100 X)

Gambar 5.5 Degenerasi sentrilobuler dan nekrosis fokal pada daerah sentrilobuler hati tikus putih (100 X)



Gambar 5.6 Degenerasi masif dan nekrosis masif pada daerah sentrilobuler hati tikus putih (100 X)



Lampiran 5. Analisis statistik kadar MDA serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>

Single Factor Randomized Design      Data file: 1

Records read:            40  
Missing data:            0  
Useable records:        40

Analysis of Variance

Source	SS	df	MS	F	p
1	0.9975	4	0.2494	210.755	0.000
Error	0.414	35	0.0012		
Total	1.0389	39			

	1	2	3	4	5
n	8	8	8	8	8
mean	0.426	0.785	0.790	0.554	0.453
s.d.	0.044	0.24	0.33	0.037	0.31

LSD Test

\* LSD (.05) = 0.035      \*\* LSD (.01) = 0.047

	1	5	4	2	3
1	-	**	**	**	**
5		-	**	**	**
4			-	**	**
2				-	**
3					-

Keterangan :

1. Kelompok A (Kontrol negatif)
2. Kelompok B (Kontrol positif)
3. Kelompok C (Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan)
4. Kelompok D (Sari bawang putih 5 gr/kg berat badan)
5. Kelompok E (Sari bawang putih 10 gr/kg berat badan)

### Lampiran 6 : Analisis statistik kadar GPT serum darah tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>

Single Factor Randomized Design      Data file: 2

Records read:            40  
Missing data:            0  
Useable records:        40

#### Analysis of Variance

Source	SS	df	MS	F	p
1	3554.1016	4	888.5254	77.167	0.000
Error	403.0000	35	11.5143		
Total	3957.1016	39			

	1	2	3	4	5
n	8	8	8	8	8
mean	39.375	62.625	59.375	46.250	41.625
s.d.	4.207	3.739	2.765	2.200	3.662

#### LSD Test

\* LSD (.05) = 3.447      \*\* LSD (.01) = 4.627

	1	5	4	3	2
1		-	**	**	**
5			*	**	**
4				**	**
3					-

#### Keterangan :

6. Kelompok A (Kontrol negatif)
7. Kelompok B (Kontrol positif)
8. Kelompok C (Sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan)
9. Kelompok D (Sari bawang putih 5 gr/kg berat badan)
10. Kelompok E (Sari bawang putih 10 gr/kg berat badan)

Lampiran 7. Analisis statistik perubahan histopatologis sel hati tikus putih yang diberi sari bawang putih dan diinduksi dengan  $CCl_4$

HEADER DATA FOR: B:2

NUMBER OF CASES: 40

LABEL:

NUMBER OF VARIABLES: 1

	RANK
1	8.0
2	8.0
3	8.0
4	8.0
5	8.0
6	8.0
7	8.0
8	8.0
9	33.0
10	33.0
11	33.0
12	33.0
13	33.0
14	33.0
15	33.0
16	33.0
17	33.0
18	33.0
19	33.0
20	33.0
21	33.0
22	33.0
23	24.5
24	33.0
25	19.5
26	23.0
27	19.5
28	19.5
29	24.5
30	19.5
31	19.5
32	19.5
33	8.0
34	8.0
35	8.0
36	8.0
37	16.0
38	8.0
39	8.0
40	8.0

Keterangan :

- 1-9 : Kelompok A (kontrol negatif)
- 9-17 : Kelompok B (kontrol positif)
- 17-25 : Kelompok C (sari bawang putih 2,5 g/kg berat badan)
- 25-33 : Kelompok D (sari bawang putih 5 g/kg berat badan)
- 33-41 : Kelompok E (sari bawang putih 10 g/kg berat badan)

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:2 LABEL: Skor Hati  
 NUMBER OF CASES: 40 NUMBER OF VARIABLES: 1

## KRUSKAL-WALLIS TEST

Kruskal of Rank Test for Score

VARIABLE TESTED: RANK

H = 33.776 D.F. = 4 PROB. = 8.285E-07

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

## MANN-WHITNEY U TEST

Uji Z untuk Trial A vs B

VARIABLE TESTED: 1v2

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 36 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 100 N2 = 8

Z = -3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

## MANN-WHITNEY U TEST

Uji Z untuk Trial A vs C

VARIABLE TESTED: 1v3

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 36 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 100 N2 = 8

Z = -3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

**MANN-WHITNEY U TEST**

Uji Z untuk Trial A vs D

VARIABLE TESTED: 1v4

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 36 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 100 N2 = 8

Z = -3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

**MANN-WHITNEY U TEST**

Uji Z untuk Trial A vs E

VARIABLE TESTED: 1v5

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 64 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 72 N2 = 8

Z = -.420, PROB. = .3372

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

**MANN-WHITNEY U TEST**

Uji Z untuk Trial B vs C

VARIABLE TESTED: 2v3

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 72 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 64 N2 = 8

Z = .420, PROB. = .3372

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

MANN-WHITNEY U TEST  
 Uji Z untuk Trial B vs D

VARIABLE TESTED: 2v4

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 100 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 36 N2 = 8

Z = 3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

MANN-WHITNEY U TEST  
 Uji Z untuk Trial B vs E

VARIABLE TESTED: 2v5

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 100 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 36 N2 = 8

Z = 3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
 NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

MANN-WHITNEY U TEST  
 Uji Z untuk Trial C vs D

VARIABLE TESTED: 3v4

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 100 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 36 N2 = 8

Z = 3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

## MANN-WHITNEY U TEST

Uji Z untuk Trial C vs E

VARIABLE TESTED: 3v5

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 100 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 36 N2 = 8

Z = 3.361, PROB. = 3.888E-04

## ----- NONPARAMETRIC TESTS -----

HEADER DATA FOR: A:RANK-S LABEL: Rank Score Hati  
NUMBER OF CASES: 16 NUMBER OF VARIABLES: 10

## MANN-WHITNEY U TEST

Uji Z untuk Trial D vs E

VARIABLE TESTED: 4v5

SUM OF RANKS, GROUP 1 = 100 N1 = 8

SUM OF RANKS, GROUP 2 = 36 N2 = 8

Z = 3.361, PROB. = 3.888E-04