

TESIS

**HEPATOPROTEKTIF PASTA TOMAT TERHADAP
EKSPRESI IL-2, AKTIVASI SEL KUPFFER DAN
NEKROSIS HEPAR MENCIT (*Mus musculus*)
YANG DIPAPAR BORAKS**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



Oleh :

PUPUT ADE WAHYUNINGTYAS

NIM 061814253003

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2019

TESIS

**HEPATOPROTEKTIF PASTA TOMAT TERHADAP
EKSPRESI IL-2, AKTIVASI SEL KUPFFER DAN
NEKROSIS HEPAR MENCIT (*Mus musculus*)
YANG DIPAPAR BORAKS**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK



Oleh :

PUPUT ADE WAHYUNINGTYAS

NIM 061814253003

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2019

**HEPATOPROTEKTIF PASTA TOMAT TERHADAP EKSPRESI
IL-2, AKTIVASI SEL KUPFFER DAN NEKROSIS HEPAR
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIPAPAR BORAKS**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

TESIS

Untuk memperoleh gelar Magister

Dalam Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner

Pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Surabaya

PUPUT ADE WAHYUNINGTYAS

061814253003

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2019**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**HEPATOPROTEKTIF PASTA TOMAT TERHADAP EKSPRESI IL-2,
AKTIVASI SEL KUPFFER DAN NEKROSIS HEPAR MENCIT
(*Mus musculus*) YANG DIPAPAR BORAKS**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya,



PUPUT ADE WAYUNINGTYAS
061814253003

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI

Tanggal 1 November 2019

Oleh :

Pembimbing Ketua



Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes

NIP. 196403161990022001

Pembimbing

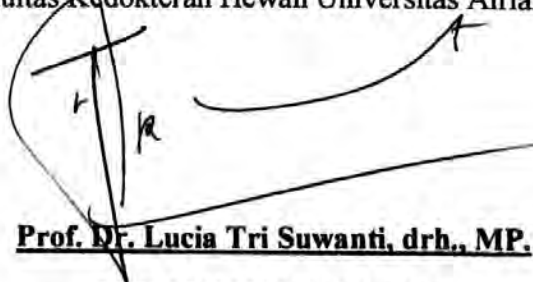


Dr. Agnes Theresia Soelih Estdepangestie, drh

NIP. 195609151987012001

Mengetahui,

Ketua Prodi Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.

NIP. 196208281989032001

Usulan Penelitian Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 1 November 2019

PANITIA PENGUJI SEMINAR HASIL PENELITIAN TESIS

Ketua : Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes

Anggota : 1. Dr. Agnes Theresia Soelih Estoepangestie, drh

2. Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes

3. Prof. Suwarno., drh., M. Si

4. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si

Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal : 1 November 2019

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes

Anggota : 1. Prof. Suwarno., drh., M. Si

2. Dr. Iwan Sahrial Hamid, drh., M. Si

3. Dr. Eka Pramytha Hestianah, drh., M.Kes

4. Dr. Agnes Theresia Soelih Estoepangestie, drh

Surabaya, 1 November 2019

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes

NIP. 195601051986011001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, karunia, serta anugerah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul **Hepatoprotektif Pasta Tomat Terhadap Ekspresi IL-2, Aktivasi Sel Kupffer Dan Nekrosis Hepar Mencit Yang Dipapar Boraks**. Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan tesis ini, antara lain :

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes atas kasih sayangnya kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh. selaku Wakil Dekan I, Dr. Mufasirin, drh., M.Si, selaku Wakil Dekan II, Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si., selaku Wakil Dekan III, serta Ibu Dr. Rr. Sri Pantja Madyawati, drh., M.Si., selaku Kepala Akademik atas bimbingannya kepada penulis selama menjalani pengabdian sebagai mahasiswa di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Dr. Eka Pramyrtha Hestiana, drh., M.Kes dan Dr. Agnes Theresia Soelich Estoepangestie, drh. serta Djoko Legowo, drh., M.Kes., atas segala saran, kritik, serta kesabaran dalam membimbing penulis dari persiapan sampai akhir penelitian sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes., Prof. Dr. Suwarno, M.Si., drh., dan Dr Iwan Syahrrial Hamid, drh., M.Si selaku anggota penguji atas segala bimbingan, kritik, serta saran yang sangat

bermanfaat dan banyak membantu penulis untuk menyempurnakan penelitian ini. Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP selaku KPS yang selama ini memberikan dukungan untuk terus dapat berprestasi dan bermanfaat baik dalam prestasi akademik maupun non akademik. Seluruh bapak dan ibu dosen pengajar, staf kependidikan atas wawasan keilmuan serta pengalaman belajar selama penulis mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Almarhum ayahanda Sakrim dan Ibunda Tasmi, S.Pd yang telah memberikan dukungan, bimbingan, pengorbanan, serta kasih sayang bagi penulis yang tak terhingga dan senantiasa memberikan motivasi bagi penulis untuk terus bermanfaat bagi sesama, tak lupa juga kepada kakak kandung Ardianto ade purnama, kakak ipar Zen, Marwati, Didik mardiono dan Hafidz serta keluarga besar yang tiada hentinya mendoakan dan mendukung penulis. Teman-teman seperjuangan S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner dan prodi S2 lainnya yang senantiasa harmonis dalam kebhinnekaan disaat senang maupun susah selama menimba ilmu

Penulis juga menyadari bahwa masih terdapat kesalahan dan kekurangan pada tesis ini, untuk itu diharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan di masa mendatang. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak yang membutuhkan demi kemajuan dan perkembangan ilmu pengetahuan di bidang Kedokteran Hewan.

Surabaya,

Penulis

RINGKASAN

Hepatoprotektif Pasta Tomat terhadap Ekspresi IL-2, Aktivasi Sel Kupffer dan Nekrosis Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Dipapar Boraks

Industri pangan di Indonesia masih banyak yang menggunakan bahan kimia pada produk makanan. Boraks adalah zat kimia yang sejak lama disalahgunakan oleh industri pangan untuk mencapai keuntungan tinggi dengan biaya produksi yang rendah. Bahan toksik yang dikonsumsi akan masuk ke hepar dan akan mengalami proses detoksikasi. Bahan-bahan toksik ini akan menyebabkan kerusakan dan kematian sel-sel hepar. Boraks yang masuk kedalam tubuh dalam bentuk ROS akan menimbulkan beberapa respon yakni boraks akan mencari pasangan ion yang dapat mengakibatkan kerusakan pada membran sel, teraktivasinya sel Kupffer dan TLR4 sebagai pro inflamator sehingga akan terekspresi IL-2. Salah satu cara efektif dalam melindungi sel darah merah, sel tubuh, dan hepar yakni pemberian antioksidan berupa likopen dalam pasta tomat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi pasta tomat dalam melindungi hepar mencit yang dipapar boraks.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tiga puluh enam ekor mencit jantan dengan kriteria sehat, umur 2 bulan dengan berat badan 20-30 g digunakan dalam penelitian ini. Mencit yang digunakan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yakni pada kelompok P0 diberikan *aquadest* steril sebanyak 0,1 ml/20 g BB/hari selama 14 hari, P1 diberikan boraks sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari selama 14 hari, P2 diberikan pasta tomat sebanyak 230 mg/20 g BB/hari selama 14 hari, (P3), (P4), (P5) adalah kelompok mencit dipreventif dengan pasta tomat selama 3 hari, lalu 14 hari selanjutnya kembali diberikan pasta tomat dengan dosis masing-masing 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari sebelum dipapar boraks sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari. Pada hari ke-18 mencit di nekropsi untuk pengambilan sampel berupa hepar.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa likopen dalam pasta tomat memiliki

potensi yang tinggi dalam melindungi hepar dari paparan boraks. Dilihat dari penurunan aktivasi sel Kupffer dan ekspresi IL-2 yang diimbangi dengan indikator menurunnya tingkat nekrosis hepatosit. Bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (P0), pemberian pasta tomat utamanya P5 terbukti memiliki daya perlindungan pada hepar yang dipapar boraks.

SUMMARY

Hepatoprotective of Tomato Paste on the Expression of IL-2, Activation of Koepffer Cells and Level Necrosis of Mice (*Mus Musculus*) Liver Exposed to Borax

The industrial food in Indonesia still uses chemicals in food products. Borax is a chemical that has been long misused by the industrial food to achieve high profits with low production costs. Toxic substances consumed will enter the liver and the detoxification process will be improved. These toxic materials will cause damage and death of liver cells. Borax that enters the body in the form of ROS will cause several responses, ion will find a partner in the cell membrane that will cause damage of membrane cell, activation of Kupffer cells and TLR4 as pro-inflammation so that it will be expressed IL-2. The effective way to protect red blood cells, body cells and liver is the administration of antioxidants such as lycopene in tomato paste. The purpose of this study was to determine the potential of tomato paste in the liver of mice exposed to borax.

This research is an experimental laboratory study. Totally of thirty six healthy male mice aged \pm 2 months with a body weight of 20 grams used in this study. The mice were divided into six treated groups for 17 days, the first three days were as follows : P0 groups was given sterile aquadest as much as 0.1 ml / 20 g BW / day, P1 was given borax as much as 5.6 mg / 20 g BW / day, P2 was given tomato paste as much as 230 mg / 20 g BW / day and (P3), (P4), (P5) is a group of preventive with tomato paste at each dose of 110 mg / 20 g BW / day, 230 mg / 20 g BW / day, and 350 mg / 20 g BW / day. The next 14 days while (P3), (P4), (P5) groups were exposed with borax as much as 5.6 mg / 20 g BW / day and (P0), (P1), (P2) were continuous treated as previously. On the 18th day, the mice were necropsy to take samples of liver.

The results of this study show that lycopene in tomato paste has high potential protection in liver from borax. The activation of Koepffer cell and IL-2 expression was decrease, and it supported by elevation of necrosis rate. This result indicated that P5 give the best protection in the liver exposed to borax.

**HEPATOPROTECTIVE OF TOMATO PASTE ON THE EXPRESSION OF
IL-2, ACTIVATION OF KOEPPFER CELLS AND LEVEL NECROSIS OF
MICE (*Mus musculus*) LIVER EXPOSED TO BORAX**

Puput Ade Wahyuningtyas

ABSTRACT

The aim of this study was to examined the protective effect of tomato paste on histopathological changes of the liver exposed by borax. Totally of thirty six healthy male mice aged \pm 2 months with a body weight of 20 grams used in this study. The mice were devided into six treated groups for 17 days, the first three days were as follows : P0 groups was given sterile aquadest as much as 0.1 ml /20 g BW / day, P1 was given borax as much as 5.6 mg /20 g BW / day, P2 was given tomato paste as much as 230 mg /20 g BW / day and (P3), (P4), (P5) were prevented group given tomato paste each daily dose of 110 mg /20 g BW, 230 mg /20 g BW, and 350 mg / 20 g BW. The next 14 days, (P3), (P4), (P5) groups were daily exposed to borax as much as 5.6 mg / 20 g BW while (P0), (P1), (P2) were continuous treated as previously. On the 18th day, the mice were killed by cervical dislocation tan followed by collecting liver sampels. The results of this study showed that lycopene in tomato paste has high potential protection in liver from borax. The activation of Koepffer cell and IL-2 expression was decrease, and it supported by elevation of necrosis rate. It can be concluded that P5 gave the best protection for the liver exposed to borax.

Keywords: tomato paste, borax, liver, Kupffer cell, IL-2

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN	i
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR	iii
PERNYATAAN	iv
PERSETUJUAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Tomat	7
2.1.1 Klasifikasi dan deskripsi tanaman tomat.....	7
2.1.2 Manfaat buah tomat	9
2.1.3 Kandungan kimia buah tomat	10
2.1.4 Antioksidan	12
2.1.5 Likopen dalam buah tomat	13
2.1.6 Pasta tomat	15

2.2 Boraks.....	16
2.2.1 Sifat fisik dan kimia boraks	16
2.2.2 Fungsi boraks	18
2.2.3 Pengaruh paparan boraks	18
2.2.4 Pengaruh boraks pada hepar	19
2.3 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	20
2.4 Hepar	21
2.4.1 Anatomi hepar	21
2.4.2 Histologi hepar	22
2.4.3 Fungsi hepar	24
2.5 Aktivasi sel kupffer pada kerusakan sel	24
2.6 Produksi dan peran interleukin 2 (IL-2).....	25
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	26
3.1 Kerangka Konseptual	27
3.1 Hipotesis	30
BAB 4 MATERI DAN METODE.....	31
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	31
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	31
4.3 Sampel Penelitian.....	31
4.4 Variabel Penelitian	31
4.4.1 Klasifikasi Variabel.....	31
4.5 Definisi Operasional Penelitian.....	32
4.6 Materi Penelitian	32
4.6.1 Alat Penelitian.....	33
4.6.2 Bahan Penelitian.....	33
4.7 Metode Penelitian.....	34
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	34
4.7.2 Perlakuan	34
4.8 Pemeriksaan Sel Kupffer yang teraktivasi dan tingkat nekrosis	39
4.9 Pengukuran Ekspresi IL-2 pada Sediaan IHK Hepar	40

4.10 Kerangka Operasional	41
4.11 Analisis Data	42
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	43
5.1 Tingkat Nekrosis Hepatosit	43
5.2 Aktivasi Sel Kupffer.....	48
5.3 Ekspresi Interleukin 2 (IL-2).....	52
BAB 6 PEMBAHASAN	53
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	59
7.1 Kesimpulan.....	59
7.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kandungan Nutrisi Tomat Segar	11
2.2 Kandungan Likopen Buah Segar dan Olahan Tomat	14
4.1 Skor Nilai Perubahan Gambaran Histopatologi Hepar	39
4.2 Pengukuran Indeks Ekspresi IL-2 dengan Metode IRS	40
5.1 Rerata skor \pm SD tingkat nekrosis hepar mencit pada semua perlakuan .	43
5.2 Rerata skor \pm SD aktivasi sel Kupffer hepar mencit pada semua Perlakuan	49
5.3 Rerata skor \pm SD ekspresi IL-2 hepar mencit pada semua perlakuan	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Buah Tomat (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	8
2.2 Pasta Tomat	16
2.4 Mencit (<i>Mus musculus</i>) strain putih (albino) yang sehat	20
2.5 (a) Hepar mencit, (b) lobus hepar mencit	22
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	27
4.1 Alur Penelitian.....	41
5.1 Grafik rerata tingkat nekrosis pada gambaran histopatologi hepar mencit pada berbagai perlakuan	45
5.2 Gambaran histopatologi tingkat nekrosis hepar mencit dengan pewarnaan HE pada area vena sentralis (perbesaran 400x) ...	46
5.3 Grafik rerata aktivasi sel Kupffer pada gambaran histopatologi hepar mencit pada berbagai perlakuan	47
5.4 Gambaran histopatologi aktivasi sel Kupffer hepar mencit dengan pewarnaan HE pada area vena sentralis (perbesaran 400x).....	48
5.5 Grafik rerata ekspresi interleukin 2 (IL-2) pada gambaran histopatologi hepar mencit pada berbagai perlakuan	51
5.6 Gambaran histopatologi ekspresi IL-2 dengan pewarnaan IHK pada area vena sentralis (perbesaran 400x).....	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Manusia dan Berbagai Jenis Hewan	65
2 Perhitungan Dosis Boraks dan Pasta Tomat pada Mencit Perhitungan Dosis Boraks	68
3 Perhitungan Pengenceran Dosis Pasta Tomat dan Boraks	70
4 Hasil Skoring dan Statistik	71

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

°C	: derajat celsius
$4B(OH)_4^-$: <i>Tetrahydroxyborate</i>
DNA	: <i>Asam deoksiribonukleat</i>
BB	: Berat badan
H ₂ O	: Air
H ₃ BO ₃	: <i>Boric acid</i>
K ⁺	: Ion Kalium
Na	: Natrium
Na ₂ B ₄ O ₇ · 10H ₂ O	: <i>Disodium tetraborate decahydrate</i> atau Boraks
pH	: <i>Power of Hydrogen</i> (derajat keasaman)
Aw	: <i>Activity of water</i>
ROS	: Reactive Oxidative Stress
PAMPs	: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
APC	: Antigen Presenting Cell
MHC	: Major Histocompatibility Complex
TLR	: Toll Like Receptor
IL-2	: Interleukin 2
IHK	: Imunohistokimia

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Industri pangan di Indonesia masih banyak yang menggunakan bahan kimia pada produk makanan. Boraks dan rhodamin B adalah zat kimia yang telah lama disalahgunakan oleh industri pangan untuk mencapai keuntungan tinggi dengan biaya produksi yang rendah, selain sebagai bahan pengawet, penggunaan boraks juga untuk menjadikan makanan menjadi lebih kenyal dan untuk memperbaiki penampilan produk pangan (Vepriati, 2007). Berdasarkan penelitian Nurkholidah dkk. (2012) di lingkungan Sekolah Dasar Kecamatan Bangkinang, hasil uji sampel terhadap 17 pedagang bakso tusuk hampir seluruh pedagang menggunakan boraks. Banyak sekali pedagang yang masih menggunakan boraks meskipun telah diterbitkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor: 033/MenKes/Per/XI/2012 tentang bahan tambahan makanan dimana boraks termasuk bahan yang dilarang untuk ditambahkan ke dalam makanan karena berbahaya dan beracun.

Keracunan boraks juga terjadi pada hewan yang pada umumnya disebabkan karena hewan tidak sengaja terpapar bahan yang mengandung boraks seperti insektisida untuk membasmi pinjal pada karpet atau pembasmi rayap. Selain itu ditemukan juga kasus terbesar keracunan boraks pada hewan terjadi pada tahun 1988 di Georgia, Amerika sebanyak 25 ekor sapi mati karena keracunan pupuk berbahan dasar boraks yang ditinggalkan di perkebunan kacang (Bernard *et al.*, 2010).

Boraks merupakan radikal bebas yang ditemukan dalam bentuk ROS (*Reactive oxygen species*) di dalam tubuh. ROS akan mengakibatkan lipid peroksidase dan terganggunya Na^+/K^+ pump, jika keadaan ini terus berlanjut maka sel akan gagal untuk mempertahankan struktur dan fungsinya sehingga sel akan mengalami nekrosis (Chen *et. al.*, 2014). Boraks memiliki tingkat kelarutan yang tinggi, sehingga distribusinya cepat menyebar ke seluruh jaringan tubuh. Organ tubuh yang paling sering terkena efek samping dari pemberian boraks adalah hepar dan ginjal. Hepar merupakan organ yang berfungsi sebagai detoksikasi racun. Hampir semua obat ataupun zat yang masuk melalui oral mengalami metabolisme di hepar. Bahan toksik yang dikonsumsi akan masuk ke hepar dan akan mengalami proses detoksikasi. Bahan-bahan toksik ini akan menyebabkan kerusakan dan kematian hepatosit (Guyton *and* Hall, 2008). Tatukude (2014) mengungkapkan bahwa pemberian boraks menyebabkan abnormal hepar seperti degenerasi hidropik, proliferasi fibroblas, dan secara makroskopis hepatosit hewan coba mengalami perbesaran dan berwarna coklat kehitaman. Garis pertahanan pertama terhadap benda asing yang masuk ke dalam hepar yakni adanya sel kupffer. Sel Kupffer memainkan peran anti-inflamasi utama dengan mencegah pergerakan zat imunoreaktif yang berjalan melewati sinusoid hepar. sel Kupffer dapat menjadi pelindung dalam sejumlah situasi, termasuk yang diinduksi oleh obat yang dapat mengakibatkan kerusakan hepar dan fibrosis. Sel Kupffer dapat berkontribusi pada proses inflamasi dan peradangan kronis (Dixon, 2013).

Boraks yang merupakan bahan toksik jika masuk keadalam tubuh dan menyebabkan kerusakan membran sel maka molekul *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMP) akan mengaktifkan TLR4 sebagai proinflamatori menyalurkan sinyal melalui NF-Kb untuk mengeluarkan P65 dan P50 yang menginisiasi terekresinya sitokin pada sel Kupffer. Pada proses inflamasi sitokin IL-2, TNF α , IFN γ , IL-12 yang akan diekresikan. IL-2 memiliki peranan aktif dalam menekan diferensiasi Th17 (proinflamasi) dan meningkatkan kemampuan sel Kupffer dalam memfagosit bahan toxic seperti boraks atau zat beracun lainnya (Hoyer, 2008).

Salah satu cara efektif dalam melindungi sel darah merah, sel tubuh, dan hepar yakni pemberian antioksidan (Weilian *et al.*, 2013). Beberapa pangan lokal yang dapat menjadi alternatif sumber antioksidan yang ditemukan pada buah-buahan dan rempah-rempah. Pada penelitian Kopuri *et al.* (2016) menunjukkan perbandingan antioksidan dan anti inflamasi antara rempah-rempah yakni temulawak (*Curcumin*) dan likopen, didapatkan hasil bahwa likopen mampu menyembuhkan secara signifikan pada penderita OSMF (*Oral Submucous Fibrosis*) dibandingkan pengobatan dengan temulawak (*Curcumin*). Antioksidan berupa likopen mempunyai kemampuan untuk melawan kerusakan sel-sel tubuh akibat radikal bebas di dalam aliran darah dengan mengurangi efek toksik dari *spesies oksigen reaktif* (ROS). Tomat memiliki kandungan likopen paling tinggi dibandingkan buah dan sayur lainnya seperti semangka, anggur merah, jambu biji dll. (Reesaanen, 2003). Berdasarkan penelitian Tappi *et al.*

(2013) pemberian olahan tomat berupa jus tomat pasca induksi karbon tetraklorida (CCl₄) menunjukkan regenerasi pada hampir seluruh hepatosit. Menurut Tsang (2005), Arab dan Steck (2000), olahan tomat yang mengandung likopen paling tinggi dibanding bahan olahan tomat lainnya adalah pasta tomat. Pasta tomat adalah tomat konsentrat yang mengandung 24 % atau lebih padatan terlarut tomat alami.

Zat kimia dalam pasta tomat seperti likopen, vitamin E dan vitamin C berperan aktif sebagai antioksidan yang mampu meredam *Reactive oxygen species*, menangkap anion bebas seperti anion $4B(OH)4^-$ yang dihasilkan oleh boraks dan menghambat kerusakan oksidatif (Diener and Christian, 2008). Selain itu likopen juga mampu menghambat kerusakan sel dengan pengaturan metabolisme untuk menghilangkan zat kimia dan substansi asing dari dalam tubuh dengan menghambat TLR4 yang diketahui sebagai proinflamasi, terbukti dari mengurangi pembentukan kompleks TLR4 dengan bantuan adapter pada membran. Hal ini disebabkan oleh penurunan transportasi TLR4 ke rakit lipid atau juga dapat mengganggu asosiasi adapter TLR4, yang mengarah ke inaktivasi TLR4 (Zou *et al.*, 2012).

Upaya preventif pasta tomat terhadap paparan boraks hingga saat ini belum didasari imunopatogenesis. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) terhadap tingkat ekspresi interleukin-2 dan aktivasi sel kupffer pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipaparkan boraks secara per oral.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana tingkat ekspresi IL-2 pada pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) yang diamati pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipapar boraks?
2. Bagaimana tingkat nekrosis dan aktivasi sel kupffer pada pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) yang diamati pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipapar boraks?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini mempunyai tujuan sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui tingkat ekspresi IL-2 pada pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipapar boraks setelah pemberian pasta tomat.
2. Untuk mengetahui tingkat nekrosis dan aktivasi sel kupffer pada pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipapar boraks setelah pemberian pasta tomat.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah khasanah pengetahuan tentang peranan pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) yaitu tingkat ekspresi IL-2, nekrosis dan teraktivasinya sel kupffer pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang

dipapar boraks setelah pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) dalam melindungi hepar yang terpapar boraks untuk menjaga kesehatan tubuh.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tomat

2.1.1 Klasifikasi dan deskripsi tanaman tomat

Buah tomat (*Solanum lycopersicum*) berasal dari Amerika tropis, ditanam sebagai tanaman buah di ladang, pekarangan, atau ditemukan liar pada ketinggian 1 - 1600 m dpl serta menghendaki tanah yang gembur dan subur (Dalimartha, 2007). Kata tomat berasal dari bahasa Aztek, salah satu suku Indian yaitu xitomate atau xitotomate. Tanaman tomat menyebar ke seluruh Amerika, terutama ke wilayah yang beriklim tropis. Penyebaran tomat ke Eropa dan Asia dilakukan oleh orang Spanyol, dengan demikian tanaman tomat sudah tersebar ke seluruh dunia, baik di daerah tropik maupun subtropik. Berikut klasifikasi tanaman tomat adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Scrophulariales
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Lycopersicon</i>
Spesies	: <i>Lycopersicon esculentum</i>

(Pracaya, 2012).

Menurut penelitian Firmanto (2011) tomat tergolong tanaman semusim (annual), artinya tanaman berumur pendek yang hanya satu

kali berproduksi dan setelah itu mati. Tanaman tomat merupakan tanaman perdu atau semak yang menjalar pada permukaan tanah dengan panjang mencapai \pm dua meter.

Kuntum bunganya terdiri dari lima helai daun kelopak dan lima mahkota. Daun tomat berwarna hijau dan berbulu. Bunga tanaman tomat berwarna kuning. Buahnya berbentuk bulat, bulat lonjong, bulat pipih, atau oval. Buah tomat berwarna hijau sampai merah cerah atau gelap seperti pada (Gambar 2.1). Buahnya memiliki daging buah yang lembut, lunak, dan banyak mengandung biji. Buah tomat memiliki rasa manis dan asam (Pratiwi, 2009).



Gambar 2.1 Buah Tomat (*Lycopersicon esculentum*)
(Harland dan Craxton, 2009).

Buah tomat merupakan produk hortikultura yang mudah diperoleh di Indonesia. Rasa buahnya yang manis–asam digemari oleh sebagian besar masyarakat. Buah tomat merupakan sumber vitamin C dan A, juga kaya antioksidan. Pada umumnya tomat dikonsumsi dalam bentuk segar (Tugiyono, 2007). Ukuran buah tomat sangat bervariasi,

yang berukuran paling kecil memiliki bobot 8 gram dan yang berukuran besar memiliki bobot 180 gram. Buah tomat muda memiliki rasa getir dan beraroma tidak sedap sebab masih mengandung zat lycopersicin yang berbentuk lendir. Aroma yang tidak sedap itu akan hilang dengan sendirinya pada saat buah memasuki fase pematangan hingga matang. Rasanya juga akan berubah menjadi manis agak masam yang mencirikan rasa buah tomat. Buah tomat terdiri dari 2-12 lokul yang mengandung banyak biji (Jones, 2008).

2.1.2 Manfaat buah tomat

Tomat segar seringkali digunakan sebagai bahan pelengkap masakan untuk salad, sandwich, sambal, dan sebagainya. Selain itu, dapat dibuat sari buah dan dipekatkan untuk menghasilkan pasta tomat (Sulistiadi *et al.*, 2007). Komposisi tomat baik dalam bentuk segar maupun olahan memiliki komposisi zat gizi yang cukup lengkap dan baik. Buah tomat terdiri dari 5-10 persen berat kering tanpa air dan 1 persen kulit dan biji. Buah tomat jika dikeringkan, sekitar 50 persen dari berat keringnya terdiri dari gula-gula (terutama glukosa dan fruktosa), sisanya asam-asam organik, mineral dan vitamin. Tomat dapat digolongkan sebagai sumber vitamin C yang sangat baik karena 100 gram tomat memenuhi 20 persen atau lebih dari kebutuhan vitamin C sehari. Vitamin C memelihara kesehatan gigi dan gusi, mempercepat sembuhnya luka-luka, serta menghindarkan terjadinya perdarahan pembuluh darah halus. Vitamin A sangat diperlukan bagi kesehatan organ penglihatan, sistem kekebalan tubuh, pertumbuhan, dan reproduksi. Vitamin A dan C

pada tomat juga berperan sebagai antioksidan (Maulida dan Zulkarnaen, 2010).

Kandungan vitamin E pada tomat segar dan pada sari tomat per 100 gram adalah sebesar 0,38 mg. Vitamin E sudah banyak digunakan dalam kosmetik diantaranya adalah sebagai pelembab dan sebagai agen antioksidan. Vitamin E dapat mengurangi penuaan kulit akibat sinar matahari dan mencegah pembentukan sel kanker kulit. Manfaat vitamin E yang lain adalah memelihara stabilitas jaringan ikat didalam sel sehingga kelenturan dan kekenyalan kulit terjaga (Tranggono dan Latifah, 2007). Berdasarkan penelitian Tappi *et al.* (2013) pemberian jus tomat pasca induksi karbon tetraklorida (CCl₄) menunjukkan regenerasi pada hampir seluruh sel-hepatosit.

2.1.3 Kandungan kimia buah tomat

Kandungan yang terdapat dalam buah tomat meliputi alkaloidsolanin (0,007%), saponin, asam folat, asam malat, asam sitrat, biflavonoid, protein, lemak, gula, adenine, trigonelin, kolin, mineral, vitamin, histamin, dan likopen (Dalimartha, 2007). Berikut kandungan nutrisi yang terdapat pada buah tomat segar :

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi tomat segar

Nutrien	Kandungan per 100 g	Nutrien	Kandungan per 100 g
Analisis Proksimat		Asam Amino	
Air (g)	93,76	Triptofan (g)	0,006
Energi (kkal)	21	Treonin (g)	0,021
Protein (g)	0,85	Isoleusin (g)	0,020
Total lemak (g)	0,33	Leusin (g)	0,031
Karbohidrat (g)	4,64	Lisin (g)	0,031
Serat (g)	1,1	Metionin (g)	0,007
Abu (g)	0,42	Kistin (g)	0,011
Mineral		Fenilalanin (g)	0,022
Kalsium (mg)	5	Tirosin (g)	0,015
Zat besi (mg)	0,45	Valin (g)	0,022
Magnesium (mg)	11	Arginin (g)	0,021
Fosfor (mg)	24	Histidin (g)	0,013
Kalium (mg)	222	Alanin (g)	0,024
Natrium (mg)	9	Asam aspartat (g)	0,118
Seng (mg)	0,09	Asam glutamat(g)	0,313
Tembaga (mg)	0,074	Glisin (g)	0,021
Mangan (mg)	0,105	Prolin (g)	0,016
Selenium (mg)	0,4	Serin (g)	0,023
Vitamin		Asam Lemak	
Tiamin (mg)	0,059	Tak jenuh tunggal (g)	0,050
Riboflavin (mg)	0,048	Tak jenuh ganda (g)	0,135
Niasin (mg)	0,628		
Asam pantotenat (mg)	0,247		
Vit. A (IU)	623		
Tokoferol (mg)	0,34		

Sumber : Kailaku *et al.* (2014).

Tomat mengandung flavonoid yang terdiri dari kelompok flavonol dan karotenoid. Kelompok flavonol seperti kaemferol, quercetin, myricetin, dan isohamnetin. Kelompok karotenoid seperti likopen, fitoeten, γ -karoten, neurosporen, fitofluen, β -karoten dan lutein. Daya antioksidan yang kuat dalam buah tomat dapat mencegah atau meredam aktivitas radikal bebas. Daya antioksidan kuat dalam buah

tomat ini berasal dari senyawa-senyawa yang terkandung dalam buah tomat, seperti likopen dan β -karoten yang termasuk ke dalam golongan karotenoid, serta beberapa senyawa alami lainnya seperti vitamin C dan vitamin E yang dapat bertindak sebagai antioksidan. Selain senyawa antioksidan buah tomat juga mengandung banyak senyawa lain salah satunya dengan kadar yang paling tinggi adalah air. Buah tomat pada umumnya mengandung 90- 95% kadar air dan 5-10% berat kering (Kaur *and* Kapoor, 2008).

2.1.4 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Berdasarkan fungsinya antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 (tiga) yaitu antioksidan primer, antioksidan sekunder dan antioksidan tersier.

Antioksidan Primer adalah antioksidan yang berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya yaitu sebelum sempat bereaksi. Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksida dismutase. Enzim ini sangat penting sekali karena dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas. Bekerjanya enzim ini sangat dipengaruhi oleh mineral mineral seperti mangan, seng, tembaga dan selenium yang harus terdapat dalam makanan dan minuman.

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh yang populer, antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel. Enzim tersebut bermanfaat untuk perbaikan DNA pada penderita kanker (Hamid *et al.*, 2010).

2.1.5 Likopen dalam buah tomat

Likopen merupakan salah satu antioksidan yang potensial, dengan kemampuan meredam oksigen tunggal dua kali lebih baik dari pada beta-karoten dan sepuluh kali lebih baik daripada alfa-tokoferol. Likopen berperan sebagai antioksidan dan memiliki pengaruh dalam menurunkan resiko berbagai penyakit kronis termasuk kanker. Kandungan likopen pada tomat meningkat dalam tubuh jika tomat diproses menjadi jus, saus, pasta dan lain-lain (Sanjiv dan Rao, 2000). Berikut kandungan likopen pada buah segar dan olahan tomat :

Tabel 2.2 Kandungan Likopen Buah Segar dan Olahahan Tomat

Bahan	Kandungan Likopen (mg/100g)
Pasta tomat	42,2
Saus spaghetti	21,9
Sambal	19,5
Saus tomat	15,9
Jus tomat	12,8
Sup tomat	7,2
Saus <i>seafood</i>	17,0
Semangka	4,0
<i>Pink grapefruit</i>	4,0
Tomat mentah	8,8

Sumber : Tsang (2005), Arab dan Steck (2000).

Senyawa antioksidan yang paling tinggi dalam buah tomat adalah likopen (Davies, 2000). Penelitian Thompson *et al.* (2000) menunjukkan bahwa tingkat kematangan dan perlakuan pemanasan berpengaruh terhadap kandungan likopen pada buah tomat.

Likopen bersifat antioksidan dengan cara melindungi sel dari kerusakan reaksi oksidasi singlet oksigen (*singlet oxygen quenching*). Efektivitas likopen pada tomat maupun buah-buahan lain yang berwarna merah, jauh lebih baik daripada suplemen likopen. Hal itu disebabkan oleh mekanisme sinergi dengan komponen-komponen lain pada buah-buahan, seperti vitamin A dan Vitamin C (Arab dan Steck, 2000)

Sayuran dan buah yang berwarna merah seperti tomat, semangka, jeruk besar merah muda, jambu biji, pepaya, strawberry merupakan sumber utama likopen. Buah atau sayur yang dimasak akan menyebabkan hilangnya vitamin C, berbeda dengan lycopene yang akan semakin kaya pada bahan makanan apabila dimasak atau disimpan dalam waktu tertentu. Misalnya, likopen dalam pasta tomat empat kali

lebih banyak dibanding dalam buah tomat segar. Hal ini disebabkan likopen sangat tidak larut dalam air dan terikat kuat dalam serat. Likopen merupakan suatu antioksidan yang sangat kuat, kemampuannya mengendalikan singlet oksigen (oksigen dalam bentuk radikal bebas) 100 kali lebih efisien daripada vitamin E atau 12500 kali dari pada glutheparon selain itu likopen juga memiliki manfaat untuk mencegah penyakit kardiovaskular, kencing manis, osteoporosis, infertiliti, dan kanker (kanker kolon, payudara, endometrial, paru-paru, pankreas, dan terutama kanker prostat). Ini semua diakibatkan banyaknya ikatan rangkap dalam molekulnya. Sebagai antioksidan, likopen dapat melindungi DNA, sel darah merah, sel tubuh, dan hepar (Weilian *et al.*, 2013)

2.1.6 Pasta tomat

Pengolahan tomat umumnya dilakukan dengan tujuan untuk mengawetkan atau mempertahankan produk untuk keperluan memasak pada saat tidak musim panen. Pasta tomat yaitu sari tomat yang diuapkan (evaporasi) tidak atau dengan penambahan garam atau rempah-rempah, sehingga mengandung tidak kurang dari 24% padatan tomat bebas garam. *Heavy tomato paste* adalah pasta tomat yang mengandung tidak kurang dari 33% padatan tomat bebas garam, *medium paste* merupakan pasta tomat yang mengandung 29-33% padatan tomat bebas garam dan *light paste* mengandung 25-29% padatan tomat bebas garam.

Tahapan proses pengolahan pasta tomat yang melibatkan pemanasan diantaranya adalah evaporasi dan blanching. Evaporasi merupakan proses yang melibatkan pindah panas dan pindah massa secara simultan. Pada proses ini, sebagian air atau pelarut akan diuapkan sehingga akan diperoleh suatu produk yang kental (konsentrat) seperti pada (Gambar 2.2). Blanching dilakukan untuk menginaktivasi enzim yang dapat mengakibatkan kerusakan pada warna, perubahan flavor, aroma, tekstur, membunuh jamur dan bakteri. Pasta tomat merupakan salah satu produk intermediate olahan tomat yang akan diolah lebih lanjut menjadi saus tomat. Karakteristik pasta tomat yaitu memiliki A_w (23°C) sebesar 0,953 dengan pH 3,98. Total padatan terlarut sebesar 30,3°brix, kadar air 70 %, dan keasaman sebesar 1,30 g/100 g asam sitrat (Bayod et al., 2008).



Gambar 2.2 Pasta Tomat (Bella, 2002).

2.2 Boraks

2.2.1 Sifat Fisik dan Kimia Boraks

Boraks merupakan zat pengawet berbahaya yang tidak diizinkan digunakan sebagai campuran bahan makanan. Boraks adalah senyawa

kimia dengan rumus $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ berbentuk kristal putih, tidak berbau dan stabil pada suhu dan tekanan normal. Dalam air, boraks berubah menjadi natrium hidroksida dan asam borat (Syah, 2005). Karakteristik boraks dinyatakan Riandini (2008) bahwa boraks memiliki warna jelas, kilau seperti kaca, transparan ke tembus cahaya, perpecahan sempurna di satu arah.

Senyawa asam borat ini mempunyai sifat-sifat kimia yakni jarak lebur sekitar 171°C . Kelarutan dalam air bertambah dengan penambahan asam klorida. mudah menguap dengan pemanasan dan kehilangan satu molekul airnya pada suhu 100°C yang secara perlahan berubah menjadi asam metaborat (HBO_2). Satu gram asam borat larut sempurna dalam 30 bagian air, menghasilkan larutan yang jernih dan tak berwarna. Asam borat merupakan asam lemah karena memiliki pH 9,5 dengan garam alkalinnya bersifat basa, mempunyai bobot molekul 61,83 berbentuk serbuk kristal berwarna putih, menghasilkan larutan yang jernih, tidak berwarna dan tidak berbau serta agak manis (Cahyadi,2009).

Boraks adalah senyawa kimia turunan dari logam berat boron (B). Boraks terdiri atas tiga macam senyawa yaitu asam ortoborat (H_3BO_3), asam metaborat (HBO_2), dan asam piroborat ($\text{H}_2\text{B}_4\text{O}_7$). Rumus molekul boraks adalah $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, leleh pada suhu 62°C (144°F). Kelarutannya adalah 0,1M pada suhu 20°C . 60 g boraks dapat larut dalam 1 liter air pada suhu 20°C (Khamid, 2006).

2.2.2 Fungsi boraks

Boraks atau asam borat banyak digunakan dalam industri kimia

yakni pada industri gelas, boraks akan mempercepat peleburan dan memperbaiki warna. Industri keramik juga menggunakan boraks yang digunakan untuk pelapisan barang-barang tembikar, barang pecah belah, ubin, porcelen dan peralatan dapur. Boraks sangat penting dalam industri pulp dan kertas dimana sodium perborat digunakan sebagai bahan pemutih dalam industri tersebut. Pada industri obat, boraks digunakan dalam pembuatan obat yang berfungsi sebagai antiseptik dan desinfektan, selain itu boraks digunakan sebagai bahan pengawet kulit, kayu dan tali (Larsen, 2015).

2.2.3 Pengaruh paparan boraks

Boraks paling banyak diabsorpsi oleh tubuh melalui pemberian oral dengan tingkat absorpsi lebih dari 90% dari total boraks yang diberikan. Pemberian boraks dengan cara topical sangat sulit untuk diabsorpsi. Berdasarkan dari hasil penelitian, Boraks digolongkan sebagai bahan toksik ringan dengan LD₅₀ pada tikus jantan 4,5 g boraks/kg. Gejala klinis keracunan akut pada tikus jantan adalah depresi, ataxia dan konvulsi. Hasil penelitian efek perkembangan, subkronis dan kronis dari boraks menunjukkan bahwa kerusakan utama terjadi pada perkembangan fetus dan sistem reproduksi jantan Sarkar (2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Silvia (2004) ditemukan kenaikan berat badan mencit jantan galur Swiss Webster dan ditemukan penurunan berat organ hepar dan ginjal pada pemberian 300mg/kg bb, serta ditemukan juga perubahan gambaran histologi jaringan hepar dan ginjal.

2.2.4 Pengaruh boraks pada hepar

Konsumsi boraks secara terus menerus dapat mengganggu gerak pencernaan usus dan dapat mengakibatkan usus tidak mampu mengubah zat makanan sehingga tidak dapat diserap dan diedarkan ke seluruh tubuh kemudian boraks didistribusikan lewat peredaran darah oleh vena porta ke hepar. Hepar mempunyai banyak tempat pengikatan. Kadar enzim yang memetabolisme xenobiotik di dalam hepar juga tinggi terutama enzim sitokrom P-450. Enzim ini membuat sebagian besar toksikan menjadi kurang toksik dan lebih mudah larut dalam air sehingga lebih mudah diekskresikan oleh hepar. Jika boraks masuk terus menerus akan menyebabkan rusaknya membran sel. Pengamatan makroskopis tikus yang diberikan boraks 40 mg pada hari pertama, kelima dan kesepuluh menunjukkan perubahan warna hepar menjadi merah kecoklatan dan berat hepar bertambah seiring peningkatan dosis boraks yang disebabkan karena degenerasi hidropik dan penumpukan cairan sehingga hepar membengkak. Gambaran mikroskopis menunjukkan hepatosit tikus yang diberikan boraks 20mg mengalami degenerasi hidropik, fibrosis dan peradangan (Tatukade, 2014).

2.3 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit adalah hewan mamalia hasil domestikasi dari mencit liar yang termasuk dalam anggota Muridae, hewan ini paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium. Mencit dengan species *Mus musculus* dengan strain putih (albino) seperti pada (Gambar 2.4), hitam, dan campuran hitam putih sering digunakan untuk penelitian.



Gambar 2.4 Mencit (*Mus musculus*) strain putih (albino) yang sehat (The Jackson Laboratory, 2015).

Klasifikasi mencit (*Mus musculus*) menurut Musser (2014)

adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Species	: <i>Mus musculus</i>

Berdasarkan penelitian Kusumawati (2004) mencit selama masa hidupnya dapat hidup hingga tiga tahun. Betina dewasa memiliki berat sekitar 18 - 35 g dan mencit jantan memiliki berat sekitar 20-40 g. Umur sapih mencit sekitar 21 hari, sedangkan umur dewasa sekitar 35 hari. Siklus estrus berkisar antara 4-5 hari dengan lama estrus 12-24 jam. Lama kebuntingan mencit sekitar 17- 21 hari. Kebutuhan pakan mencit sekitar 4-5 g/hari dengan kebutuhan air secara tanpa batas (*ad libitum*). Populasi mencit (*Mus musculus*) lahir dengan berat berkisar antara 0,5-

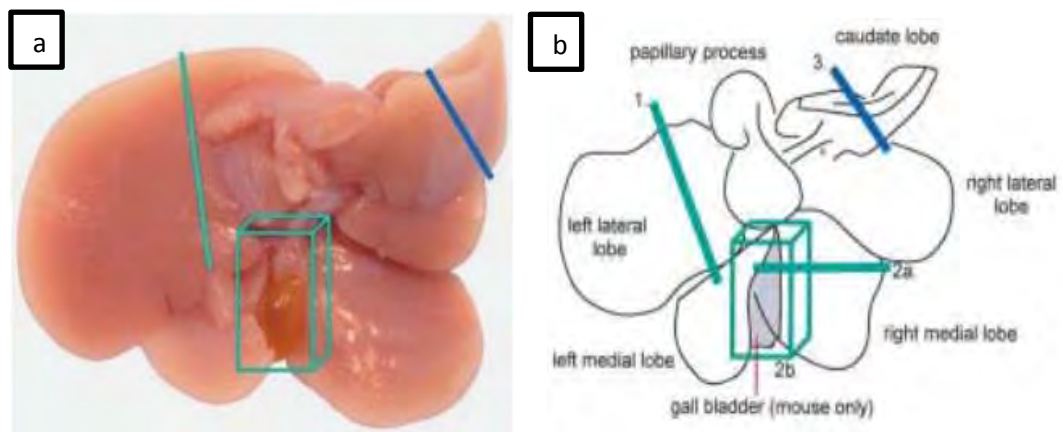
1,0 g dengan jumlah anak per kelahiran rata-rata enam ekor dan dapat mencapai 15 ekor sehingga populasinya meningkat dengan sangat cepat. Musim kawin terjadi setiap tahun dan dapat hidup hingga tiga tahun. Mencit memiliki empat ruang jantung dengan dinding atrium lebih tipis dari dinding ventrikel. Peningkatan temperatur tubuh tidak mempengaruhi tekanan darah sedangkan frekuensi jantung dan *cardiac output* dipengaruhi oleh ukuran tubuh. *Mus musculus* tidak memiliki kelenjar keringat (Musser, 2014). Selain itu mencit tidak mempunyai kandung empedu, struktur dan komponen hepar mencit sama dengan mamalia lainnya yang tersusun dari vena sentralis, sinusoid dan hepatosit (Syahrizal, 2008).

2.4 Hepar

2.4.1 Anatomi Hepar

Hepar adalah organ dalam tubuh terbesar dan merupakan pusat metabolisme zat-zat penting dalam tubuh. Sekitar 80% suplai darah ke hepar berasal dari saluran pencernaan, maka bahan-bahan toksik yang diabsorpsi usus akan dibawa ke hepar melalui vena porta. (Corwin, 2001).

Berdasarkan kondisi yang diamati oleh Sloane (2003) hepar berada di sebelah kanan atas rongga perut dan dibawah diafragma. Hepar mencit berwarna merah tua merupakan kondisi hidup hepar dimana hal ini dikarenakan dalam organ hepar terdapat persediaan darah yang sangat banyak.



Gambar 2.5 Makroskopis Hepar Mencit (a) Hepar mencit, (b) lobus hepar mencit (Ruehl-Fehlert et al., 2003).

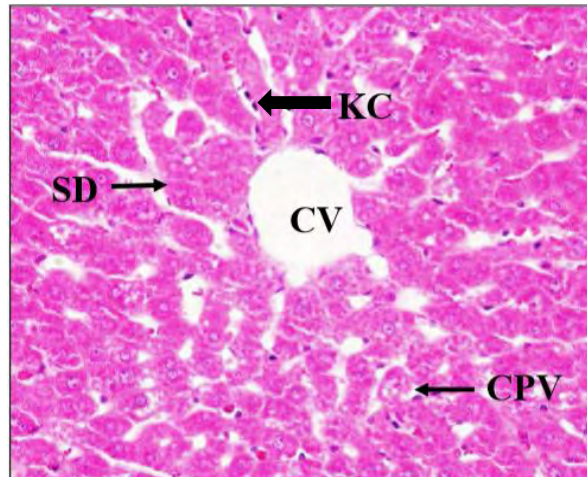
Hepar mencit secara makroskopis dibagi menjadi beberapa lobus yakni lobus caudal, lobus lateral kiri, lobus lateral kanan, lobus medial kiri dan lobus medial kanan (Gambar 2.5). Untuk keperluan identifikasi biasanya yang dipilih adalah lobus terbesar yakni lobus lateral kiri.

2.4.2 Histologi Hepar

Organ hepar terdapat 3 komponen yang menyusun hepar yakni vena sentralis, sinusoid dan hepatosit (Gambar 2.6) (Syahrizal, 2008). Hepatosit adalah unit struktural utama dalam organ hepar. Sel hepatosit merupakan sel parenkimal utama yang mempunyai peran sentral dalam memetabolisme. Hepatosit sangat aktif mensintesis protein dan lipid untuk disekresi, dan memiliki banyak retikulum endoplasma dan badan golgi. Hepatosit dipisahkan oleh sinusoid yang tersusun melingkari vena sentralis (Sloane, 2003).

Hepatosit menyerap nutrisi, oksigen dan zat racun dari darah sinusoid akan dinetralkan sedangkan nutrisi akan ditimbun untuk disekresikan ke peredaran darah tubuh. Hepar disuplai oleh pembuluh darah yakni vena porta hepatica yang mengalirkan darahnya ke sinusoid. Darah

yang dibawa kaya akan nutrisi seperti asam amino, monosakarida, vitamin yang larut dalam air dan mineral dimana komponen tersebut berasal dari lambung dan usus (Wibowo, 2009).



CPV= Cytoplasmic
vacuolation
CV = Central vein
KC = Kupffer cell
SD = Sinusoidal dilatation

Gambar 2.6 Histologi Hepar dengan Pewarnaan HE (Arsad *et al.*, 2014).

Sinusoid hepar adalah saluran yang berliku-liku dan dilapisi sel endotel. Sinusoid dibatasi oleh 2 macam sel, yaitu sel endotel (mayoritas) dengan inti pipih gelap, sel kupffer yang fagositik dengan inti ovoid (Junquiera *et al.*, 2007).

2.4.3 Fungsi Hepar

Fungsi utama hepar adalah sebagai tempat terjadinya metabolisme. Hepar ada 3 metabolisme yang terjadi yakni metabolisme karbohidrat, metabolisme lemak dan metabolisme protein. Hepar dalam metabolisme karbohidrat adalah menyimpan glikogen dalam jumlah besar, mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis, dan membentuk banyak senyawa kimia yang penting dari hasil perantara metabolisme karbohidrat. Fungsi dari proses metabolisme lemak pada hepar yakni mengoksidasi asam lemak untuk

menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain, membentuk sebagian besar kolesterol, fosfolipid dan lipoprotein, membentuk lemak dari protein dan karbohidrat sedangkan fungsi hepar dalam metabolisme protein adalah deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, dan interkonversi beragam asam amino dan membentuk senyawa lain dari asam amino (Guyton and Hall, 2008).

Hepar juga berfungsi sebagai tempat untuk menyimpan berbagai zat mineral (Cu, Fe) dan vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E dan K), glikogen dan berbagai macam racun yang tidak dapat dikeluarkan dalam tubuh untuk detoksifikasi. Dalam hepar juga terdapat fagositosis mikroorganisme, eritrosit dan leukosit yang sudah tua atau rusak. Salah satu fungsi hepar adalah menetralkan racun yang ada dalam tubuh. Sebagian besar bahan toksik melalui gastrointestinal, setelah diserap toksikan dibawa ke vena porta hepatica. Selain itu hepar juga sebagai tempat penyimpanan nutrien yang diserap dari saluran pencernaan untuk selanjutnya dipakai oleh bagian tubuh lainnya (Dalimartha, 2001).

2.5 Aktivasi sel kupffer pada kerusakan sel

Pada tahap awal terjadi jejas pada hepar, kerusakan hepatosit atau kolangiosit melepaskan *Danger-Associated-Molecular-Pattern molecules* (DAMPs) yang mengaktifkan sel-sel Kupffer yang terletak di sisi luminal endotel sinusoidal hepar. Berikutnya, sel Kupffer mensekresi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF yang menambah kerusakan parenkim dengan menginduksi apoptosis. Selanjutnya,

peningkatan kadar *Pathogen-Associated-Molecular-Pattern molecules* (PAMPs) di sinusoid termasuk untuk merangsang sel Kupffer dan sel stelata hepar melalui aktivasi Toll-like-Receptor-4 (TLR4). Makrofag infiltratif tersebut meningkatkan progresifitas jejas hepar kronik dan fibrosis melalui proliferasi dan transdiferensiasi sel stelata hepar melalui TGF- β / PDGF (Tacke and Zimmerman, 2014).

Aktivasi sel Kupffer juga bisa disebabkan oleh *reactive oxidative stress* (ROS) yang dilepaskan oleh sel yang mengalami nekrosis. Selain mensekresi mediator proinflamasi, sel Kupffer menstimulasi rekrutmen sel T dan netrofil. Lekosit direkrut menuju ke tempat jejas, memfagosit sel yang telah mati (Pellicoro, 2014).

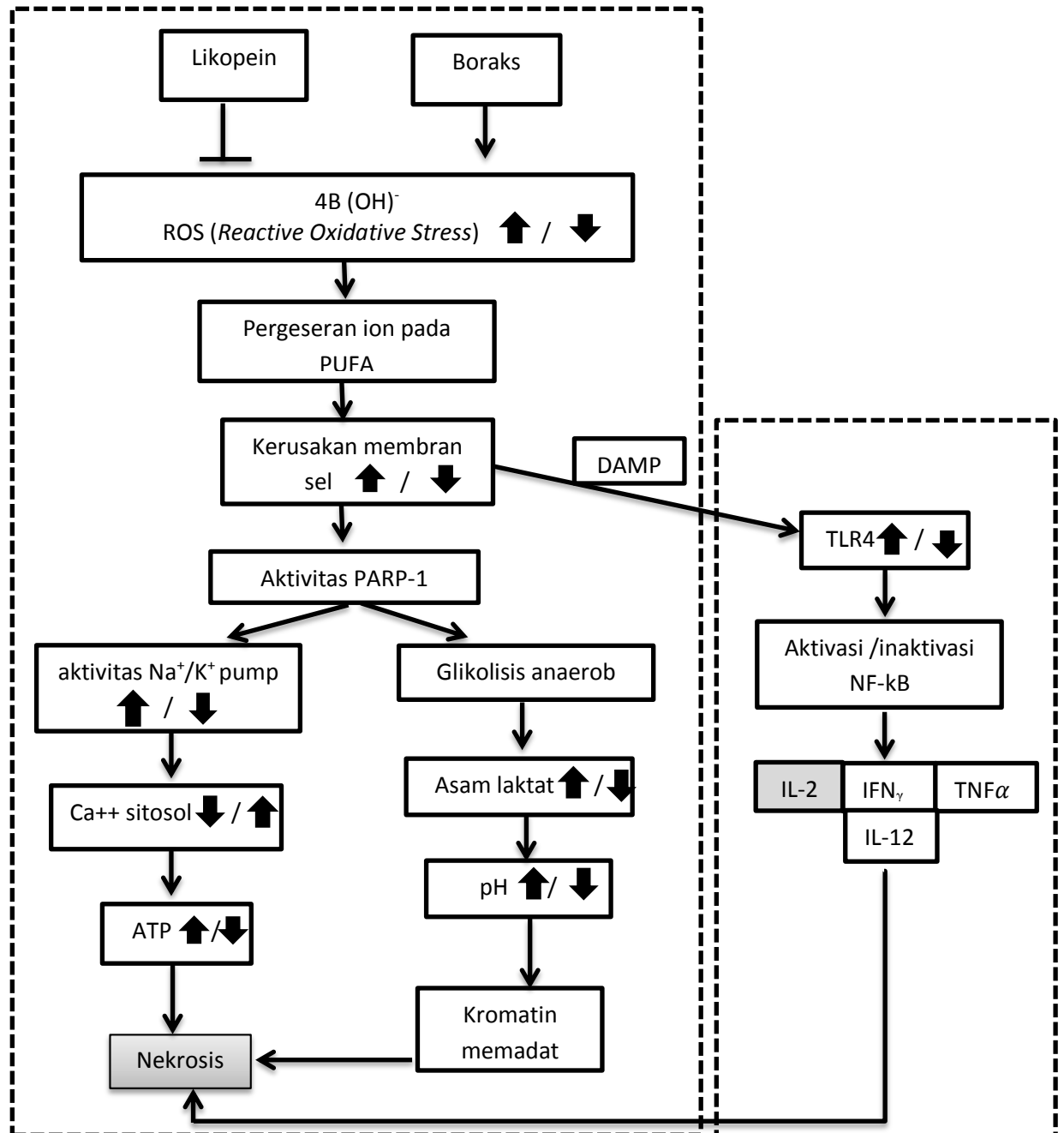
2.6 Produksi dan peran interleukin 2 (IL-2)

Sitokin berupa IL-2 dan IFN- γ . IFN- γ berperan dalam respon imun baik innate maupun adaptive. Interleukin 2 (IL-2) adalah sitokin dengan 4 (empat) bundle α helical yang memberikan aktivitas biologisnya dengan mengikat reseptor IL-2 berafinitas tinggi (IL-2R). IL-2R terdiri dari tiga sub unit rantai α (IL-2R α ; juga dikenal dengan CD25, rantai β (IL-2R β ; juga dikenal sebagai CD122) dan rantai sitokin reseptor γ (γ c; juga dikenal sebagai CD132) yang masing-masing memberikan kontribusi terhadap pengikatan IL-2. Sel T regulator dalam keadaan konstan selalu memiliki reseptor IL-2 walaupun belum teraktivasi dan pengikatan IL-2 pada reseptor pada permukaan sel mengaktivasi sel Treg, oleh sebab itu IL-2 sering disebut sebagai T cell growth factor (Ramirez *et al.*, 2015)

IL-2 sebagai faktor pertumbuhan dan menginduksi ekspansi klon sel T. Hal ini bertindak terutama sebagai faktor pertumbuhan autokrin, tetapi juga dapat bertindak secara parakrin pada sel-sel di dekatnya. IL-2 juga menstimulasi sel pembunuh alami (NK) untuk berkembang biak dan menginduksi aktivitas sitolitik ketika ada pada tingkat tinggi dan merangsang sel B untuk membelah dan memproduksi antibodi. Diperkirakan bahwa IL-2 bertindak terutama melalui pengembangan dan pemeliharaan sel T regulator (Treg) tetapi juga mungkin dengan menekan diferensiasi sel efektor T-helper 17 (Th17), IL-2 sangat penting untuk induksi dan resolusi respon inflamasi (Hoyer *et al.*, 2008).

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

Tidak diteliti ; : Diteliti ; \blacktriangleup : Meningkatkan
 \longrightarrow : Triger boraks dan likopein; \perp : Hambatan; \blacktriangledown : Menurunkan

Boraks yang masuk kedalam tubuh bereaksi dengan air akan menjadikan senyawa radikal yang reaktif melalui proses reduksi oksigen. Paparan radikal bebas dari boraks ditemukan dalam bentuk ROS (*Reactive oxygen species*) di dalam tubuh. Ketika berada di dalam tubuh, boraks berubah menjadi bentuk asam borat dan tidak dapat dimetabolisme. Boraks atau asam borat yang masuk sekitar 81-95% diabsorpsi sempurna antara 24 jam-96 jam. Paparan yang lama akan menyebabkan disfungsi hati dan ginjal (Edward, 2009). Mekanisme boraks merusak sel yakni ketika ion $B(OH)_4^-$ mencari pasangan ion yang ada pada membran sel sehingga ketika ion dari PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) terambil oleh radikal bebas maka akan terjadi pergeseran ion yang akan merusak membran sel dan kemudian akan merusak struktur sel. Dari proses tersebut akan terjadi aktivasi PARP-1 dalam sitoplasma yang berperan dalam perbaikan DNA. Pengaktifan PARP-1 memerlukan ATP yang menyebabkan terjadi pengurangan NAD (*Nicotinamide Adenin Diphosphate*). Hal ini sangat berpengaruh pada respirasi sel, jika terjadi penurunan ATP maka sel akan memecah glukosa pada jalur metabolisme glikolisis anaerob untuk memproduksi ATP, namun hal ini dapat meningkatkan produksi asam laktat atau asidosis intrasel dan penurunan pH dalam sel. Kadaan tersebut akan menyebabkan kematian sel (nekrosis) (Robbins, 2010)

Sel yang mengalami kerusakan membran akan menyebabkan terganggunya aktivitas Na^+/K^+ pump terganggu. Sodium (Na^+) tertahan dalam sel sehingga sitoplasma lebih pekat, akibatnya akan menarik H_2O dan Calcium (Ca^{++}) ke dalam sel sedangkan potassium (K^+) dan magnesium (Mg^{++}) bergerak keluar sel. Kadaan tersebut akan merubah bentuk sel berupa pembengkakan sel

atau degenerasi hidropik, jika keadaan tersebut terus berlanjut maka sel akan gagal untuk mempertahankan struktur dan fungsinya (Chen *et al.*, 2014). Calcium (Ca^{++}) yang mengalami peningkatan jumlah dapat mengaktifkan enzim fosfolipase (mencetuskan kerusakan membran), protease (mengkatabolis protein membran serta sitoskeleton), ATPase (mempercepat deplesi ATP) dan endonuklease (menyebabkan fragmentasi kromatin) sehingga Calcium (Ca^{++}) yang tertimbun didalam sel menyebabkan akumulasi pada saluran membrane mitokondria interna yang nantinya akan mencegah pembentukan ATP sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas metabolisme dan sel akan mengalami kematian. Penurunan ATP merupakan konsekuensi yang umum terjadi karena jejas iskemia maupun toksik (Robbins, 2010).

Boraks yang merupakan bahan toksik jika masuk ke dalam tubuh dan menyebabkan kerusakan membran sel maka molekul *Damage Associated Molecular Patterns* (DAMP) akan mengaktifkan TLR4 sebagai proinflamatori pada permukaan sel. Setiap TLRs mempunyai struktur yang sama dan mempunyai karakter menyalurkan sinyal melalui NF-Kb. TLR yang berbeda menimbulkan respons biologis spesifik karena keterlibatan diferensial dari molekul adaptor yang mengandung domain Toll/interleukin 1, termasuk MyD88 dan TIR-domain-adapter interferon- β (TRIF). NF-Kb yang segera translokasi ke nukleus untuk menginduksi ekspresi gen yang sesuai. NF-Kb mengeluarkan P65 dan P50 yang menginisiasi terekresinya sitokin pada sel Kupffer. Pada proses inflamasi sitokin IL-2, TNF α , IFN γ , IL-12 yang akan diekresikan. IL-2 memiliki peranan aktif dalam menekan diferensiasi Th17 (proinflamasi) dan meningkatkan kemampuan sel Kupffer dalam memfagosit bahan toxic seperti boraks atau zat

beracun lainnya (Hoyer, 2008).

Pasta tomat memiliki mekanisme kerja dalam mencegah inflamasi karena pasta tomat mengandung likopen yang dapat mencegah terjadinya *Reactive Oxidative Stress* (ROS) dengan memberikan ion dan penghambatan pembentukan ROS secara langsung oleh *material scavenging* ROS atau secara tidak langsung dengan kemampuannya dalam menghambat ekspresi enzim RAD yang memproduksi NADPH oksidase. Selain itu likopen juga dapat menghambat TLR4 yang diketahui sebagai proinflamasi. Penurunan transportasi TLR4 ke rakit lipid atau juga dapat mengganggu asosiasi adapter TLR4, yang mengarah ke inaktivasi TLR4 (Zou *et al.*, 2012).

3.2 Hipotesis.

Berdasarkan uraian diatas, maka hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. IL-2 tidak terekspresi pada hepar mencit yang dipapar boraks yang sebelumnya telah diberi perlindungan pasta tomat.
2. Pemberian pasta tomat mampu menurunkan tingkat nekrosis dan tidak teraktivasi sel Kupffer pada hepar mencit yang terpapar oleh boraks

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancana Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only control group*. Terdapat 5 perlakuan yakni P0, P1, P2, P3 dan P5. P0 adalah control mencit tanpa pemberian boraks ataupun pasta tomat, sedangkan P1 merupakan kelompok yang diberi perlakuan boraks tanpa diberi terapi sebelumnya dan P2 merupakan kelompok yang diberi perlakuan pasta tomat saja. P3, P4, P5 adalah kelompok mencit yang diberikan paparan boraks dan sebelumnya diberikan pasta tomat sebagai bentuk preventif.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Gedung Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga pada bulan Juli sampai dengan bulan Agustus 2019. Pembuatan sediaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Satwa Sehat Indonesia.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak enam ekor mencit (*Mus musculus*) pada setiap kelompok perlakuan dan diperoleh secara simple random sampling dengan kriteria mencit jantan umur 2 bulan dengan berat 20-30 gram, sehat dan tidak ada kelainan anatomis.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Klasifikasi Variabel

1. Variabel Bebas : Pemberian pasta tomat pada berbagai tingkat dosis.

2. Variabel Tergantung : indeks intensitas ekspresi IL-2, aktivasi sel kupffer dan tingkat nekrosis pada gambaran histopatologi hepar
3. Variabel Kendali : mencit, pakan mencit, cara pemberian perlakuan, waktu perlakuan, pemeliharaan mencit, pelarut, metode pemeriksaan.

4.5 Definisi Operasional Variabel

1. Boraks yang dimaksud dalam penelitian ini yakni boraks dengan senyawa kimia $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan dengan *aquadest* steril dengan pemberian sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari. Pasta tomat yang dimaksud dalam penelitian ini merupakan pasta tomat merk Leggos yang digunakan sebagai pencegahan.
2. Indeks intensitas ekspresi IL-2 hepar merupakan ekspresi IL-2 yang terlihat pada sediaan imunohistokimia hepar yang ditunjukkan dengan adanya warna coklat perak dengan menggunakan mikroskop Nikon®Eclipse F2i dengan perbesaran 400x.
3. Sel kupffer yang teraktivasi berupa banyaknya sel Kupffer dengan bentuk bulat atau lebih besar dibandingkan kondisi sel Kupffer yang tidak aktif yang ditemukan di area sinusoid hepar dengan menggunakan mikroskop Nikon®Eclipse F2i dengan perbesaran 400x
4. Tingkat nekrosis hepatosit akan memberikan gambaran kerusakan hepatosit dengan inti berupa piknotis (inti melisut dan menjadi massa basofilik), karyoreksis (inti yang piknotis atau sebagian piknotis mengalami fragmentasi) dan karyolisis (hilangnya gambaran basofilik dari gambaran kromatin) dengan menggunakan mikroskop

Nikon®Eclipse F2i dengan perbesaran 400x.

4.6 Materi Penelitian

4.6.1 Alat Penelitian

Kandang percobaan untuk tempat pemeliharaan hewan coba yang terbuat dari bahan plastik dengan ukuran 40 cm x 25 cm x 12 cm. Kawat jala sebagai penutup kandang, tempat makan, tempat minum, timbangan digital, dan jarum sonde untuk pemberian boraks dan pasta tomat. Peralatan yang digunakan untuk insisi dan pengambilan hepar meliputi gunting bedah steril, scalpel steril, pinset steril, object glass, cover glass, nampan, pot kecil dan tutupnya sebagai tempat penyimpanan organ, alat pembuatan blok paraffin (tissue processor, microtome, paraffin dispenser, pencetak blok paraffin) , mikrotom dan *water bath*, mikroskop Olympus® CX-21, mikroskop Nikon®Eclipse F2i.

4.6.2 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah boraks yang didapatkan dari toko kimia UD. Sumber Ilmiah Persada Surabaya dan pasta tomat (Leggo's, 021642139) , *aquadest* steril (Otsuka, DKL991870534341), pakan yang diberikan berupa pakan ayam 511 (Charoen Pokphand, 3121-18/100/1), air minum, sekam, kapas steril, buffer formalin 10% (BBC Chemical, 190321-01), alkohol 96% (Merck, 603-002-00-5), xylol (Merck, 1330-20-7), paraffin, gliserin (Merck, 200-289-5), zat warna Hematoxylin (Merck, 517-28-2), zat warna Eosin (Merck, 17372-67-1), antibodi monoclonal anti IL-2 (NovusBio), dan Canada Balsam (Merck, 8007-47-4).

4.7 Metode Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Mencit jantan sebanyak 36 ekor dengan umur 2-3 bulan dan BB \pm 20 - 30 g yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi enam kelompok perlakuan dengan enam kali ulangan pada masing-masing perlakuan. Sebelum mendapat perlakuan, mencit tersebut dibagi dengan cara diberi nomor kemudian diambil secara acak sesuai nomor yang terambil. Mencit yang sudah diambil dimasukkan ke dalam lima buah kandang dengan masing-masing kandang berisi enam ekor mencit. Mencit diadaptasikan selama tujuh hari dan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*, selama tiga hari sebelum perlakuan, mencit dengan kode perlakuan P3, P4 dan P5 diberikan pasta tomat per oral sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.

4.7.2 Perlakuan

Dasar pemberian dosis boraks berdasarkan penelitian Tatukude *et al.* (2014) yakni pemberian boraks 40 mg untuk satu ekor tikus dapat menyebabkan hepar mengalami degenerasi hidropik dan proliferasi fibroblas yang ditunjukkan secara mikroskopis dan secara makroskopis hepar tikus mengalami perbesaran dan berwarna coklat. Efek toksik dari boraks dianjurkan menggunakan dosis subkronis selama 14 hari perlakuan. Setelah dikonversikan pada dosis mencit sesuai tabel konversi pada Lampiran 1 dan perhitungan pada Lampiran 3, didapatkan dosis sebesar 5,6 mg/20 g BB/hari. Pembuatan larutan boraks dengan cara mengencerkan dosis boraks pada masing-masing kelompok perlakuan dengan *aquadest* steril. Setelah dihitung (Lampiran 3), didapatkan hasil pengenceran sebesar 1,12 g/20 ml. Boraks

yang telah diencerkan dikocok sampai larut sempurna. Setelah itu, larutan boraks diberikan secara oral dengan dosis 0,1 ml/ 20g BB mencit setiap hari dengan sonde selama 14 hari untuk mengetahui efek toksiknya.

Penentuan dosis pasta tomat berdasarkan pada penelitian Sugeng dkk., (2010) yang menyatakan bahwa pemberian likopen dengan dosis 4 mg/kg BB untuk tikus dewasa *Sprague-Dawley* mampu memberi efek positif terhadap diameter tubulus seminiferus testis yang terpapar rokok berfilter. Setelah dikonversikan dengan kandungan likopen dalam pasta tomat dan pada dosis mencit (Lampiran 1 dan 2) didapatkan dosis berulang sebesar 110 mg, 230 mg, dan 350 mg/20 g BB/hari selama 14 hari.

Pembuatan larutan pasta tomat dengan cara mengencerkan dosis pasta tomat pada masing-masing kelompok perlakuan dengan *aquadest* steril. Setelah dihitung (Lampiran 3), didapatkan hasil pengenceran sebesar 1,1 g/20 ml, 2,3 g/20 ml, dan 3,3 g/20 ml. Pasta tomat yang telah diencerkan kemudian dikocok sampai larut sempurna. Setelah itu, larutan pasta tomat diberikan secara oral dengan dosis 0,2 ml/20 g BB mencit setiap hari dengan sonde selama 14 hari untuk mengetahui efek antioksidannya.

Rincian perlakuan pada tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

- P0 : Mencit diberikan *aquadest* steril sebanyak 0,1 ml/20 g BB/hari selama 14 hari
- P1 : Mencit diberikan boraks sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari selama 14 hari.
- P2 : Mencit diberikan pasta tomat sebanyak 230 mg/20 g BB/hari selama 14 hari.

- P3 : (Sebelumnya telah diberi pasta tomat selama 3 hari sebanyak 110 mg/20 g BB/hari) mencit diberikan pasta tomat sebanyak 110 mg/20 g BB/hari kemudian selang satu jam diberikan boraks sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari selama 14 hari.
- P4 : (Sebelumnya telah diberi pasta tomat selama 3 hari sebanyak 230 mg/20 g BB/hari) mencit diberikan pasta tomat sebanyak 230 mg/20 g BB/hari kemudian selang satu jam diberikan boraks sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari selama 14 hari.
- P5 : (Sebelumnya telah diberi pasta tomat selama 3 hari sebanyak 350 mg/20 g BB/hari) mencit diberikan pasta tomat sebanyak 350 mg/20 g BB/hari kemudian selang satu jam diberikan boraks sebanyak 5,6 mg/20 g BB/hari selama 14 hari.

Pada hari ke-18 mencit diambil dari kandang lalu dilakukan *cervical dislocation*. Mencit di nekropsi kemudian difiksasi dan diseksi untuk memisahkan organ hepar selanjutnya pengambilan sampel berupa hepar untuk tiap ekor mencit dan sampel tersebut dibuat sediaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin eosin dan imunohistokimia.

4.7.2.1 Pembuatan preparat (hematoxylin eosin)

Organ hepar difiksasi dengan formalin 10% untuk mencegah terjadinya degenerasi post mortem, membunuh kuman yang mungkin masih ada, mengeraskan jaringan supaya mudah dipotong, meningkatkan perbedaan indeks refraksi komponen jaringan, dan meningkatkan afinitas protoplasma terhadap bahan cat tertentu. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air kran selama 30 menit, kemudian dilakukan dehidrasi dan clearing dengan memasukkan ke reagen dengan urutan alkohol 70%, 80%, 96%, alcohol absolut I, II, dan III,

xylol I dan II, masing-masing selama 30 menit untuk menarik air dari dalam jaringan dan diganti dengan alkohol. Lalu dilakukan pembuatan blok parafin dengan parafin cair dengan suhu 60 °C selama 2 jam, hal ini dilakukan untuk memudahkan pemotongan jaringan. Jaringan yang telah dipotong dimasukkan ke water bath dengan suhu 40 °C. Kemudian dilakukan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) untuk melihat perubahan pada jaringan dengan menggunakan metode Harris, yaitu jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam xylol I selama 3 menit dalam tempat khusus, xylol II, alkohol absolute I dan II, alkohol 96%, 80%, 70%, air kran masing-masing selama 1 menit, zat warna selama 5-10 menit, air kran selama 2-5 menit, acid alkohol sebanyak 3-10 celupan, air kran sebanyak 4-7 celupan, amoniak sebanyak 6 celupan, aquades secukupnya, zat warna eosin selama 15 menit, aquades selama 1-2 menit, alkohol 70% dan 80% selama 1-2 menit, kemudian diangin-anginkan untuk menghilangkan sisa-sisa pewarnaan. Jaringan yang telah diwarnai pada object glass dan ditutup dengan cover glass, yang sebelumnya ditetesi dengan Canada Balsam yang merupakan perekat transparan (Gautier, 2011).

4.7.2.2 Pembuatan preparat (imunoistokimia)

Pembuatan sediaan histopatologi hepar dengan metode imunohistokimia untuk mendeteksi ekspresi IL-2 dengan cara mereaksikan dengan antibodi monoclonal anti IL-2 yang dilakukan dengan langkah awal yakni fiksasi organ dengan menggunakan larutan buffer formalin 10% untuk mencegah kerusakan organ post mortem, lalu dilakukan dehidrasi dengan menggunakan alcohol dengan konsentrasi bertingkat mulai dari 70%, 80%,

90% dan 96% (absolut). Hal ini bertujuan untuk menarik air dari dalam sel. Jaringan yang telah didehidrasi dibersihkan dari zat yang terbawa dengan menambahkan larutan xylol. Setelah itu jaringan dimasukkan kedalam cetakan – cetakan yang berisi paraffin cair. Paraffin yang telah memadat (blok paraffin) yang berisi jaringan dipotong dengan menggunakan mikrotom, potongan tersebut selanjutnya disebut ribbon dan dilekatkan pada gelas obyek yang sebelumnya telah di olesi poli L-Lysin sebeleum jaringan dilekatkan pada objek glass. Paraffin yang masih menempel pada jaringan yang telah dipotong dari blok paraffin harus dihilangkan dengan cara mencelupkan xylol I, xylol II, xylol III masing-masing selama 5 menit, alcohol bertingkat dari alcohol absolut selama 4 menit, alcohol 96% selama 3 menit, alkohol 90% selama 3 menit, alkohol 80% selama 2 menit, alkohol 70% selama 2 menit dan terakhir air mengalir.

Digesti proteolisin dan staining protocol dengan menggunakan hydrogen peroxide blok selama 5-10 menit yang digunakan untuk memblok proxside jaringan setelah itu dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali selama 5 menit. Pemberian Trypsin dalam incubator untuk proteolitik selama 15 menit selanjutnya dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali selama 5 menit, pemberian ultra v blok selama 5 menit lalu bilas dengan PBS, setelah itu langsung diberi antibody primer IL-2 dan dibiarkan selama 60 menit lalu cuci dengan PBS sebanyak 2 kali selama 5 menit. Setela dilakukan pencucian maka selanjutnya pemberian Biotynilated link dan dibiarkan selama 30 menit, Strptavidin (red) drops selama 30 menit selanjutnya dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali selama 5 menit. Selanjutnya pemberian DAB (diaminobenziddine) chromogen

diencer 2% dengan DAB plus substrat 10 menit lalu dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali selama 5 menit dan dipping aquades selama 5 menit. Jaringan diwarnai menggunakan Hematoxylin selama 5-10 menit untuk mewarnai jaringan yang tidak beraksi terhadap antibody primer IL-2. Proses menghilangkan kelebihan cat pada jaringan dengan cara memasukkan kedalam larutan alcohol dengan konsentrasi makin meningkat, kemudian dimasukkan kedalam xylol dan sediaan ditutup dengan cover glass dan direkatkan dengan Canada balsam (Duerr, 2006).

4.8 Pemeriksaan sel kupffer yang teraktivasi dan tingkat nekrosis

Pemeriksaan histopatologi hepar menggunakan mikroskop perbesaran 400x dengan pewarnaan hematoxylin eosin, sel kupffer dan tingkat nekrosis akan dihitung berupa prosentase pada setiap 5 (lima) lapang pandang secara acak dengan menggunakan metode skoring Knodell (1981) dan Arsad (2014) pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Skor Nilai Perubahan Gambaran Histopatologi Hepar

BENTUK LESI	SKOR	KETERANGAN
NEKROSIS	0	Tidak terjadi nekrosis
	4	Nekrosis terjadi pada < 25% dari seluruh Lapangan Pandang (LP)
	6	Nekrosis terjadi antara 26-50% dari seluruh LP
	8	Nekrosis terjadi pada > 50% dari seluruh LP
	10	Nekrosis terjadi pada 25-50% dari seluruh LP disertai <i>bridging necrosis</i>
	12	Nekrosis terjadi pada >50 dari seluruh LP disertai <i>bridging necrosis</i>
	14	Diffuse necrosis > 76 % dan merata pada hampir semua lobulus (<i>Multilobular necrosis</i>)
Sel Kupffer	0	Normal
	1	Sel kupffer teraktivasi < 30% dari seluruh lapang pandang
	2	Sel kupffer teraktivasi 30% - 50% dari seluruh lapang pandang
	3	Sel kupffer teraktivasi > 50% dari seluruh lapang pandang

4.9 Pengukuran ekspresi IL-2 pada sediaan IHK hepar

Pada sediaan histopatologi hepar dengan pewarnaan IHK dengan antibody primer IL-2 maka jaringan mengekspresikan IL-2 akan tercatat berwarna coklat. Kemudian pengukuran ekspresi IL-2 jaringan hepar diukur dengan *Immunoreactivity Score* (IRS) (Tabel 4.1) yang menggabungkan indeks ekspresi dengan luasan arean ekspresi dalam bentuk skor ekspresi. Pengamatan dilakukan dengan bantuan mikroskop perbesaran 400x.

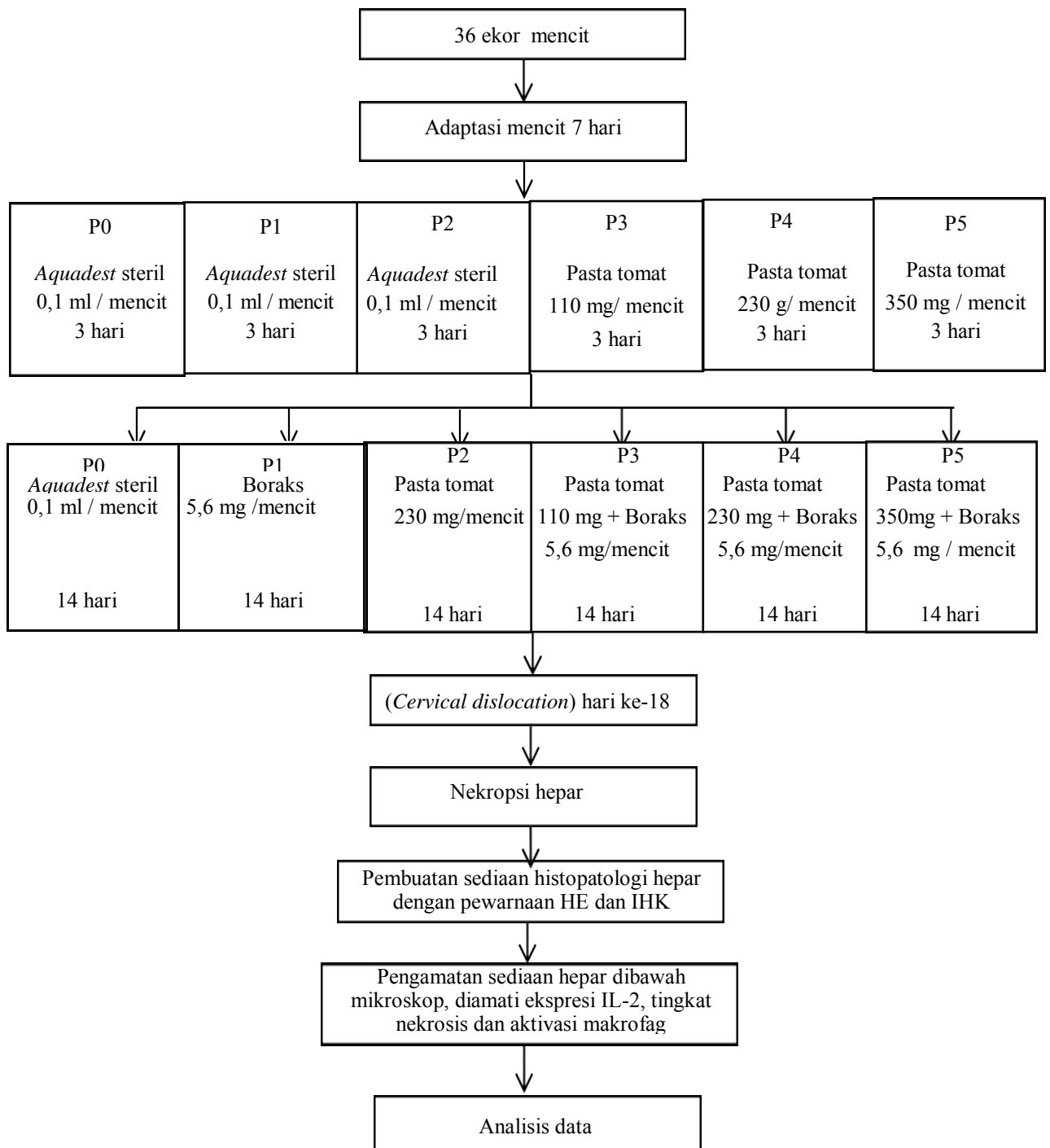
Tabel 4.2 Pengukuran Indeks Ekspresi IL-2 dengan Metode IRS

Persentase Positive	X intensitas warna	= IRS (1-12)
0=0% jaringan positif	0= tidak bereaksi	0-1 = negative
1 = <10% jaringan positif	1 = reaksi ringan	2-3 = ringan
2 = 10-50% jaringan positif	2 = Reaksi sedang	4-8 =sedang
3 =50-80% jaringan positif	3 = Reaksi tajam	9-12 kuat
4 = >80% jaringan positif		

Sumber : Kaemmer *et al.* (2012).

Pengamatan gambaran histopatologi hepar mencit yang dipapar boraks akan terlihat adanya penurunan tingkat nekrosis, tidak adanya aktivasi sel Kupffer dan tidak terekspresinya IL-2 dikarenakan adanya perlindungan dari pasta tomat. Hal yang berbeda jika dibandingkan dengan pemberian boraks saja maka tingkat nekrosis, adanya aktivasi sel Kupffer dan ekspresi IL-2 akan tinggi.

4.10 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.11 Analisis Data

Data dipresentasikan dalam bentuk mean rank. Data disusun dalam bentuk tabel untuk kemudian dianalisis statistik dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Apabila terdapat perbedaan yang nyata diantara kelompok penelitian ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji *Man-Whitney* (Kusriningrum, 2008).

BAB V ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Tingkat Nekrosis Hepatosit

Hepatoprotektor pasta tomat pada hepar mencit yang dipapar boraks diamati melalui gambaran histopatologi hepar dengan pewarnaan Hematoxylin eosin (HE). Pewarnaan ini terdiri dari dua komponen warna, yaitu Hematoxylin dan eosin. Pengamatan tingkat dilakukan pada lima lapang pandang yang dinilai dengan metode Knodell (2000) yang telah dimodifikasi. Penilaian derajat kerusakan hepar dengan metode ini dengan menilai tingkat nekrosis dari hepatosit. Hasil skor gambaran histopatologi tiap kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Man Whitney yang disajikan pada tabel berikut :

Tabel 5.1 Rerata skor \pm SD tingkat nekrosis hepar mencit pada semua perlakuan

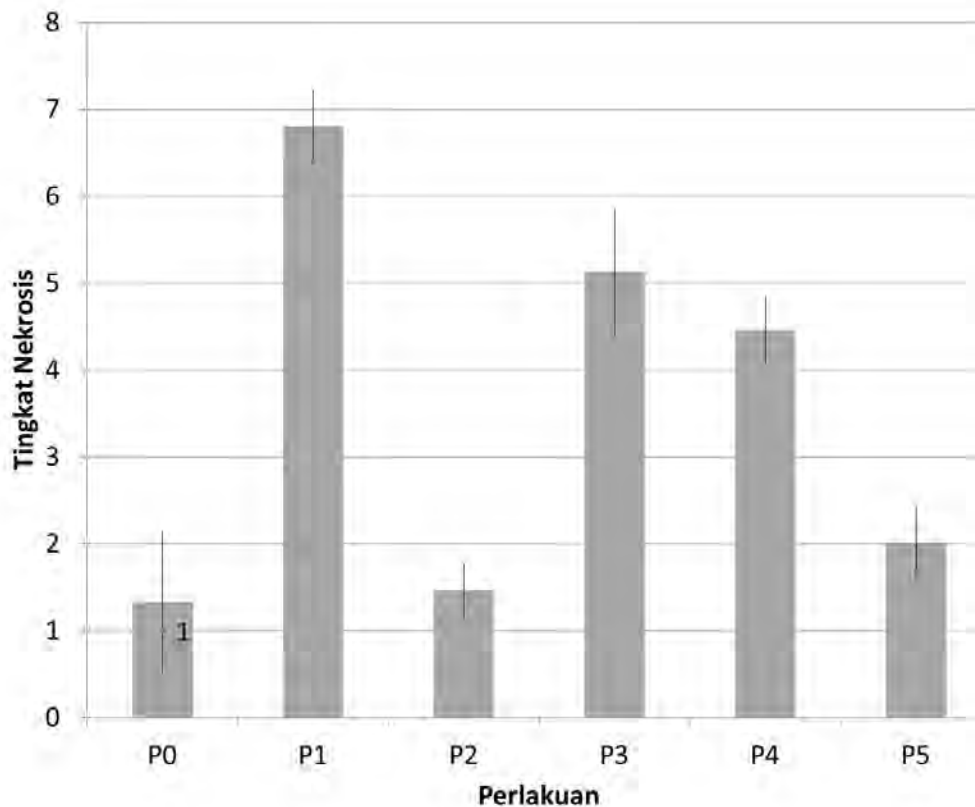
Perlakuan		Tingkat nekrosis (mean \pm SD)
P0	Aquadest steril 0,1 ml	1,33 ^a \pm 0,82
P1	Boraks 5,6 mg	6,80 ^c \pm 0,43
P2	Pasta Tomat 230 mg	1,46 ^a \pm 0,32
P3	Pasta Tomat 110 mg + Boraks 5,6 mg	5,13 ^b \pm 0,73
P4	Pasta Tomat 230 mg + Boraks 5,6 mg	4,46 ^b \pm 0,39
P5	Pasta Tomat 350 mg + Boraks 5,6 mg	2,00 ^a \pm 0,43

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan yang nyata perlakuan ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji Man Whitney (Lampiran 4). Rerata dan simpangan baku dari

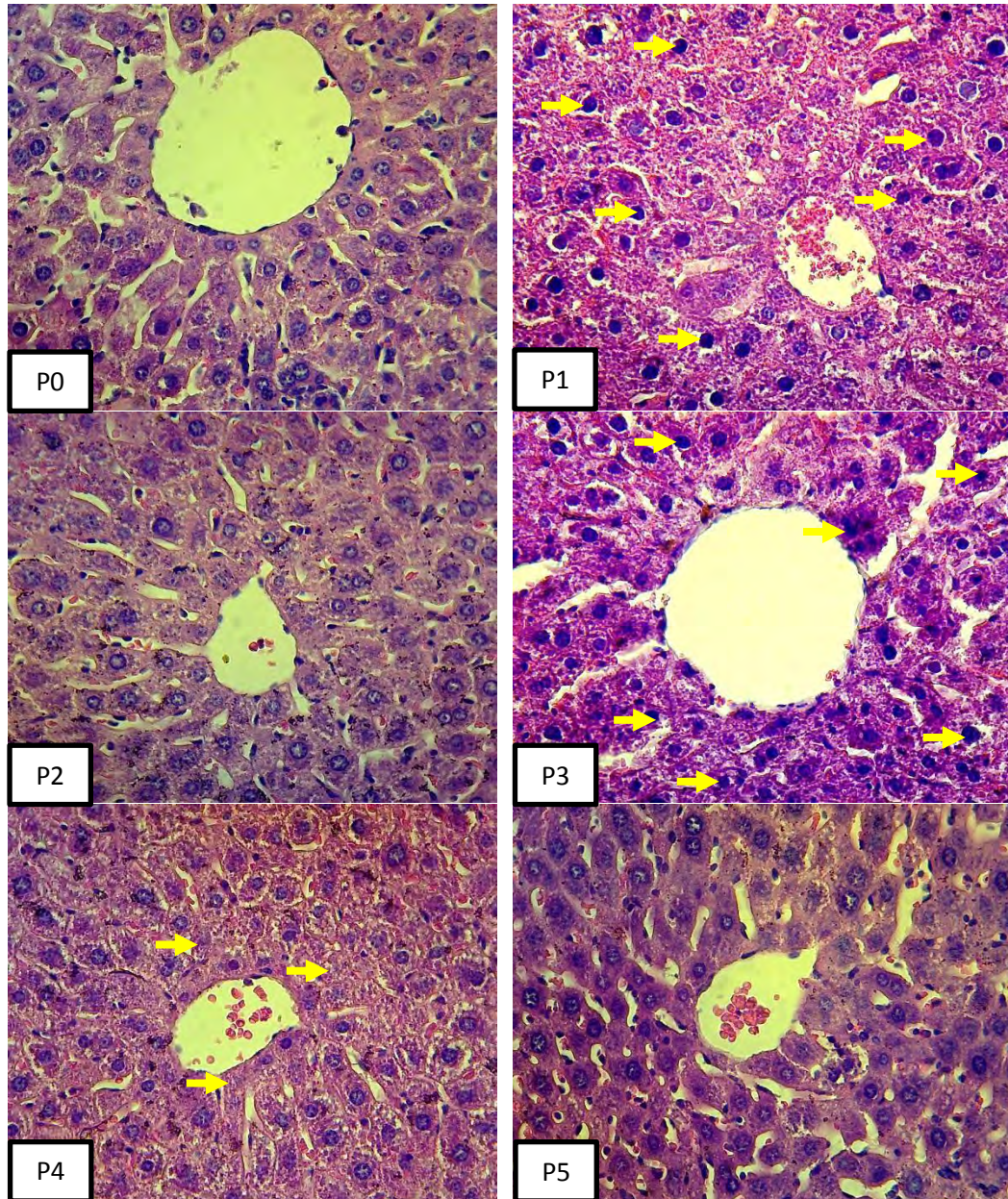
gambaran histopatologi hepar pada kelompok P0 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p>0,05$) dengan P2 dan P5, tetapi berbeda nyata ($p<0,05$) dengan P1, P3 dan P4. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat nekrosis pada kelompok P2 dan P5 sangat rendah sehingga nilai mean $1,46^a \pm 0,32$ dan $2^a \pm 0,43$ hampir sama dengan P0 yang digunakan sebagai kelompok kontrol negatif dengan nilai mean $2^a \pm 0,43$, sedangkan tingkat nekrosis dari P1, P3 dan P4 sangat tinggi jika dibandingkan dengan kelompok P0, P2 dan P5.

Kelompok P1 yang diberikan perlakuan boraks saja menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan nilai mean $6,8^c \pm 0,43$, nilai tingkat nekrosis tersebut sangat tinggi dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Pemberian dosis bertingkat pasta tomat sebagai preventif sebelum terpapar boraks pada kelompok P3, P4 dan P5 menunjukkan hasil dimana kelompok P3 dan P4 tidak berbeda nyata dengan nilai mean masing-masing $5,13^b \pm 0,73$ dan $4,46^b \pm 0,39$, tetapi kedua kelompok tersebut berbeda nyata ($P<0,05$) dengan kelompok P5 yang memiliki nilai mean $2^a \pm 0,43$. Perbedaan rerata tingkat nekrosis hepar pada setiap kelompok perlakuan pada gambaran histopatologi hepar dapat dilihat pada grafik 5.1.



Gambar 5.1 Grafik rerata tingkat nekrosis pada gambaran histopatologi hepar mencit pada berbagai perlakuan. (P0) mencit tanpa boraks dan tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P1) mencit dengan boraks saja tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P2) mencit dengan pencegahan dengan pasta tomat saja. (P3), (P4) dan (P5) mencit dengan paparan boraks dan pencegahan dengan pasta tomat dosis 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari.

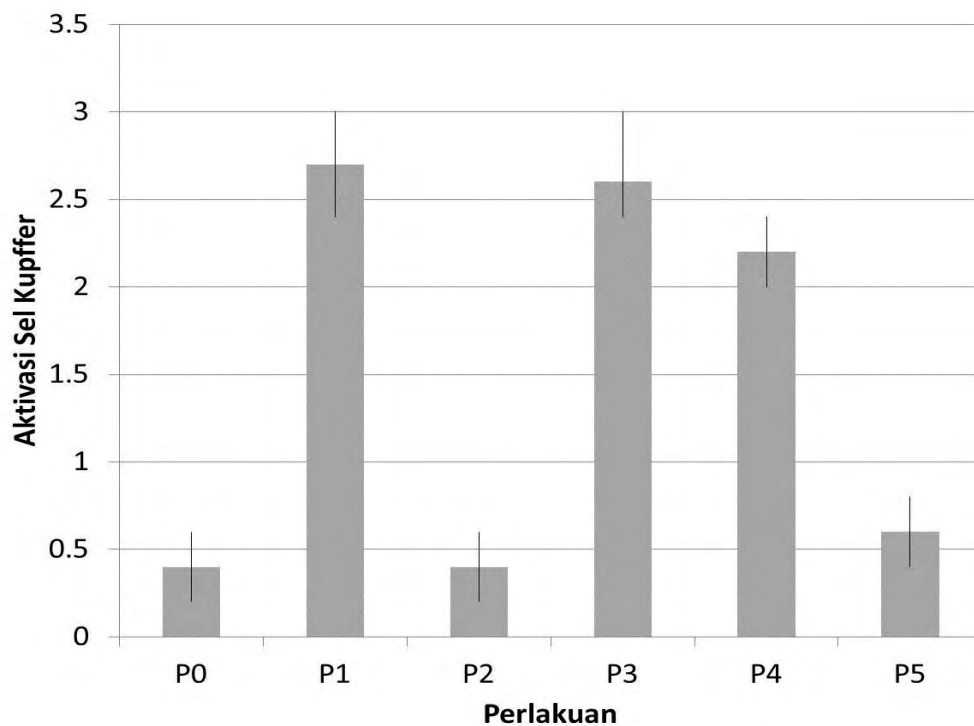
Hasil rerata didapatkan dari skoring gambaran Tingkat nekrosis hepatosit akan memberikan gambaran kerusakan hepatosit dengan inti berupa piknotis (inti melisut dan menjadi massa basofilik), karyoreksis (inti yang piknotis atau sebagian piknotis mengalami fragmentasi) dan karyolisis (hilangnya gambaran basofilik dari gambaran kromatin) dengan menggunakan mikroskop Nikon®Eclipse F2i dengan perbesaran 400x yang dapat dilihat pada Gambar 5.2.



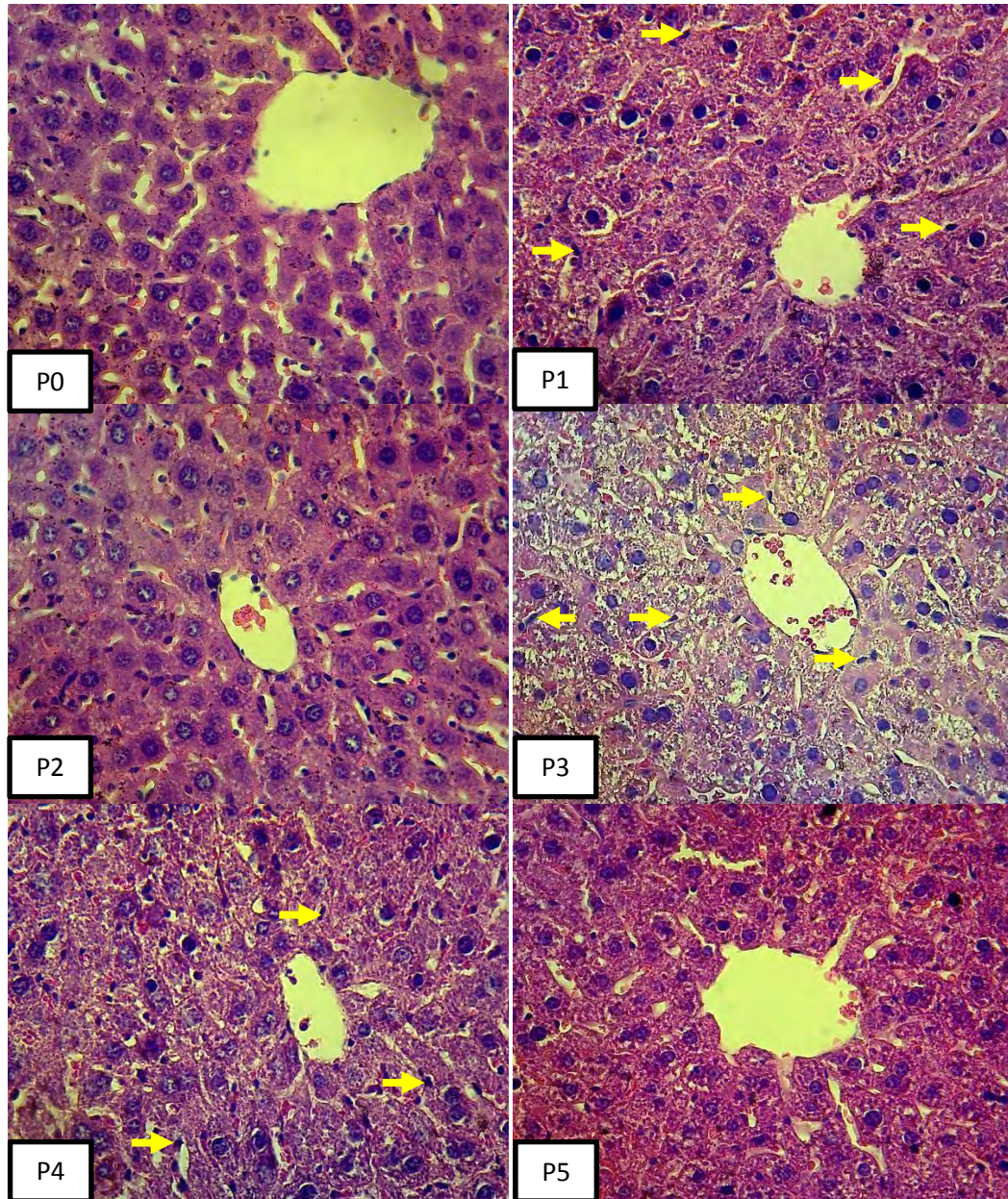
Gambar 5.2 Gambaran histopatologi tingkat nekrosis (→) hepar mencit dengan pewarnaan HE pada area vena sentralis (perbesaran 400x). (P0) mencit tanpa boraks dan tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P1) mencit dengan boraks saja tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P2) mencit dengan pencegahan pasta tomat. (P3), (P4) dan (P5) mencit dengan paparan boraks dan pencegahan dengan pasta tomat dosis 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari.

5.2 Aktivasi Sel Kupffer

Gambaran histopatologi hepar mencit dengan pewarnaan hematoxylin eosin (HE) pada penelitian ini dilakukan skoring lima lapang pandang yang berbeda. Rerata hasil skoring ativasi sel Kupffer dengan berbagai perlakuan dapat dilihat pada grafik (Gambar 5.3), sedangkan Gambaran histopatologi aktivasi sel Kupffer dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Gambar 5.3 Grafik rerata aktivasi sel Kupffer pada gambaran histopatologi hepar mencit pada berbagai perlakuan. (P0) mencit tanpa boraks dan tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P1) mencit dengan boraks saja tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P2) mencit dengan pencegahan pasta tomat. (P3), (P4) dan (P5) mencit dengan paparan boraks dan pencegahan dengan pasta tomat dosis 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari.



Gambar 5.4 Gambaran histopatologi aktivasi sel Kupffer (→)hepar mencit dengan pewarnaan HE pada area vena sentralis (perbesaran 400x). (P0) mencit tanpa boraks dan tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P1) mencit dengan boraks saja tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P2) mencit dengan pencegahan pasta tomat. (P3), (P4) dan (P5) mencit dengan paparan boraks dan pencegahan dengan pasta tomat dosis 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari.

Tabel 5.2 Rerata skor \pm SD aktivasi sel Kupffer hepar mencit pada semua perlakuan

Perlakuan		Aktivasi sel Kupffer (mean \pm SD)
P0	Aquadest steril 0,1 ml	0,43 ^a \pm 0,12
P1	Boraks 5,6 mg	2,66 ^c \pm 0,24
P2	Pasta Tomat 230 mg	0,40 ^a \pm 0,12
P3	Pasta Tomat 110 mg + Boraks 5,6 mg	2,63 ^b \pm 0,26
P4	Pasta Tomat 230 mg+ Boraks 5,6 mg	2,20 ^b \pm 0,17
P5	Pasta Tomat 350 mg + Boraks 5,6 mg	0,60 ^a \pm 0,17

Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$).

Rerata dan simpangan baku aktivasi sel Kupffer hepar mencit pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.2. Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Kruskal Wallis diketahui adanya perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dan dilanjut dengan uji Man Whitney untuk melihat masing-masing perlakuan yang mengalami perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dan tidak mengalami perbedaan yang nyata (Lampiran 4). Gambaran histopatologi hepar pada P0 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan P2 dan P5, tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan P1, P3 dan P4. Hal ini menunjukkan bahwa aktivasi sel Kupffer pada kelompok P2 dan P5 memiliki nilai mean masing-masing $0,4^a \pm 0,12$ dan $0,6^a \pm 0,17$ yang hampir sama dengan P0 sebagai kelompok kontrol negatif yakni sebesar $0,43^a \pm 0,12$, sedangkan aktivasi sel Kupffer dari P1, P3 dan P4 sangat tinggi jika dibandingkan dengan kelompok P0, P2 dan P5.

Kelompok P1 yang diberikan perlakuan boraks saja menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dengan nilai mean yang sangat tinggi yakni $2,66^c \pm 0,24$ dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Pemberian dosis

bertingkat pasta tomat sebagai preventif sebelum terpapar boraks pada kelompok P3, P4 dan P5 menunjukkan hasil dimana kelompok P3 dan P4 tidak berbeda nyata tetapi kedua kelompok tersebut berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan kelompok P5.

5.3 Ekspresi Interleukin 2 (IL-2)

Rerata dan simpangan baku hasil perhitungan IRS Ekspresi IL-2 dapat dilihat pada Tabel 5.3.

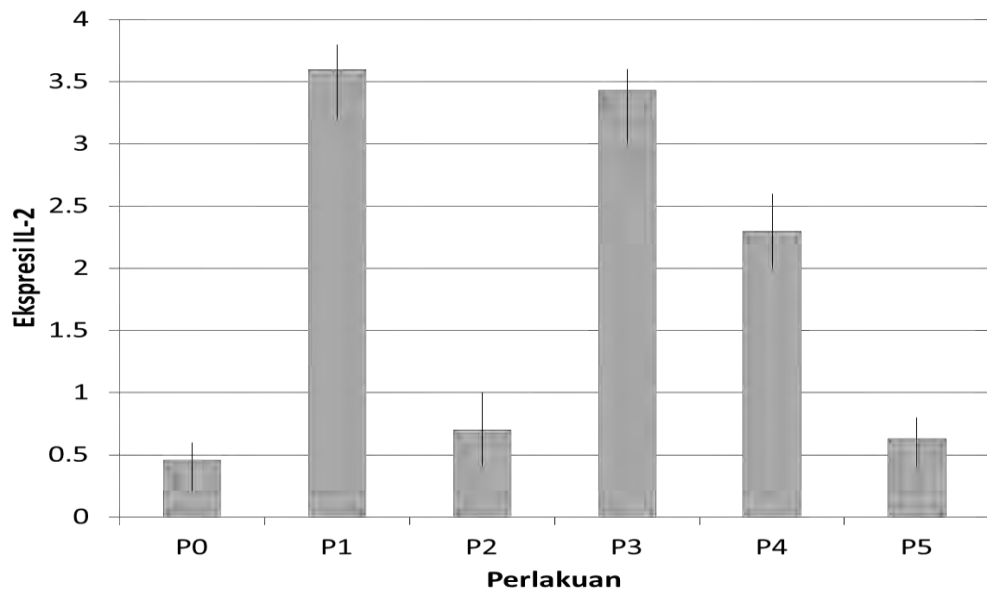
Tabel 5.3 Rerata skor \pm SD ekspresi IL-2 hepar mencit pada semua perlakuan

Perlakuan		Ekspresi IL-2 (mean \pm SD)
P0	Aquadest steril 0,1 ml	0,46 ^a \pm 0,16
P1	Boraks 5,6 mg	3,60 ^c \pm 0,21
P2	Pasta Tomat 230 mg	0,70 ^a \pm 0,20
P3	Pasta Tomat 110 mg+ Boraks 5,6 mg	3,43 ^c \pm 0,23
P4	Pasta Tomat 230 mg+ Boraks 5,6 mg	2,33 ^b \pm 0,30
P5	Pasta Tomat 350 mg + Boraks 5,6 mg	0,63 ^a \pm 0,15

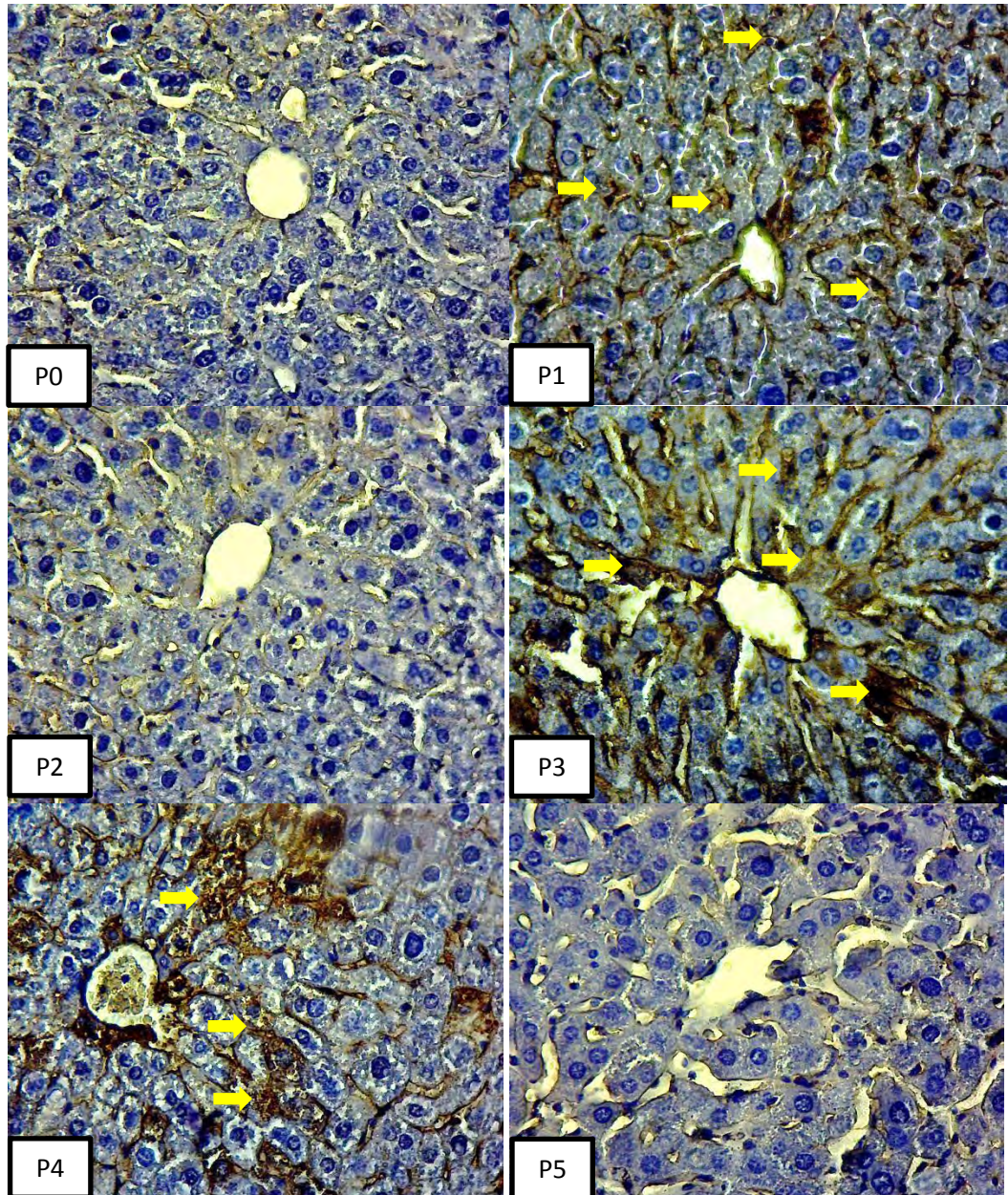
Keterangan: Superskrip yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji Kruskal Wallis diketahui adanya perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dan dilanjut dengan uji Man Whitney (Lampiran 4) didapatkan nilai mean dari gambaran histopatologi hepar yang mengekspresikan IL-2 tertinggi pada kelompok (P1) dengan pemberian dosis saja sebesar 5,6mg/ 20 g BB/hari dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Pada P0 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) dengan P2 dan P5, tetapi berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan P1, P3 dan P4. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-2 pada kelompok P2 dan P5 yang memiliki nilai mean masing-masing 0,7^a \pm 0,2 dan 0,63^a \pm 0,15 yang hampir sama dengan kelompok kontrol negatif

(P0) yakni sebesar $0,43^a \pm 0,12$. Ekspresi IL-2 yang tinggi pada kelompok P1 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada kelompok P3 yang diberikan pasta tomat sebagai sebelum dipapar oleh boraks. Hasil rerata tingkat ekspresi IL-2 dari gambaran histopatologi (Gambar 5.6) pada kelompok P3, P4, dan P5 disajikan pada grafik (Gambar 5.5) yang diberikan perlakuan preventif dengan dosis pasta tomat bertingkat (110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari) sebelum dipapar boraks menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan.



Gambar 5.5 Grafik rerata ekspresi interleukin 2 (IL-2) pada gambaran histopatologi hepar mencit pada berbagai perlakuan. (P0) mencit tanpa boraks dan tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P1) mencit dengan boraks saja tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P2) mencit dengan pencegahan pasta tomat. (P3), (P4) dan (P5) mencit dengan paparan boraks dan pencegahan dengan pasta tomat dosis 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari.



Gambar 5.6 Gambaran histopatologi ekspresi IL-2 (➡) dengan pewarnaan IHK pada area vena sentralis (perbesaran 400x). (P0) mencit tanpa boraks dan tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P1) mencit dengan boraks saja tanpa pencegahan dengan pasta tomat. (P2) mencit dengan pencegahan pasta tomat saja. (P3), (P4) dan (P5) mencit dengan paparan boraks dan pencegahan dengan pasta tomat dosis 110 mg/20 g BB/hari, 230 mg/20 g BB/hari, dan 350 mg/20 g BB/hari.

BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk menjelaskan potensi hepatoprotektif pasta tomat terhadap ekspresi IL-2, tingkat nekrosis dan aktivasi sel Kupffer pada gambaran histopatologi hepar mencit yang dipapar boraks. Pasta tomat yang diberikan memiliki mekanisme kerja dalam mencegah inflamasi karena didalamnya terkandung likopen yang dapat mencegah terjadinya *Reactive Oxidative Stress* (ROS) yakni dengan menghambat TLR4 yang diketahui sebagai proinflamasi. Likopen melindungi kerusakan hepatosit akibat radikal bebas yang mengambil pasangan ion pada permukaan dinding sel. Hal ini terjadi karena radikal bebas memiliki ketidakseimbangan ion, maka dengan adanya likopen yang dapat memberikan ion kepada radikal bebas sehingga tidak terjadi pergeseran ion yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel. Likopen sebagai antioksidan dapat menonaktifkan hidrogen peroksidase, melindungi limfosit dari nitrogen oxide (NO) yang merusak membran dan terjadinya kematian sel dua kali lebih efisien di banding β -karoten (Rissanen et al., 2000)

Boraks yang masuk kedalam tubuh sekitar 81-95% diabsorpsi sempurna antara 24 jam-96 jam. Ketika boraks berada di dalam tubuh, boraks akan berubah menjadi bentuk asam borat atau anion $4B(OH)_4^-$ yang akan membentuk kompleks khelat dengan *cis-adjacent hidroxyl* pada gula ribosa NAD, pada saat bersamaan kation dari nikotinamida memberikan stabilitas elektrostatis pada kompleks khelat. Konfigurasi seperti ini, NAD dan NADP tidak bisa digunakan oleh enzim dehydrogenase pada proses glikolisis, jalur pentosa fosfat atau jalur *tricarboxylic acid* dan juga mekanisme pembentukan energi seperti produksi ATP akan berhenti (Bernard et al., 2010). Apabila cadangan glikogen telah habis sedangkan

mitokondria dalam keadaan inaktivasi, maka proses degradasi sel akan terjadi. Kegagalan mempertahankan struktur dan fungsi sel berakhir dengan nekrosis hepatosit (Lorz *et al.*, 2005).

Paparan boraks sebanyak 5,6 mg/ 20 g BB/ hari yang diberikan pada mencit secara per oral pada penelitian ini terbukti dapat merusak hepar. Pada kelompok kontrol negatif (P0) didapatkan mencit yang tidak mengalami kerusakan hepar, hal ini ditunjukkan dari tidak adanya nekrosis hepatosit. Hasil yang kontras didapatkan dari kelompok P1 yang hanya dipapar boraks saja tanpa pemberian terapi pasta tomat memiliki tingkat nekrosis yang sangat tinggi. Kedua kelompok tersebut terbukti dari tingkat nekrosis pada P0 $1,33 \pm 0,82$ yang kontras dengan tingkat nekrosis P1 $6,8 \pm 0,43$. Manifestasi awal kerusakan membran sel yang dapat mengakibatkan nekrosis yakni ion $4B(OH)4^-$ mencari pasangan ion yang ada pada membran sel sehingga ketika ion tersebut terambil oleh radikal bebas maka akan terjadi pergeseran ion yang akan merusak dinding sel dan mengaktifkan TLR4 sebagai proinflamatori. Ketika dinding sel rusak sodium (Na^+) tertahan dalam sel sehingga sitoplasma lebih pekat, akibatnya akan menarik H_2O dan Calcium (Ca^{++}) ke dalam sel sedangkan potassium (K^+) dan magnesium (Mg^{++}) bergerak keluar sel. Keadaan tersebut akan merubah bentuk sel berupa pembengkakan sel atau degenerasi hidropik, jika keadaan tersebut terus berlanjut maka sel akan gagal untuk mempertahankan struktur dan fungsinya sehingga sel akan mengalami nekrosis (Chen *et al.*, 2014). Sel yang nekrosis menunjukkan warna yang lebih eosinofilik karena hilangnya warna basofilik yang dihasilkan oleh rRNA pada sitoplasma serta meningkatnya pengikatan eosin oleh protein sitoplasma yang rusak. Kematian sel akan memberikan gambaran inti

sebagai berikut : 1) piknosis, inti melisut dan terjadi peningkatan warna basofilik. Pada keadaan ini, DNA nampak padat dan menjadi massa basofilik yang solid, 2) kariorheksis, inti yang piknotik atau sebagian piknotik mengalami fragmentasi, 3) Kariolisis berupa hilangnya gambaran basofilik dari gambaran kromatin (McGavin and Zachary, 2012).

Hasil yang sama juga terlihat pada aktivasi sel Kupffer yakni $P0\ 0,43 \pm 0,12$ sedangkan pada kelompok $P1\ 2,66 \pm 0,24$. Tingginya aktivasi sel Kupffer tersebut sesuai dengan pendapat yang sama disampaikan oleh Wheeler (2003) yang menyatakan bahwa sel-sel Kupffer yang teraktivasi berfungsi membersihkan darah dari bahan asing dan zat beracun dan memfagosit sel-sel yang mengalami nekrosis. Pada pemeriksaan gambaran histopatologi hepar, ekspresi IL-2 juga menunjukkan adanya respon imun tubuh dari teraktivasinya sel Kupffer ketika ada bahan toxic masuk kedalam tubuh. Ekspresi IL-2 terlihat sangat kontras dari kedua kelompok perlakuan pada $P0\ 0,46 \pm 0,16$ dengan $P1\ 3,6 \pm 0,21$, dimana ekspresi IL-2 pada kelompok P1 lebih tinggi. Boraks yang merupakan bahan toksik jika masuk ke dalam tubuh maka akan mengaktifkan TLR4 sebagai proinflamatori pada permukaan sel. Setiap TLRs mempunyai struktur yang sama dan mempunyai karakter menyalurkan sinyal melalui NF-Kb. TLR yang berbeda menimbulkan respons biologis spesifik karena keterlibatan diferensial dari molekul adaptor yang mengandung domain Toll/interleukin 1, termasuk MyD88 dan TIR-domain-adaptor interferon- β (TRIF). NF-Kb yang segera translokasi ke nukleus untuk menginduksi ekspresi gen yang sesuai. NF-Kb mengeluarkan P65 dan P50 yang menginisiasi terekspresinya sitokin pada sel Kupffer. Sitokin adalah mediator berupa peptide yang berasal dari berbagai sel. IL-2, TNF α , IFN γ , IL-12

merupakan sitokin yang di ekskresikan pada proses inflamasi. IL-2 memiliki peranan aktif dalam menekan diferensiasi Th17 (proinflamasi) dan meningkatkan kemampuan sel Kupffer dalam memfagosit bahan toxic seperti boraks atau zat beracun lainnya (Hoyer, 2008).

Pada pemeriksaan histopatologi hepar diketahui bahwa pasta tomat mampu menurunkan tingkat nekrosis berdasarkan atas penurunan nilai rerata pada kelompok P5 yang diberi dosis 350mg/20 g BB/hari, dimana nilai rerata kelompok P5 tidak berbeda nyata dengan kelompok P0 atau kontrol negatif. Hal ini menunjukkan tingkat nekrosis hepatosit mendekati keadaan normal. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Tappi *et al.*, (2013) yang juga membuktikan bahwa pemberian olahan tomat berupa jus tomat 3ml selama 7 hari pasca induksi karbon tetraklorida (CCl₄) menunjukkan perbaikan hepatosit yang telah rusak.

Pada pemeriksaan aktivasi sel Kupffer kelompok P5 dengan pemberian pasta tomat dosis 350mg/20 g BB/hari didapatkan rerata $0,43 \pm 0,12$. Hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan P0 sebagai kelompok kontrol ($0,6 \pm 0,17$) dan P2 sebagai kelompok yang hanya diberi pasta tomat saja tanpa paparan boraks ($0,4 \pm 0,12$). Hal ini menunjukkan bahwa adanya aktivasi sel Kupffer yang rendah ketika hepar sudah dipreventif oleh pasta tomat. Kondisi hepatosit pada kelompok P5 yang memiliki tingkat nekrosis cukup rendah maka sel Kupffer yang teraktivasi juga sangat rendah hingga mendekati normal.

Pada pemeriksaan ekspresi sitokin IL-2 pada (Tabel 5.3) menunjukkan penurunan tingkat ekspresi IL-2 pada kelompok yang diberikan preventif berupa likopen pada pasta tomat, terbukti pada kelompok P5 dimana nilai mean pada

kelompok tersebut tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif yakni P0. Hal ini menunjukkan bahwa adanya penghambatan dari TLR4 yang merupakan pro inflamasi yang akan meningkat ketika adanya paparan bahan toxic. Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat yang disampaikan oleh Blanche and Wang (2014) bahwa likopen mampu menghambat TLR4 sebagai pro inflamasi ketika adanya persinyalan yang dimediasi TLR4 yang nantinya juga dapat mengaktifkan Nuclear Factor Kappa B (NF-KB). Aktivasi pensinyalan pro-inflamasi NF-κB terlibat dalam memproduksi sitokin dari tumor-promoting /inflamasi, sehingga merangsang proliferasi sel. Pada dasarnya setiap TLRs mempunyai struktur yang sama dan mempunyai karakter menyalurkan sinyal melalui NF-Kb. TLR yang berbeda menimbulkan respons biologis spesifik karena keterlibatan diferensial mereka dari molekul adaptor yang mengandung domain Toll/interleukin 1, termasuk MyD88 dan TIR-domain-adaptor interferon-β (TRIF). Degradasi NF-Kb inhibitor I-Kb melepaskan NF-Kb yang segera translokasi ke nukleus untuk menginduksi ekspresi gen yang sesuai. NF-Kb mengeluarkan P65 dan P50 yang menginisiasi terekspresinya sitokin IL-2, TNFα, IFNγ, IL-12. Pendapat lain mengenai likopen yang diungkapkan Zou et al. (2012) bahwa likopen yang dapat mencegah terjadinya Reactive Oxidative Stress (ROS) dengan memberikan ion dan penghambatan pembentukan ROS secara langsung oleh *material scavenging* ROS atau secara tidak langsung dengan kemampuannya dalam mengambat ekspresi enzim RAD yang memproduksi NADPH oksidase. Selain itu likopen juga dapat menghambat TLR4 yang diketahui sebagai proinflamasi. Likopen juga terbukti mengurangi pembentukan kompleks TLR4 dengan bantuan adapter pada membran. Hal ini disebabkan oleh penurunan transportasi TLR4 ke rakit lipid atau

juga dapat mengganggu asosiasi adapter TLR4, yang mengarah ke inaktivasi TLR4.

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pemberian likopen dalam pasta tomat kelompok P5 dosis 350mg/20 g BB/ hari sebagai pencegahan pada mencit yang dipapar boraks dapat menurunkan kerusakan hepar terlihat dari penurunan aktivasi sel Kupffer dan ekspresi IL-2 yang diimbangi dengan indikator menurunnya tingkat nekrosis hepatosit bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (P0), pemberian pasta tomat utamanya P5 terbukti memiliki daya perlindungan pada hepar yang dipapar boraks.

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa adanya perlindungan pasta tomat dalam mencegah kerusakan hepar yang dibuktikan dengan adanya :

1. Penurunan tingkat ekspresi IL-2 pada pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) dengan dosis 350 mg/20 g/hari yang diamati pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipapar boraks.
2. Penurunan tingkat nekrosis dan aktivasi sel kupffer pada pemberian pasta tomat (*Lycopersicon esculentum*) dosis 350 mg/20 g/hari yang diamati pada gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang dipapar boraks

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan konsumsi likopen sebesar 350 mg/20 g BB/ hari dalam pasta tomat atau setara dengan buah tomat segar sebanyak 4 buah.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A., R.A. Saleh, M.A. Bedaiwy. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 79: 829-843.
- Arab, L. and S. Steck. 2000. Lycopene and Cardiovascular Disease. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71 : 1691-1695.
- Arsad, S. S., N. M. Esa and H. Hamzah. 2014 Schott Extract. *Cytology and Histology Journal* S4.
- Bayod, E., E.P. Willers, E. Tornberga. 2008. Rheological and structural characterization of tomato paste and its influence on the quality of ketchup. *Food Science and Technology* 41 (2008) 1289–1300
- Bernard, C. E., M. C. Harrass and M. J. Manning. 2010. Boric Acid and Inorganic Borate Pesticides. *Hayess' Handbook of Pesticide Toxicology*. Elsevier.inc.
- Breinholt, V., S. T. Lauridsen, B. Daneshvar, & J. Jakobsen. 2000. Doseresponse effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett*. 154: 201–210.
- Blanche, C.I., X. Wang. 2014. Non-Alcoholic Steatohepatitis and Hepatocellular Carcinoma: Implications for Lycopene Intervention. *Nutrients*, 6, 124-162.
- Cahyadi, W. 2009. Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Edisi Kedua. Jakarta: Bumi Aksara. Halaman 134.
- Charlotte, L. O. 2002. Histology Part 2 Female Reproductive System. Oklohama State University Collage of Veterinary Medicine.
- Chen, D., M. Song, O. Mohamad and S.P. Yu1. 2014. Inhibition of Na⁺ /K⁺ - ATPase induces hybrid cell death and enhanced sensitivity to chemotherapy in human glioblastoma cells. *BMC Cancer* 2014, 14:716
- Corwin, E.J. 2001. Buku Saku Patofisiologi. Alih Bahasa dr. Brahm U. Pendit, Sp.K. K. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta.
- Dalimartha, S. 2001. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis. Penebar Swadaya. Jakarta
- Davies, J. 2000. Tomatoes and Health. *Journal of Social Health*. vol. 120 No. 2, pp. 81-82.

- Diener, R. M. and M. S. Christian. 2008. Lycopene Overview: What It Is and What It Does, Lycopene Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties. Science Publisher. London United Kingdom. 4 – 10.
- Dixon, L. J., M. Barnes, H. Tang, M.T. Pritchard, L.E. Nagy. 2013. Kupffer Cells in the Liver. American Physiological Society. Compr Physiol 3:785-797.
- Duerr, J.S. 2006. Immunoistocemistry. Worm Book 10.1895. USA
- Firmanto, B.H. 2011. Praktis Bercocok Tanam Kedelai Secara Intensif. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Gautier, J. C.2011. Drug Safety Evaluation: Methods dan protocol. Methods in Molecular Biology. Vol. 691. 10. 1007/978-1-60761-849-2
- Guyton, A. C., dan J.E. Hall. 2008. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Jakarta: EGC
- Hamid, A. A., O.O Aiyelaagbe, L.A. Usman, O.M. Ameen, dan A. Lawal. 2010. Antioxidant : its Medidal and Pharmacological Applications. African Journal of Pure and Applied Chemistry vol.4(8):142-151
- Harland, G. and S. L. Craxton. 2009. Tomato a Guide to the Pleasure of Choosing, Growing, and Cooking. Dorling Kindersley Limited. New York.
- Hoyer, K. K., H. Doms, L. Barron, A.K. Abbas. 2008. Interleukin-2 in the development and control of inflammatory disease. J Compilation Vol. 226: 19–28
- Jin, E., M. Ren, W. Liu, S. Liang, Q. Hu, Y. Gu, and S. Li. 2017. Effect of boron on thymic cytokine expression, hormone secretion, antioxidant functions, cell proliferation, and apoptosis potential via the ERK1/2 signaling pathway. J. Agric. Food Chem 10.1021/acs.jafc.7b04069
- Jones, B. J. 2008. Tomato Plant Culture. In the field, Greenhouse and Home Garden. CRC Press. New York. 399 p.
- Junqueira, L.C., J. Carneiro, R.O. Kelley. 2007. Histologi Dasar. Edisi ke-5. Tambayang J., penerjemah. Terjemahan dari Basic Histology. EGC. Jakarta.
- Kailaku, S., K.T. Dewandari, Sunarmani. 2007. Potensi Likopen Dalam Tomat Untuk Kesehatan. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Vol 3.
- Kaur, R., K. Kapoor, dan H. Kaur. 2011. Plants as A Source of Anticancer Agents. J Nat Prod Plant Resour. 1 (1) : 119 – 12.

- Khamid, I. R. 2006. Bahaya Boraks Bagi Kesehatan. Jakarta. Penerbit Kompas.\
- Kopuri, R. K. C., C. Chakravarthy, S. Sunder, R. S. Patil, W. Shivaraj, G. Arakeri. 2016. A Comparative Study of the Clinical Efficacy of Lycopene and Curcumin in the Treatment of Oral Submucous Fibrosis Using Ultrasonography. *J international One Health* 8 (6) : 687-691.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 5 – 6.
- Larsen, P. B., B.V. Nielsen, F.L. Fotel, P. Kortegaard, T. Slothuus, O. Hjelmar. 2015. Survey of Boric acid and sodium borates (borax). The Danish Environmental Protection Agency 978-87-93352-23-0
- Lorz, C., P. Justo, A. B. Sanz, J. Egido, A. Ort'z. 2005. Role of Bcl-xL in paracetamol-induced tubular epithelial cell death. *Kidney International*, Vol. 67 (2005), pp. 592–601
- McGavin M. D. and Zachary, J. F. 2012. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 5th Edition. Mosby Elsevier. USA.
- Matos, H. R., P. D. Mascio, and M. H. G. Medeiros. 2000. Protective Effect of Lycopene on Lipid Peroxidation and Oxidative DNA Damage in Cell Culture. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 383(1): 56 – 59.
- Maulida, D. dan N. Zulkarnaen. 2010. Ekstraksi Antioksidan (Likopen) Dari Buah Tomat Dengan Menggunakan Solven Campuran, N-heksana, Aseton dan Etanol, Seminar Tugas Akhir, Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universtas Diponegoro, Semarang.
- Musser, G. 2014. Mouse (genus Mus). *Encyclopædia Britannica*. Chicago.
- Nurkholidah, Ilza, C. Jose. 2012. Analisis Kandungan Boraks Pada Jajanan Bakso Tusuk Di Sekolah Dasar Di Kecamatan Bangkinang Kabupaten Kampar. *Jurnal Ilmu Lingkungan* 6(2)
- Pellicoro, A., P. Ramachandran, J.P. Iredale and J.A. Fallowfield. 2014, Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ, *Nature review : Immunology* volume 14, pp 181-194
- Pracaya. 2010. Hama dan Penyakit Tanaman. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Pratiwi, A.S., 2009. Pengaruh Pemberian Jua Buah Tomat Terhadap Perubahan Warna Gigi pada Proses Pemutihan Gigi pada Proses Pemutihan Gigi Secara In Vitro. Karya Tulis Ilmiah, Universitas Diponegoro, Semarang.

- Reessanen, T. 2003. Association of lycopene and dietary intake of fruits, berries, and vegetables with atherosclerosis and CVD. Departement Of Public Health and General Practise: University Of Kuopio.
- Riandini, N. 2008. Bahan Kimia dalam Makanan dan Minuman. Shakti Adiluhung. Bandung
- Rissanen, H. T., S. Voutilainen, K. Nyyssonen. 2000. Low plasma lycopene concentrations is associated with increased intima-media thickness of the carotid artery wall. *Arterioscler Thromb Vasc* 20:2677-81.
- Ruehl-Fehlert, C., B. Kittel, G. Morawietz, P. Deslex, C. Keenan, C. R. Mahrt, T. Nolte, M. Robinson, B. P. Stuart and A. Desch. 2003. Revised Guides for Organ Sampling and Trimming in Rats and Mice. *Exp Toxic Pathol* 55: 2– 3.
- Sanjiv, A. and A. V. Rao. 2000. Tomato Lycopene and Its Role in Human Health and Chronic Disease. *Canadian Medical Association Journal*. Vol. 163(6) : 739-744.
- Sarkar, P. K., P. K. Prajapati, V. J. Shukla, B. Ravishankar. 2017. Evaluate of acute, sub acute toxicity and cardiac activity of poccus borax. *Indian journal of natural products and resources* vo. 8(4) pp. 299-305
- Silvia, S. 2004, Uji Toksisitas Subkronis Boraks (Sodium Tetraborat) Pada Hepar Dan Ginjal Mencit (Mus Musculus L) Galur Swiss Webster, Central Library Institute Technology Bandung.
- Sloane, E. 2004. Anatomi dan fisiologi untuk Pemula. Jakarta: EGC. hlm. 291
- Sulistiadi, A.M. 2007. Pemanfaatan Tomat dalam Pembuatan Minuman Tomat Rendah Kalori Kaya Antioksidan. Scientific Repasitory. Institut Pertanian Bogor
- Syah, D. 2005. Manfaat Dan Bahaya Tambahan Pangan. Himpunan Alumni Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bandung.
- Tacke, F., H. W. Zimmerman. 2014, Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis, *Journal of Hepatology* vol. 60:1090–1096
- Tappi, E. S., P. Lintong, L. L. Loho. 2013. Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar Yang Diberikan Jus Tomat (*Solanum lycopersicum*) Pasca Kerusakan Hepar Wistar Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)
- Tatukude, R. L., L. Loho., M. P. Linton. 2014. Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Wistar Yang Diberikan Boraks. *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, Volume 2, Nomor 3

- The Jackson Laboratory. 2015. Jax[®] Mice, Clinical and Research Service Catalog. United State of America.
- Thompson, K. A., M. R. Marshall, C. A. Sims, C. I. Wei, S. A. Sargent, J. W. Scott. 2000. Cultivar, Maturity, and Heat Treatment on Lycopene Content in Tomatoes. *Journal of Food Science*. Vol. 65, No. 5.
- Tranggono dan Latifah. 2007. Buku pegangan ilmu pengetahuan osmetik. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Tsang, G. 2005. Lycopene in Tomatoes and Prostate Cancer.
- Tugiyono. 2007. Budidaya Tanaman Tomat. PT. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Vepriati, N. 2007. Surveilans Bahan Berbahaya pada Makanan di Kabupaten Kulon Progo. Kulon Progo : Dinkes Kulon Progo.
- Weilian, H., Dehui D., Wei L. 2013. In Vivo Antioxidant Activity of Lycopene from *Blakeslea Trispora* in Rats. 2nd International Conference on Environment, Energy and Biotechnology, IPCBEE vol.51, IACSIT Press, Singapore.
- Wheeler, M. D. 2003. Endotoxin, Kupffer Cells and Alcoholic Liver Disease. *Alcohol Research & Health*. Vol. 27(4): 300-306
- Wibowo, D. S. dan W. Paryana 2009. Anatomi Tubuh Manusia edisi I. Yogyakarta: Graha Ilmu : 347-352.
- Zou, J., D. Feng, W. Ling, R. Duan. 2012. Lycopene suppress proinflammatory response in lipopolisaccharide-stimulated macrophages by inhibiting ROS-induced trafficking of TLR4 to lipid raft-like domain. *J nutritional biochemistry* 08-011.

Lampiran 1. Tabel Konversi Perhitungan Dosis untuk Manusia dan Berbagai Jenis Hewan

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,225	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,47	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 Kg	0,008	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,16	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Sumber : Kusumawati, 2004

Lampiran 2. Perhitungan Dosis Boraks dan Pasta Tomat pada Mencit
Perhitungan Dosis Boraks

Diketahui :

Berat mencit dalam tabel (A) : 20 g

Berat mencit yang digunakan untuk penelitian (B) : 20 g

Nilai Konversi tikus \longrightarrow mencit dalam tabel (C) : 0,14

Dosis pada mencit 200 g (D) : 40 mg

Ditanyakan : Dosis boraks pada mencit.

Penyelesaian :

Rumus dosis :

$$\frac{B}{A} \times C \times D =$$

Dosis mencit :

$$\frac{20}{20} \times 0,14 \times 40 = 5,6 \text{ mg}$$

Perhitungan Dosis Pasta tomat

Dalam penelitian Sugeng dkk., (2010) disebutkan bahwa likopen dengan dosis 4 mg/kg BB untuk tikus putih dewasa *Sprague-Dawley* mampu memberi efek positif terhadap diameter tubulus seminiferus testis yang terpapar rokok berfilter.

$$\text{Dosis likopen tikus putih} = 4 \text{ mg/kg BB}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis pada tikus putih (BB } \pm 200 \text{ g)} &= 0,2 \text{ kg} \times 4 \text{ mg/kg} \\ &= 0,8 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis likopen mencit (BB } \pm 20 \text{ g)} &= \frac{20 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,8 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 0,112 \text{ mg} \end{aligned}$$

Kandungan likopen dalam pasta tomat = 48 mg / 100 g

$$\begin{aligned} \text{Pasta tomat dosis I} &= \frac{1}{2} \times \frac{0,112 \text{ mg}}{48 \text{ mg}} \times 100 \text{ g} \\ &= 0,11 \text{ g} \\ &= 110 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Pasta tomat dosis II} &= \frac{0,112 \text{ mg}}{42 \text{ mg}} \times 100 \text{ g} \\ &= 0,23 \text{ g} \\ &= 230 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Pasta tomat dosis III} &= \frac{3}{2} \times \frac{0,112 \text{ mg}}{48 \text{ mg}} \times 100 \text{ g} \\ &= 0,35 \text{ g} \\ &= 350 \text{ mg} \end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan Pengenceran Dosis Pasta Tomat dan Boraks

Pasta tomat dosis I = 0,11 g/0,2 ml
1,1 g/ 20 ml

Pasta tomat dosis II = 0,23 g/0,2 ml
2,3 g/20 ml

Pasta tomat dosis III = 0,35 g/0,2 ml
3,5 g/20 ml

Dosis boraks = 5,6 mg/0,1 ml
1120 mg/20 ml
1,12 g/20 ml

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Nekrosis * Perlakuan	36	100.0%	0	0.0%	36	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries^a

		Nekrosis
P0	1	1.60
	2	2.40
	3	1.60
	4	.00
	5	.80
	6	1.60
	Mean	1.3333
	Median	1.6000
	Total Minimum	.00
	Maximum	2.40
	Std. Deviation	.82624
Perlakuan	1	6.40
	2	6.80
	3	6.40
	4	6.80
	5	7.60
	6	6.80
	Mean	6.8000
	Median	6.8000
	Total Minimum	6.40
	Maximum	7.60
	Std. Deviation	.43818
P2	1	1.60
	2	.80
	3	1.60

	4	1.60
	5	1.60
	6	1.60
	Mean	1.4667
	Median	1.6000
Total	Minimum	.80
	Maximum	1.60
	Std. Deviation	.32660
	1	4.80
	2	4.40
	3	5.60
	4	4.80
	5	6.40
P3	6	4.80
	Mean	5.1333
	Median	4.8000
Total	Minimum	4.40
	Maximum	6.40
	Std. Deviation	.73394
	1	4.00
	2	4.80
	3	4.40
	4	4.00
	5	4.80
P4	6	4.80
	Mean	4.4667
	Median	4.6000
Total	Minimum	4.00
	Maximum	4.80
	Std. Deviation	.39328
	1	1.60
	2	2.40
P5	3	2.40
	4	1.60

	5	1.60
	6	2.40
	Mean	2.0000
	Median	2.0000
Total	Minimum	1.60
	Maximum	2.40
	Std. Deviation	.43818
	Mean	3.5333
	Median	3.2000
Total	Minimum	.00
	Maximum	7.60
	Std. Deviation	2.15619

a. Limited to first 100 cases.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Nekrosis	P0	6	7.83
	P1	6	33.33
	P2	6	7.92
	P3	6	26.33
	P4	6	22.83
	P5	6	12.75
	Total		36

Test Statistics^{a,b}

	Nekrosis
Chi-Square	31.330
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Perlakuan

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P0	6	3.50	21.00
	P1	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.929
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P0	6	6.33	38.00
	P2	6	6.67	40.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	17.000
Wilcoxon W	38.000
Z	-.191
Asymp. Sig. (2-tailed)	.849
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.937 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	3.50	21.00
Nekrosis	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a		Nekrosis
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		21.000
Z		-2.923
Asymp. Sig. (2-tailed)		.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	3.50	21.00
Nekrosis	P4	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a		Nekrosis
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		21.000
Z		-2.929
Asymp. Sig. (2-tailed)		.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	5.00	30.00
Nekrosis	P5	6	8.00	48.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	30.000
Z	-1.570
Asymp. Sig. (2-tailed)	.116
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.180 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P1	6	9.50	57.00
	P2	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.017
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P1	6	9.33	56.00
	P3	6	3.67	22.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-2.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.004 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P1	6	9.50	57.00
	P4	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P1	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.950
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P2	6	3.50	21.00
	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.011
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P2	6	3.50	21.00
	P4	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a		Nekrosis
Mann-Whitney U		.000
Wilcoxon W		21.000
Z		-3.017
Asymp. Sig. (2-tailed)		.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P2	6	4.75	28.50
	P5	6	8.25	49.50
	Total	12		

Test Statistics ^a		Nekrosis
Mann-Whitney U		7.500
Wilcoxon W		28.500
Z		-2.021
Asymp. Sig. (2-tailed)		.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		.093 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P3	6	8.17	49.00
	P4	6	4.83	29.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	29.000
Z	-1.716
Asymp. Sig. (2-tailed)	.086
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.132 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P3	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.945
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Test

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Nekrosis	36	3.5333	2.15619	.00	7.60
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nekrosis	P4	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.950
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Kupffer * Perlakuan	36	100.0%	0	0.0%	36	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries^a

		Kupffer	
Perlakuan	P0	1	.40
		2	.40
		3	.60
		4	.40
		5	.20
		6	.40
		Mean	.4000
		Median	.4000
		Total Minimum	.20
		Maximum	.60
	Std. Deviation	.12649	
P1	1	2.60	
	2	2.80	
	3	3.00	
	4	2.40	
	5	2.80	

	6		2.40
		Mean	2.6667
		Median	2.7000
	Total	Minimum	2.40
		Maximum	3.00
		Std. Deviation	.24221
	1		.40
	2		.20
	3		.60
	4		.40
	5		.40
P2	6		.40
		Mean	.4000
		Median	.4000
	Total	Minimum	.20
		Maximum	.60
		Std. Deviation	.12649
	1		2.80
	2		2.40
	3		2.80
	4		2.40
	5		3.00
P3	6		2.40
		Mean	2.6333
		Median	2.6000
	Total	Minimum	2.40
		Maximum	3.00
		Std. Deviation	.26583
	1		2.00
	2		2.20
	3		2.20
P4	4		2.00
	5		2.40
	6		2.40

		Mean	2.2000
		Median	2.2000
	Total	Minimum	2.00
		Maximum	2.40
		Std. Deviation	.17889
	1		.60
	2		.80
	3		.60
	4		.80
	5		.40
P5	6		.40
		Mean	.6000
		Median	.6000
	Total	Minimum	.40
		Maximum	.80
		Std. Deviation	.17889
		Mean	1.4833
		Median	1.4000
	Total	Minimum	.20
		Maximum	3.00
		Std. Deviation	1.05978

a. Limited to first 100 cases.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank

	P0	6	7.67
	P1	6	30.42
	P2	6	7.67
Kupffer	P3	6	29.75
	P4	6	22.33
	P5	6	13.17
	Total	36	

Test Statistics^{a,b}

	Kupffer
Chi-Square	30.503
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	3.50	21.00
Kupffer	P1	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.945
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	6.50	39.00
Kupffer	P2	6	6.50	39.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	18.000
Wilcoxon W	39.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	3.50	21.00
Kupffer	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.961
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	3.50	21.00
Kupffer	P4	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.950
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P0	6	4.67	28.00
Kupffer	P5	6	8.33	50.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Kupffer
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-1.899
Asymp. Sig. (2-tailed)	.058
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.093 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P1	6	9.50	57.00
Kupffer	P2	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.945
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P1	6	6.75	40.50
Kupffer	P3	6	6.25	37.50
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	16.500
Wilcoxon W	37.500
Z	-.254
Asymp. Sig. (2-tailed)	.799
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.818 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P1	6	9.17	55.00
Kupffer	P4	6	3.83	23.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-2.622
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P1	6	9.50	57.00
Kupffer	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.908
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P2	6	3.50	21.00
Kupffer	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.961
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	P2	6	3.50	21.00
Kupffer	P4	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.950
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kupffer	P2	6	4.67	28.00
	P5	6	8.33	50.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-1.899
Asymp. Sig. (2-tailed)	.058
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.093 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kupffer	P3	6	9.00	54.00
	P4	6	4.00	24.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-2.505
Asymp. Sig. (2-tailed)	.012
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.015 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kupffer	P3	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.923
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Kupffer	36	1.4833	1.05978	.20	3.00
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks				
	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kupffer	P4	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	Kupffer
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.913
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Case Processing Summary^a

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Ekspresi IL-2 * Perlakuan	36	97.3%	1	2.7%	37	100.0%

a. Limited to first 100 cases.

Case Summaries^a

		Ekspresi IL-2		
Perlakuan	P0	1	.60	
		2	.40	
		3	.60	
		4	.60	
		5	.20	
		6	.40	
		Mean	.4667	
		Median	.5000	
	Total	Minimum	.20	
		Maximum	.60	
		Std. Deviation	.16330	
	Perlakuan	P1	1	3.60
			2	3.20
3			3.60	
4			3.60	
5			3.80	
6			3.80	
		Mean	3.6000	
		Median	3.6000	
Total		Minimum	3.20	
		Maximum	3.80	
	Std. Deviation	.21909		
P2	1	.60		
	2	.40		

		3	.80
		4	.60
		5	.80
		6	1.00
		Mean	.7000
		Median	.7000
	Total	Minimum	.40
		Maximum	1.00
		Std. Deviation	.20976
		1	3.60
		2	3.00
		3	3.40
		4	3.40
		5	3.60
	P3	6	3.60
		Mean	3.4333
		Median	3.5000
	Total	Minimum	3.00
		Maximum	3.60
		Std. Deviation	.23381
		1	2.60
		2	2.00
		3	2.20
		4	2.00
		5	2.60
	P4	6	2.60
		Mean	2.3333
		Median	2.4000
	Total	Minimum	2.00
		Maximum	2.60
		Std. Deviation	.30111
		1	.80
	P5	2	.80
		3	.60

	4		.60
	5		.40
	6		.60
		Mean	.6333
		Median	.6000
Total		Minimum	.40
		Maximum	.80
		Std. Deviation	.15055
		Mean	1.8611
		Median	1.5000
Total		Minimum	.20
		Maximum	3.80
		Std. Deviation	1.35800

a. Limited to first 100 cases.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Ekspresi IL-2	P0	6	6.08
	P1	6	31.92
	P2	6	11.92
	P3	6	29.08
	P4	6	21.50
	P5	6	10.50
	Total	36	

Test Statistics^{a,b}

	Ekspresi IL-2
Chi-Square	30.989
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P0	6	3.50	21.00
	P1	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P0	6	4.67	28.00
	P2	6	8.33	50.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	28.000
Z	-1.844
Asymp. Sig. (2-tailed)	.065
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.093 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P0	6	3.50	21.00
	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P0	6	3.50	21.00
	P4	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P0	6	4.92	29.50
	P5	6	8.08	48.50
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	29.500
Z	-1.640
Asymp. Sig. (2-tailed)	.101
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.132 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P1	6	9.50	57.00
	P2	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.918
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P1	6	7.92	47.50
	P3	6	5.08	30.50
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	9.500
Wilcoxon W	30.500
Z	-1.459
Asymp. Sig. (2-tailed)	.145
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.180 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P1	6	9.50	57.00
	P4	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P1	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P2	6	3.50	21.00
	P3	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.918
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P2	6	3.50	21.00
	P4	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.918
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P2	6	7.08	42.50
	P5	6	5.92	35.50
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	14.500
Wilcoxon W	35.500
Z	-.594
Asymp. Sig. (2-tailed)	.553
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.589 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P3	6	9.50	57.00
	P4	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P3	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekspresi IL-2	36	1.8611	1.35800	.20	3.80
Perlakuan	36	3.5000	1.73205	1.00	6.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Ekspresi IL-2	P4	6	9.50	57.00
	P5	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	Ekspresi IL-2
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.934
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.