

**PENGARUH EKSTRAK BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh :

KARTIKA DINA RAHMA

NIM. 15670074



JURUSAN FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**PENGARUH EKSTRAK BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh :
KARTIKA DINA RAHMA
NIM. 15670074

Diajukan Kepada :
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019

**PENGARUH EKSTRAK BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh :

**KARTIKA DINA RAHMA
NIM. 15670074**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 24 Oktober 2019

Pembimbing I

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2003

Pembimbing II

Meilina Ratna D. S.Kep.,Ns.,M.Kep.
NIP. 19820523 200912 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2003

**PENGARUH EKSTRAK BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh :
KARTIKA DINA RAHMA
15670074

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal : 24 Oktober 2019

Ketua Penguji : Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,Ns.,M.Kep.
NIP. 19820523 200912 2 001

Anggota Penguji : 1. Ria Ramadhani DA., S.Kep.,Ns.,M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005
2. Ach. Nashichuddin, M.A.
NIP. 197307052000031000
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003

Mengetahui,
Ketua Program Jurusan Farmasi



Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Kartika Dina Rahma

NIM : 15670074

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Buah Kurma (*Phoenix dactylifera L.*)

sebagai Antioksidan terhadap Gambaran Histopatologi
Glomerulus Mencit yang Dipapar Rhodamin B.

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya siap menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 24 Oktober 2019

Yang membuat pernyataan,



Kartika Dina Rahma
NIM. 15670074

MOTTO

Hadist Riwayat Muslim mengatakan **“Barang siapa yang menempuh jalan untuk mencari ilmu maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga”**

“Orang yang berhenti belajar akan menjadi pemilik masa lalu, sedangkan orang yang terus berjuang untuk belajar akan menjadi pemilik masa depan”

“Jika kau tak tahan hinanya belajar dalam satu waktu, Ia akan hina dengan kebodohan selamanya”

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

Dengan memanjatkan segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT dan junjungan kita Nabi besar Nabi Muhammad SAW, atas terselesainya naskah skripsi dengan baik. Maka, dengan rasa syukur dan bahagia yang amat dalam saya persembahkan karya tulis skripsi ini kepada :

Kedua orang tua dan adik saya yang teramat saya sayangi dan cintai, Ayah Sugianto dan Ibu Karsiyah, yang tidak ada habis-habisnya memberikan semangat, kasih sayang, doa, kasih dan sayangnya yang selalu tucurahkan tiada habisnya serta dukungan dalam bentuk apapun sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan sarjana farmasi dengan lancar, mudah, dan baik.

Kedua pembimbing saya, Ibu Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. dan Ibu Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,Ns.,M.Kep. yang selalu senantiasa membimbing saya dengan baik, sabar dan memberikan ilmu pengetahuan yang sangat berharga dan bermanfaat bagi saya, serta dukungan yang diberikan secara moril dan materiil.

Teruntuk sahabat-sahabat saya "Para Istri Idaman" yang selalu mendukung, memberikan semangat dan memberikan warna di hari-hari saya selama menempuh perkuliahan sarjana, serta tidak bosan untuk mendengarkan keluh kesah saya dan selalu memberikan solusi yang baik (Umik, Selgom, Yasamin, Iis, NU, Tante, Kak Mel, dan Kokom). Saya merasa beruntung sekali mempunyai sahabat-sahabat terbaik seperti kalian yang selalu menerima saya apa

adanya. Teman-teman tim riset “Antioksidan Club” yang saling bekerja sama untuk menyelesaikan riset ini (Selgom, Kak Mel, Inta). Dan juga untuk teman-teman Farmasi angkatan 2015, khususnya kelas B yang telah berjuang bersama selama perkuliahan sampai akhir. Tak cukup kata-kata untuk mengungkapkan rasa terimakasih saya memiliki sahabat dan teman-teman yang selalu mendukung dan berjuang bersama dalam segala hal. Saya amat merasa sangat beruntung dapat dipertemukan dengan kalian, semoga lain waktu kita dipertemukan dalam hal kesuksesan. Amin yarobbala’alamin



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas skripsi ini dengan baik.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terimakasih seiring doa dan harapan *jazakumullahah sanaljaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B., Sp. BP-REK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. dan Meilina Ratna D. S.Kep.,Ns.,M.Kep. selaku dosen pembimbing skripsi, Ria Ramadhani DA., S.Kep.,Ns.,M.Kep. dan Ach. Nashichuddin, M.A. selaku penguji skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Segenap sivitas akademika program studi Farmasi, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Ayah dan ibu tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
7. Adik penulis yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.

8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin Yaa Rabbal 'Alamiin.*

Wassalamu'alaikumWr. Wb.

Malang, 24 Oktober 2019

Penulis

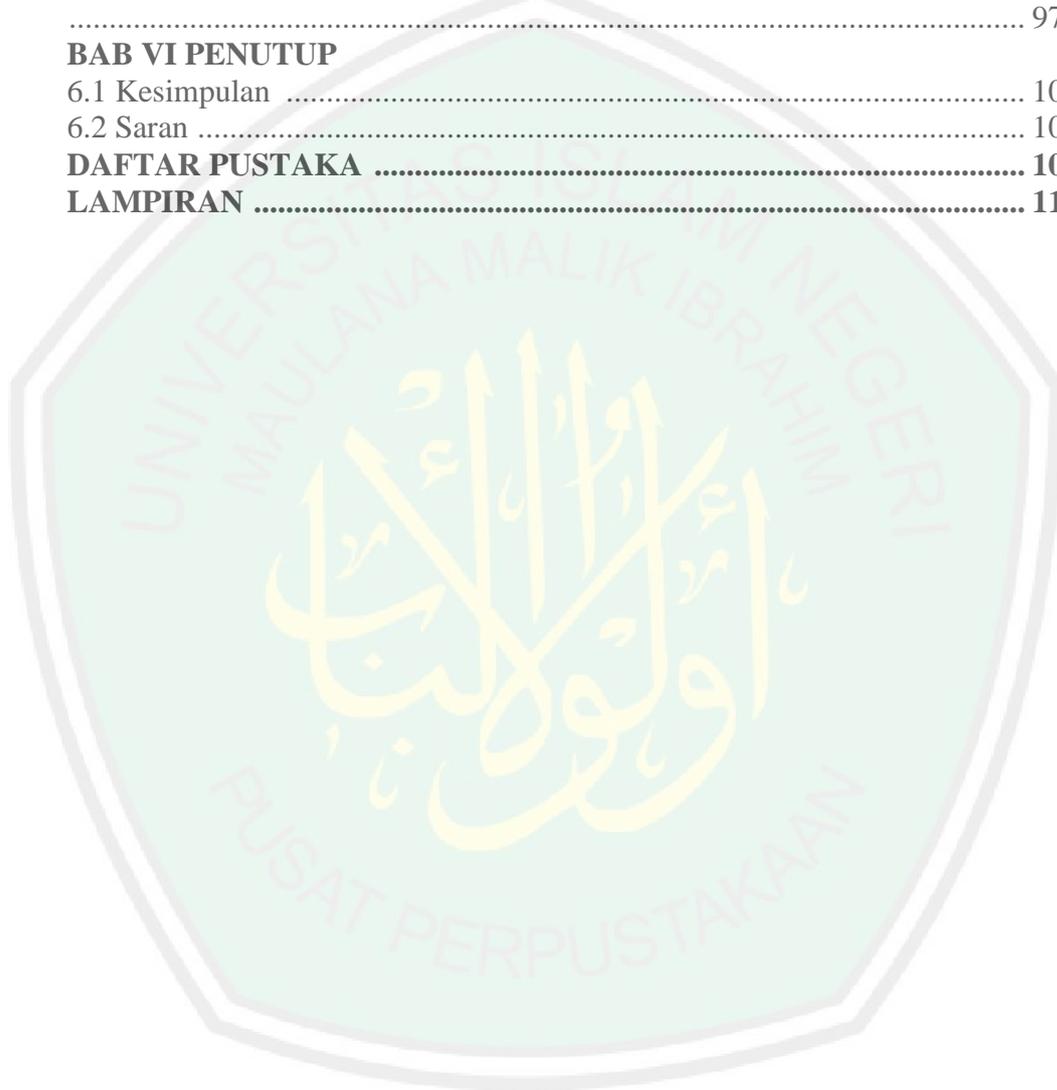


DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	8
1.3. Tujuan Penelitian	9
1.4. Manfaat Penelitian	9
1.5. Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Kurma (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)	10
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Kurma	10
2.1.2 Keistimewaan Buah Kurma menurut Al Qur'an dan Hadist	12
2.1.3 Kandungan Buah Kurma	16
2.2. Rhodamin B	20
2.3. Radikal Bebas	21
2.3.1 Pengertian Radikal Bebas	21
2.3.2 Jenis Radikal Bebas	22
2.3.3 Sumber Radikal Bebas	23
2.3.4 Tahapan Pembentukan Radikal Bebas	24
2.4. Antioksidan	24
2.4.1 Pengertian Antioksidan	24
2.4.2 Sumber Antioksidan	26
2.4.3 Mekanisme Antioksidan	27
2.4.4 Hubungan Antioksidan dengan Radikal Bebas	29
2.5. Vitamin C	30
2.5.1 Pengertian Vitamin C	30
2.5.2 Mekanisme Vitamin C sebagai Antioksidan	32
2.6. Organ Manusia	32
2.6.1 Pengertian Organ Manusia	32
2.6.2 Organ Perkemihan	33
2.7. Ginjal	35
2.7.1 Pengertian Ginjal	35
2.7.2 Struktur Anatomi Ginjal	35

2.7.3 Fungsi Ginjal	39
2.7.4 Glomerulus	40
2.7.5 Mekanisme Kerusakan Ginjal Akibat Radikal Bebas	42
2.8. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	43
2.9. Ekstrak	44
2.9.1 Pengertian Ekstrak	44
2.9.2 Macam Ekstrak	45
2.10. Ekstraksi	45
2.10.1 Pengertian Ekstraksi	45
2.10.2 Pemilihan Pelarut	46
2.10.3 Macam Macam Metode Ekstraksi	47
2.10.4 Ekstraksi Buah Kurma	51
2.10.5 Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi	52
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1. Bagan Kerangka Konseptual	55
3.2. Uraian Kerangka Konseptual	56
3.3. Hipotesis Penelitian	58
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	59
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian	59
4.3. Populasi dan Sampel	60
4.3.1 Populasi Penelitian	60
4.3.2 Cara Pengambilan Sampel	60
4.3.3 Sampel Penelitian	61
4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	62
4.4.1 Variabel Penelitian	62
4.4.2 Definisi Operasional	63
4.5. Alat dan Bahan Penelitian	64
4.5.1 Alat Penelitian	64
4.5.2 Bahan Penelitian	64
4.6. Prosedur Penelitian	65
4.6.1 Alur Penelitian	65
4.6.2 Skema Kerja Proses Ekstraksi	66
4.6.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis	67
4.6.4 Perlakuan	67
4.7 Analisis Data	69
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Determinasi Tanaman Kurma	71
5.2 Ekstraksi Buah Kurma	72
5.3 Uji Warna dan Uji Kromatografi Lapis Tipis	75
5.3.1 Uji Warna	75
5.3.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis	77
5.4 Penanganan Hewan Coba	79
5.4.1 Pemilihan Hewan Coba	79
5.4.2 Persiapan Hewan Coba	80
5.4.3 Perlakuan Hewan Coba	81

5.5 Pengamatan Glomerulus pada Ruang Bowman Hewan Coba	85
5.6 Analisis Data	87
5.6.1 Uji Normalitas	88
5.6.2 Uji Homogenitas	88
5.6.3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Kurma dalam Menangkal Radikal Bebas dari Rhodamin B	89
5.7 Pemanfaatan Buah Kurma sebagai Antioksidan dalam Perspektif Islam.	97
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	101
6.2 Saran	101
DAFTAR PUSTAKA	102
LAMPIRAN	112



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon Kurma	10
Gambar 2.2 Buah Kurma	10
Gambar 2.3 Anatomi Ginjal	36
Gambar 2.4 Struktur Anatomi Glomerulus	42
Gambar 2.5 Penampang Melintang Korteks Ginjal (Glomerulus)	42
Gambar 2.6 Morfologi Mencit	43
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual	55
Gambar 5.1 Buah Kurma Kering	74
Gambar 5.2 Ekstrak Buah Kurma	74
Gambar 5.3 Hasil Uji Reaksi Warna	77
Gambar 5.4 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis	79
Gambar 5.5 Hasil Rerata Lebar Ruang Bowman	89
Gambar 5.6 Pewarnaan HE Glomerulus	90
Gambar 5.7 Hasil Pengukuran ED ₅₀	93

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Struktur Kimia Senyawa pada <i>Phoenix dactylifera</i> L.	19
Tabel 4.1 Definisi Operasional	63
Tabel 5.1 Hasil Uji Reaksi Warna Flavonoid dan Polifenol	77
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas (<i>Shapiro-Wilk</i>)	88
Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas	88
Tabel 5.4 Hasil Uji <i>One Way Anova</i>	91
Tabel 5.5 Hasil <i>Post-Hoc Test</i> dengan Fungsi <i>Tukey</i>	92



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Dosis dan Pengambilan Bahan Uji	112
Lampiran 2. Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji	115
Lampiran 3. Analisis Data	116
Lampiran 4. Perhitungan Lebar Ruang Bowman	118
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	119
Lampiran 6. Ethical Clearance	121
Lampiran 7. Determinasi Tanaman	122
Lampiran 8. <i>Effective Dose 50</i>	123



ABSTRAK

Rahma, K. D. 2019. Pengaruh Ekstrak Buah Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) sebagai Antioksidan terhadap Gambaran Histopatologi Glomerulus Mencit yang Dipapar Rhodamin B. Skripsi. Pembimbing I: Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt; Pembimbing II: Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,Ns.,M.Kep.

Rhodamin B merupakan pewarna tekstil yang masih digunakan untuk pewarna makanan, zat ini akan menjadi radikal bebas jika dikonsumsi dalam jumlah banyak dengan jangka waktu yang lama. Salah satu organ yang terkena dampak dari radikal bebas yaitu ginjal terutama pada glomerulus bagian ruang bowman. Ruang bowman penting pada proses ekskresi untuk menampung hasil filtrat, apabila ruang bowman menyempit maka produksi filtrat akan menurun. Upaya untuk menanggulangi radikal bebas yaitu dengan menggunakan antioksidan. Buah kurma (*Phoenix dactylifera L.*) adalah salah satu buah yang memiliki antioksidan alami karena adanya senyawa flavonoid dan polifenol. Gugus hidroksil yang terdapat pada flavonoid dan polifenol dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lipid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah kurma terhadap lebar ruang bowman pada mencit betina yang dipapar rhodamin B dan untuk mengetahui dosis ekstrak buah kurma yang paling optimal dalam mempengaruhi lebar ruang bowman. Metode penelitian adalah *true eksperimental* dengan pola *test-only control group design* yang terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol positif diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB dan vitamin C dosis 1,3 mg/25gBB, kontrol negatif diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB, kelompok perlakuan 1, 2, 3 diberikan rhodamin B dosis 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah kurma dengan dosis berturut-turut 1,75 mg/25gBB, 3,00 mg/25gBB, 7,00 mg/25gBB secara peroral dengan sonde selama 15 hari. Analisa data statistik menggunakan *One Way Anova*. Hasil penelitian adalah terdapat pengaruh ekstrak buah kurma terhadap lebar ruang bowman. Ekstrak buah kurma (*P. dactylifera L.*) berpengaruh terhadap peningkatan lebar ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Dosis optimal yang paling berpengaruh pada lebar ruang bowman adalah pada kelompok perlakuan 3 dosis 7,00 mg/25gBB dengan rerata 20,6 μm .

Kata kunci : Buah kurma (*Phoenix dactylifera L.*), Antioksidan, Rhodamin B, Glomerulus, Ruang Bowman.

ABSTRACT

Rahma, K. D. 2019. The Effect of Dates (*Phoenix dactylifera L.*) as an Antioxidant on the Glomerular Histopathology of Mice Exposed to Rhodamine B. Undergraduate Thesis. Advisor I: Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt; Advisor II: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., Ns., M.Kep.

Rhodamine B is a textile dye that is still used for food coloring. This substance will become free radicals if consumed in large quantities for a long period of time. An organ that will be affected by free radicals is kidney, especially Bowman space on the glomerulus. Bowman space is important to receive urine, if Bowman's space narrowing, then the production of filtrat will decrease. An effort to tackle free radicals can be executed by using antioxidants. Date (*Phoenix dactylifera L.*) is a fruit that has natural antioxidants because of its flavonoids and polyphenols. Hydroxyl groups found in flavonoids and polyphenols can capture free radicals that result from lipid peroxidation reactions. This study aims to determine the effect of date extract on Bowman's space width in female mice exposed to Rhodamine B and to determine *Effective Dose* 50% of dates extract as an antioxidant in female mice exposed to Rhodamine B. The research method was a true experiment with a post test-only control group design, which was divided into 5 groups: positive control was given rhodamine B with 0.08 mg/25gBB dose and vitamin C with 1.3 mg/25gBB dose; negative control was given rhodamine B with 0.08 mg/25gBB dose; and treatment group number 1, 2, 3 were given rhodamine B with 0.08 mg/25gBB dose and date extract with consecutive doses of 1.75 mg/25gBB, 3.00 mg/25gBB, and 7.00 mg/25gBB orally with a sonde for 15 days. The analysis of statistical data was conducted by using One Way Anova. The results indicate that the date fruit extract affects the Bowman's space width. Date extract (*P. dactylifera L.*) can increase Bowman's space width in female mice exposed to rhodamine B with $p=0,000$ ($p<0,05$). *Effective Dose* 50% date extract as an antioxidant on the Bowman's space width exposed to rhodamine b is 2,34 mg.

Keywords: Dates (*Phoenix dactylifera L.*), Antioxidant, Rhodamine B, Glomerulus, Bowman's Space.

مستخلص البحث مستخلص البحث

رحمه ، ك. د. 2019. أثر مستخرجة التمر (*Phoenix dactylifera L.*) كمضاد للأكسدة على صورة مرضيات أنسجة كبيبة الفئران التي تم التهاجها برودامين ب، البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. رائحة المطيعة، الماجستير. المشرف الثاني: ميلينا راتنا ديانتى، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: التمر (*Phoenix dactylifera L.*)، رودامين ب، الكبيبة، وكبسولة بومان.

رودامين ب هو اسطباغ المنسوجات مستخدما ليلون طعاما، هذه المواد سوف تصبح جذور الحرة إذا استهلاكها بملغة كثيرة في فترة طويلة. احدي الأعضاء الذي تتأثر بجذور الحرة هو الكلبي، خاصة في الكبيبي من غرفة بومان. غرفة بومان في افراز ليضبط النتيجة من فلترات. و إذا تضيق غرفة بومان فينقض انتاج فلترات. تعد غرفة بومان مهمة في عملية الإفراز لاستيعاب نتائج الترشيح ، إذا تضيق غرفة بومان ، سينخفض إنتاج المرشح. الجهد لمعالجة الجذور الحرة هي باستخدام مضادات الأكسدة. التمر هو ثمرة تحتوي على مضادات الأكسدة الطبيعية بسبب وجود مركبات الفلافونويد والبوليفينول. كان الغرض من هذه الدراسة هو لمعرفة تأثير مقتطفات نخيل التمر على عرض غرفة بومان في الفئران المعرضة للرودامين ب ولمعرفة *Effective Dose* 50% خلع التمر كمضاد للأكسدة مقابل عرض فضاء بومان للفئران انثي الذي سرح الرودامين ب. في هذه الدراسة يستخدم بالمنهج التجريبية الحقيقية (*true eksperimental*) بالحنة (*post tes-only control group design*) و ينقسم الي خمسة الجمعات, اي أعطيت السيطرة الإيجابية جرعة رودامين ب 0.08 ملغ / 25 غيغابايت و جرعة فيتامين 1.3 ج ملغ / 25 غيغابايت ، وأعطيت السيطرة السلبية جرعة رودامين ب 0.08 ملغ / 25 غيغابايت ، وأعطيت مجموعة العلاج 1 ، 2 ، 3 جرعة رودامين ب 0 ، 08 مجم / 25 غيغابايت و مستخلص التمر مع جرعات متتالية 1.75 مغ / 25 غيغابايت ، 3.00 مغ / 25 غيغابايت ، 7.00 ملغ / 25 غيغابايت عن طريق الفم مع شقراء لمدة 15 يوماً. تحليل البيانات الإحصائية باستخدام طريقة واحدة انونفا (*One Way ANNOVA*) نتيجة البحث هي أن هناك تأثير لمستخلص النخيل من النخيل على عرض غرفة بومان. خلع التمر له تأثير على زيادة عرض مساحة بومان للفئران المعرضة للرودامين ب بقيمة ($p = 0,00 > 0.05$). الجرعة الفعالة (*Effective Dose*) 50% مستخلص نخيل التمر كمضاد للأكسدة مقابل عرض مساحة بومان من الفئران أنثي الذي سرح لرودامين ب بنسبة 2.34 ملغ.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan zaman yang semakin modern menyebabkan perubahan pola hidup masyarakat berubah dari tradisional menjadi praktis dan instan, terutama dalam pemilihan makanan, namun hal ini memiliki dampak negatif bagi kesehatan. Makanan yang banyak dijual di masyarakat terutama pada jajanan anak-anak sekarang banyak menggunakan zat warna sintesis, karena penggunaannya yang lebih praktis dan murah. Kebanyakan zat warna sintesis memberikan warna yang lebih menarik dan dapat meningkatkan pendapatan dari pedagang tanpa memikirkan dampak negatif bagi tubuh setelah mengonsumsi makanan yang ditambahkan zat warna sintesis tersebut (Febrina dkk, 2013).

Warna merupakan daya tarik terbesar untuk menikmati makanan setelah aroma. Aroma yang wangi, rasa yang lezat, tekstur yang lembut tidak dipedulikan jika warna dari makanan itu tidak menarik. Daya tarik paling utama dikalangan anak-anak adalah warna selain bentuk dan kemasan, bahkan terkadang tidak mempertimbangkan bagaimana rasa makanan atau minuman yang ingin dibeli (Gardjito, 2006). Untuk memperbaiki penampilan makanan biasanya ditambahkan dengan zat pewarna makanan. Zat pewarna makanan terdiri dari dua jenis pewarna yaitu pewarna alami dan pewarna sintesis, namun banyak pedagang menyalahgunakan penggunaan zat pewarna sintesis untuk pewarna makanan karena berbagai tujuan. Salah satu zat warna sintesis yang banyak digunakan pada

makanan adalah rhodamin B (Mudjajanto, 2006).

Rhodamin B merupakan pewarna tekstil yang disalahgunakan sebagai pewarna makanan seperti pada pembuatan kerupuk, terasi, cabe merah giling, agar-agar, aromanis atau kembang gula, manisan, sosis, sirup, minuman, dan lain-lain. Ciri-ciri makanan yang mengandung rhodamin B antara lain memiliki warna yang cerah mengkilap dan lebih mencolok, terkadang warna terlihat tidak homogen (rata), ada gumpalan warna pada produk, dan bila dikonsumsi rasanya sedikit lebih pahit. Penggunaan rhodamin B ini sangat berbahaya bagi kesehatan jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak dan dalam jangka waktu yang lama karena mengandung zat kimia yang berbahaya dan reaktif (Febrina dkk, 2013). Sifat racun rhodamin B tidak hanya disebabkan senyawa organik tetapi juga oleh kontaminasi dari senyawa anorganik terutama timbal dan arsen (Subandi, 1991). Selain itu di dalam rhodamin B juga terdapat ikatan dengan klorin (Cl) dimana senyawa klorin ini merupakan senyawa anorganik yang reaktif dan berbahaya, karena merupakan senyawa radikal bebas (senyawa yang tidak stabil) (Anjasmara dkk, 2013).

Radikal bebas adalah molekul yang mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya, hal ini menyebabkan molekul ini sangat labil dan reaktif untuk memperoleh pasangan elektronnya. Radikal bebas juga berperan dalam kerusakan jaringan dan penyebab proses patologi pada suatu organisme hidup (Soeksmanto, 2007). Radikal bebas ini dapat berasal dari luar dan dalam tubuh, seperti lingkungan yang tercemar, gaya hidup, pola makan, yang dapat memicu munculnya radikal bebas. Radikal bebas yang berasal dari dalam

tubuh dapat berasal dari proses biologis normal, tetapi dapat menimbulkan suatu masalah apabila terdapat dalam jumlah yang berlebih (Niwa, 1997). Radikal bebas ini bekerja dalam tubuh bersifat sangat reaktif, karena akan berinteraksi secara destruktif melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel-sel tertentu yang tersusun atas lemak, protein, karbohidrat, DNA, dan RNA sehingga memicu berbagai penyakit seperti jantung koroner, penuaan dini dan kanker. Oleh sebab itu dibutuhkan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas. Radikal bebas terdiri dari banyak jenis yaitu *Radical Nitrogen Spesies (RNC)*, *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* (Reynertson, 2007).

Salah satu tempat yang banyak terakumulasi oleh radikal bebas adalah di dalam ginjal, hal ini dikarenakan ginjal adalah organ ekskresi tempat untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme, termasuk zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh. Ginjal terdiri dari 3 bagian penting yaitu glomerulus sebagai tempat filtrasi, tubulus proksimal untuk proses reabsorpsi dan yang terakhir tubulus distal sebagai proses augmentasi yang menghasilkan urin sekunder (Ceriana dan Widya, 2016). Ginjal akan bekerja sangat berat apabila terdapat radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh dan dapat mengakibatkan kerusakan yang memicu timbulnya berbagai penyakit (Wahyuningsih dkk, 2016).

Bentuk dari kerusakan pada ginjal dapat dilihat dengan adanya penyempitan pada ruang bowman. Penyempitan ruang bowman ini dikarenakan terjadinya peradangan pada glomerulus. Glomerulus merupakan bagian penting dalam proses penyaringan zat-zat dari dalam darah, sehingga apabila glomerulus ini fungsinya terganggu maka zat-zat radikal bebas ini tidak dapat dikeluarkan

dari dalam tubuh dan akan terakumulasi di dalam tubuh yang akan menyebabkan berbagai macam penyakit (Mayori dkk, 2013).

Upaya untuk pencegahan dan mengurangi radikal bebas ini adalah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas stabil dan tidak reaktif (Lusiana, 2010). Secara umum antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis yang sering digunakan adalah Butylated Hydroxyanisole (BHA), Terbutalisasi Hidroksi – Toluene (BHT), Butylhydroquinone Tersier (TBHQ) dan ester dari asam galat, misalnya Gallate Propel (PG) (Sayuti dan Krisna, 2015). Antioksidan alami merupakan antioksidan yang dapat berasal dari hewan dan tumbuhan, seperti halnya buah kurma. Pada penelitian ini menggunakan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan karena mengandung senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol (Isnindar dan Setyowati, 2011).

Vitamin C bersifat hidrofilik dan berfungsi paling baik pada lingkungan air sehingga merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan juga berperan dalam sel. Vitamin C sebagai zat penangkal radikal bebas, dapat langsung bereaksi dengan superoksida dan anion hidroksil, serta berbagai hidroperoksida lemak. Antioksidan pemutus-reaksi berantai memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E tereduksi (Herbert, 1996).

Penggunaan antioksidan sintetik dibatasi karena telah terbukti dapat mengakibatkan keracunan pada dosis tertentu dan menimbulkan efek samping (Panagan, 2011). Oleh karena itu diperlukan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan seperti kurma. Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) adalah sejenis tumbuhan palem yang buahnya dapat dimakan, rasanya manis dan mengandung senyawa antioksidan senyawa fenolik seperti flavonoid (Soebahar dkk, 2015).

Aktivitas antioksidan buah kurma berhasil diungkap oleh Lemine, dkk (2014) terhadap dua tingkat kematangan kurma di Mauritania (*blah / khalal* dan *tamr*). Pengujian antioksidannya menggunakan metode DPPH, memberikan hasil bahwa rata-rata aktivitas antioksidan pada tingkat Blah 107.5 $\mu\text{mol TEAC}/100$ g material kering sedangkan pada tingkat Tamr 91.2 $\mu\text{mol TEAC}/100$ gram material kering. Adanya aktivitas antioksidan pada kurma disebabkan adanya senyawa polifenol yaitu *polisianidin* (95 % dari total *polifenol*) yang banyak terdapat pada daging buah matang (*tamr*). Fenolik (kandungan pirokatekol dan asam galat masing-masing adalah 6,2 dan 2,906 $\mu\text{g} / \text{mg}$) (Bouhlali dkk, 2017). Buah kurma juga mengandung senyawa *cinnamic acid*, *p-coumaric* dan *ferulic acid* sebagai antioksidan (Mansouri dkk, 2005). Adanya kandungan polifenol dalam daging buah kurma yang telah dicerna dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh yang berasal dari luar seperti zat kimia (rhodamin B) (Al-Farsi dan Lee, 2007).

Ekstrak antioksidan (2,2 mg/ml) buah kurma dapat menurunkan radikal bebas superoksida dan gugus hidroksil radikal sampai 50% dari kadar awalnya. Ekstrak buah kurma dianggap dapat menghambat 50% peroksidasi lipid dan oksidasi protein pada konsentrasi 2 mg/ml ekstrak (Vayalil, 2002). Kurma sebagai

antioksidan mengandung senyawa fenolik yang paling dominan yaitu asam ferulat dengan kadar sebesar 4,7 mg/100g berat kering. Hal ini juga dibuktikan pada penelitian Philips (2009) yang melakukan analisis kadar antioksidan buah kurma dengan metode Ferric Reducing / Antioxidant Power (FRAP) dengan hasil buah kurma memiliki kadar antioksidan sebesar 11,65 – 387 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ dari berat kering yang menunjukkan bahwa buah kurma memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi dari kadar antioksidan gula tebu atau jagung berkisar 10-100 $\mu\text{mol}/100\text{g}$.

Senyawa flavonoid telah terbukti memiliki banyak manfaat, yaitu sebagai antioksidan, anti-karsinogenik, antimikroba, antimutagenik, anti-inflamasi, dan mengurangi risiko penyakit kardiovaskular (Al-Farsi dan Lee, 2007). Aktivitas radikal bebas dan aktivitas antioksidan dapat dikaitkan dengan keberadaan vitamin C (kandungan asam askorbat 0,66 $\mu\text{g} / \text{mg}$) dan senyawa flavonoid (4,79 $\mu\text{g} / \text{mg}$). Golongan senyawa flavonoid seperti katekin ($r = 0.96$), dan rutin ($r = 0.74$) pada ekstrak air (Saleh dkk, 2011).

Buah kurma merupakan buah yang memiliki keistimewaan, karena Rasulullah SAW menjadikan kurma sebagai makanan wajib sehari-hari dalam keluarga. Keistimewaan lain dari buah kurma yaitu dapat dikonsumsi tanpa mengenal batas usia, dari ujung akar sampai daun memiliki manfaat karena mengandung senyawa flavonoid dan polifenol sebagai antioksidan.

Nabi Muhammad SAW bersabda tentang buah kurma seperti yang tertuang dalam hadits yang diriwayatkan dari Aisyah r.a. berikut ini :

حَدَّثَنَا عَبْدُ اللَّهِ بْنُ مَسْلَمَةَ بْنِ قَعْنَبٍ حَدَّثَنَا يَعْقُوبُ بْنُ مُحَمَّدٍ بْنِ طَحْلَاءَ عَنْ أَبِي الرَّجَالِ مُحَمَّدِ بْنِ عَبْدِ الرَّحْمَنِ عَنْ أُمِّهِ عَنْ عَائِشَةَ قَالَتْ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَا عَائِشَةُ بَيْتٌ لَا تَمْرَ فِيهِ جِيَاعٌ أَهْلُهُ يَا عَائِشَةُ بَيْتٌ لَا تَمْرَ فِيهِ جِيَاعٌ أَهْلُهُ أَوْ جَاعَ أَهْلُهُ قَالَهَا مَرَّتَيْنِ أَوْ ثَلَاثَ

Artinya : Telah menceritakan kepada kami Abdullah bin Maslamah bin Qa'nabi, telah menceritakan kepada kami Ya'qub bin Muhammad bin Thahlaa' dari Abu Rijal Muhammad bin Abdurrahman, dari Ibunya dari 'Aisyah, dia berkata; Rasulullah SAW bersabda: "Wahai 'Aisyah! Rumah yang di dalamnya tidak ada kurma, maka penghuninya akan lapar. Wahai 'Aisyah! Rumah yang di dalamnya tidak ada kurma, maka penghuninya akan lapar." Beliau mengucapkannya sebanyak dua atau tiga kali (HR. Muslim, Shahih Muslim: No.3812).

Polifenol merupakan suatu kelompok antioksidan yang secara alami terdapat pada sayur-sayuran, buah-buahan, dan minuman. Polifenol ini mempunyai kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas (Hattenschwiler dan Vitousek, 2000). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Robinson, 1995). Flavonoid terbukti mempunyai efek biologis antioksidan yang sangat kuat yaitu sebagai antioksidan yang dapat menghambat penggumpalan darah, merangsang pembentukan produksi nitrit

oksida (NO) yang berperan melebarkan pembuluh darah (*vasorelaction*) dan juga menghambat pertumbuhan sel kanker (Winarsi, 2007).

Flavonoid dan polifenol sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak (Dewi dkk, 2014). Mekanisme flavonoid dan polifenol sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan elektron ke senyawa radikal bebas dan membentuk kompleks dengan logam. Mekanisme tersebut akan menimbulkan beberapa efek yaitu menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas, sehingga dapat mencegah penyempitan ruang bowman akibat radikal bebas dari rhodamin B (Marliana, 2007).

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dalam menangkal radikal bebas di dalam tubuh yang dilakukan pada mencit yang dipapar oleh radikal bebas (rhodamin B) dapat dilihat dari gambaran histopatologi ginjal. Pada penelitian ini yang akan diamati adalah glomerulus terutama pada lebar ruang bowman pada mencit betina jenis BALB/c.

1.2 Rumusan Masalah

Dalam penelitian ini terdapat beberapa rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak buah kurma (*P. dactylifera* L.) berpengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B ?
2. Berapakah *Effective Dose* 50% ekstrak buah kurma sebagai antioksidan terhadap lebar ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B ?

1.3 Tujuan Penelitian

Dari rumusan masalah di atas terdapat tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Mengetahui pengaruh ekstrak buah kurma (*P. dactylifera* L.) terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.
2. Mengetahui *Effective Dose* 50% ekstrak buah kurma sebagai antioksidan terhadap lebar ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Manfaat secara teoritis, dapat menambah wawasan dalam bidang kesehatan, khususnya farmasi tentang pengaruh ekstrak buah kurma sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas.
2. Manfaat secara praktis, dapat memberikan alternatif lain dalam menangkal radikal bebas menggunakan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan khususnya buah kurma.

1.5 Batasan Masalah

1. Penelitian ini menggunakan ekstrak buah kurma matang (*P. dactylifera* L.) yang diperoleh dari toko pusat oleh-oleh di Kampung Arab, Malang, Jawa Timur.
2. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 96 %
3. Penelitian ini menggunakan mencit betina jenis BALB/c
4. Penelitian ini dilakukan pengamatan pada histopatologi glomerulus pada lebar ruang bowman

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kurma (*Phoenix dactylifera* L.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Kurma



Gambar 2.1. Pohon Kurma
(Mirzaa dkk, 2018).



Gambar 2.2. Buah Kurma
(Rahmani dkk, 2014).

Hasil klasifikasi tanaman kurma menurut UPT Materia Medica Batu (2018) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)

SuperDivisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)

Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)

Kelas : Liliopsida (Berkeping satu / monokotil)

Sub Kelas : Arecidae

Ordo : Arecales

Family : Arecaceae / Palmae (suku pinang-pinangan)

Genus : Phoenix

Spesies : *Phoenix dactylifera* L.

Kurma (*P. dactylifera* L.) adalah sejenis tumbuhan palem yang buahnya dapat dimakan, rasanya manis. Pohon kurma tingginya sekitar 15-25 meter, sedang daunnya menyirip sepanjang 3-5 meter. Buah kurma memiliki karakteristik bervariasi. Beratnya 2-60 gram, panjang 3-7 cm, konsistensi lunak sampai kering, berbiji dan berwarna kuning kecoklatan, coklat gelap, dan kuning kemerahan. Jenis tanaman palem ini berasal dari Irak dan banyak ditanam di Timur Tengah dan Afrika Utara). Kurma kebanyakan tumbuh di negara-negara Arab seperti Madinah yang dekat dengan gunung berapi, sehingga tanahnya begitu subur. Daging kurma mengandung serat tinggi yaitu 6,4 – 11,5 %. Adanya kandungan serat yang tinggi ini, bermanfaat untuk mencegah penyakit kanker usus, diabetes, dan penyakit hati. Buah kurma mengandung senyawa antioksidan, yaitu senyawa fenolik seperti flavonoid (Soebahar dkk, 2015).

Pada penelitian dengan mengonsumsi 100 gram buah kurma per hari selama 4 pekan pasca diet, hasilnya menunjukkan bahwa tidak terjadi peningkatan berat badan, kadar kolesterol mengalami perubahan, densitas gugus lemak dalam darah VLDL sangat rendah, LDL rendah, HDL tinggi. Penelitian tentang Diet dengan buah kurma juga tidak berpengaruh terhadap meningkatnya triasilgliserol darah dan peningkatan glukosa darah. Hal ini berarti bahwa pemberian diet tambahan 100 gram buah kurma setiap hari efektif dalam pencegahan oksidasi lemak ataupun pencegahan pembentukan radikal bebas di tubuh tanpa adanya pengaruh pada peningkatan kadar glukosa darah (Rock, 2009).

Tamr adalah tahapan kurma yang benar-benar matang. Warna buah cenderung coklat atau hitam. Kandungan total mencapai maksimal dan mengalami

penurunan kadar air yang cukup signifikan, berada pada kisaran 24,2%. Kadar sukrosa dan gula pereduksi mencapai kisaran 50% (berat kering) atau lebih. Tahapan ini merupakan tahap paling baik untuk penyimpanan (Febrianti, 2018).

2.1.2 Keistimewaan Buah Kurma menurut Al Qur'an dan Hadist

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi tidaklah sia-sia karena memiliki beraneka macam manfaat yang dapat digunakan oleh makhluk hidup khususnya manusia untuk kemaslahatan bagi hambanya yang menggunakan akal serta pikiran. Tanaman kurma merupakan salah satu bentuk ciptaan Allah SWT. yang memiliki banyak manfaat.

{هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ فِيهِ تُسِيمُونَ (10) يُنبِتُ لَكُمْ بِهِ
الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ} [النحل: 10، 11]

Artinya : *“Dia-lah yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan”*. [An-Nahl: 10-11].

Tafsir menurut Quraish Shihab dari surah An-Nahl : 10-11 yaitu Allah SWT menurunkan air hujan dari langit untuk manusia. Air hujan tersebut

dipergunakan untuk minum dan sebagian untuk menyuburkan tumbuh-tumbuhan. Manusia bisa menggembalakan hewan ternak di tempat tumbuh-tumbuhan itu, agar dapat dijadikan makanan dan dari hewan ternak itu bisa menghasilkan susu, daging dan bulu. Air hujan yang diturunkan oleh Allah SWT itu dapat menumbuhkan tanaman-tanaman yang menghasilkan biji-bijian, zaitun, kurma, anggur, dan jenis buah-buahan lainnya yang memiliki banyak manfaat bagi manusia. Sesungguhnya Allah SWT menciptakan hal-hal di atas terdapat tanda bagi kaum yang mempergunakan akalnyanya dan selalu memikirkan kekuasaan Allah SWT.

Kurma adalah salah satu buah istimewa yang ditumbuhkan oleh Allah SWT yang memiliki banyak manfaat untuk manusia karena mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid dan polifenol.

{ وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مَاتَرًا كَبَابًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ } [الأنعام: 99]

Artinya : "Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang* korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah)

kematangannya. *Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman*". [Al-An'aam:99]

Menurut tafsir Ibnu Katsir, tahqiq oleh al-Haj ayat ini menjelaskan bahwa Allah memuji kedua jenis buah yaitu kurma dan anggur yang merupakan buah paling berharga bagi penduduk Hijaz, bahkan mungkin merupakan dua jenis buah terbaik di dunia.

Buah yang memiliki nama latin *Phoenix dactylifera* L. ini, diyakini mempunyai segudang keistimewaan dan manfaat yang sangat baik untuk tubuh manusia. Hal ini tidak hanya dibuktikan secara ilmiah semata, tetapi juga telah termaktub dalam al-Qur'anul karim dan sabda Nabi Salallahu 'alaihi wassalam.

Seperti di antaranya dalam surat Ar-Rahman ayat 11 dijelaskan;

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُّتَجَاوِرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ وَصُنُوفٌ غَيْرٌ صُنُوفٍ يُسْقَى
بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِصِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأُكُلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْلَمُونَ

Artinya : *"Di bumi itu ada buah-buahan dan **pohon kurma** yang memiliki kelopak mayang". Juga ayat lain "Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir."* (Q.S Ar-Ra'd: 4).

Manfaat buah kurma tidak disebutkan secara spesifik, namun sungguh jika sesuatu terdapat dalam Al-Qur'an. Maka pastilah ia merupakan sebuah kebenaran yang tidak diragukan lagi.

(34) **وَجَعَلْنَا فِيهَا جَنَّاتٍ مِنْ نَخِيلٍ وَأَعْنَابٍ وَفَجَّرْنَا فِيهَا مِنَ الْعُيُونِ (34)**

Artinya : "Dan kami jadikan padanya kebun-kebun **kurma** dan **anggur** dan kami pancarkan padanya beberapa mata air." (QS. Yasiin: 34)

Allah menjadikan di dalamnya sungai-sungai yang mengalir di tempat-tempat yang mereka butuhkan agar mereka dapat memakan buah-buahnya. Allah telah memberikan nikmat-Nya kepada para makhluk dengan dijadikannya tanaman-tanaman. Kata-kata **kurma** dan **anggur** mempunyai keistimewaan yaitu merupakan makanan yang tidak memerlukan bahan lain untuk mengkonsumsinya. Keduanya dapat dikonsumsi baik dalam keadaan matang di pohon (**kurma** basah/ruthab dan **anggur**) maupun dalam keadaan dikeringkan yaitu **kurma** kering/tamr dan kismis.

(68) **فِيهِمَا فَاكِهَةٌ وَنَخْلٌ وَرُمَّانٌ (68)**

Artinya : " Di dalam keduanya (ada macam-macam) buah-buahan dan kurma serta delima." (QS. Ar-Rahman : 68).

Al-Hafizh Ibnu Katsir menjelaskan tentang maksud ayat tersebut yaitu penyebutan lafazh **kurma** dan delima dalam bentuk umum (nakirah) merupakan gambaran tentang keutamaan keduanya dibandingkan dengan buah-buahan selainnya.(Tafsir Ibnu Katsir VII/387, tahqiq oleh Hani al-Haj V/345, cet. Al-Maktabah at-Taufiqiyah, Mesir).

Manfaat buah kurma yang baik untuk wanita setelah melahirkan (masa nifas) dalam surah Maryam ayat 26, yang dijelaskan sebagai berikut :

وَهَزِي إِلَيْكَ بِجِدْعِ النَّخْلَةِ تُسَاقِطُ عَلَيْكَ رُطْبًا حَلِيًّا.

Artinya : “Dan goyanglah pangkal pohon kurma itu ke arahmu, niscaya pohon itu akan menggugurkan buah kurma yang masak kepadamu” (QS. Maryam 26).

Tafsir Quraish Shihab

Dan gerakkan pangkal pohon kurma itu ke arahmu, ia akan menjatuhkan buahnya yang baik kepadamu. Buah kurma yang matang mengandung zat makanan utama yang mudah dicerna, karena itu kurma menjadi makanan yang baik untuk wanita setelah melahirkan (masa nifas).

Menurut Dokter Muhammad an-Nasimi dalam kitab-nya, ath-Thibb an-nabawy wal’Ilmil Hadits (II/293-294) mengatakan, “Hikmah dari ayat yang mulia ini secara kedokteran adalah perempuan hamil yang akan melahirkan itu sangat membutuhkan minuman dan makanan yang kaya akan unsur gula, hal ini karena banyaknya kontraksi otot-otot rahim ketika akan mengeluarkan bayi. Kandungan gula dan vitamin B1 sangat membantu untuk mengontrol laju gerak rahim dan menambah masa sistolenya (kontraksi jantung ketika darah dipompa ke pembuluh nadi). Kedua unsur itu banyak terkandung dalam ruthab (kurma basah) yang mudah untuk dicerna.

2.1.3 Kandungan Buah Kurma

Daging buah kurma kaya akan gula yang terdiri dari gula pereduksi, disakarida berupa sukrosa, dan monosakaridanya berupa glukosa (37,3-52,3 %)

dan fruktosa (28,05-47,5 %). Adanya gula pereduksi yang banyak dalam kurma menunjukkan adanya aktivitas enzim *invertase* yang mampu mengurangi kadar sukrosa (Elleuch dkk, 2008). Selain gula, daging kurma juga kaya mineral. Kandungan mineralnya berupa kalsium (123-187 mg/100 g), fosfor (12-27 mg/100 mg), kalium (289,6-512 mg/100 g), natrium (4,9-8,9 mg/100 g), dan magnesium (5,6-150 mg/100 g) (Assirey, 2014). Magnesium dan kalsium penting dalam perkembangan tulang yang sehat dan energi metabolisme dan besi adalah penting untuk produksi sel darah merah. Tingginya kadar kalium dan rendahnya natrium berarti bahwa kurma tepat untuk orang yang menderita hipertensi (Appel dkk, 1997). Hal lain yang tidak kalah penting adalah adanya vitamin dan serat dalam daging buah kurma. Vitamin yang terkandung dalam kurma terdiri dari vitamin C (0,002-0,02 %), B1 Thiamin, B2 Riboflavin, asam nikotinat (niasin) dan vitamin A (Al Shahib dan Marshall, 2003).

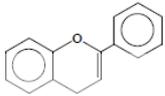
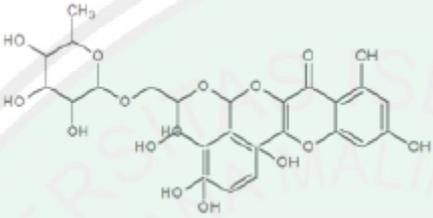
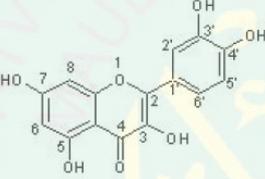
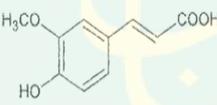
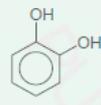
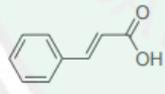
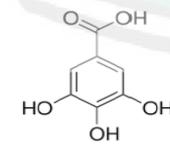
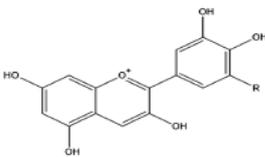
Buah kurma juga mengandung senyawa aktif alkaloid, flavonoid, steroid, tannin, estertepen, karbohidrat, vitamin, asam fenolik, β -karoten, gula, protein, lemak, serat, kalium dan beberapa enzim. Kandungan flavonoid, total fenolik, vitamin dan β -karoten mempunyai aktivitas antioksidan dengan cara mengikat radikal bebas sehingga menurunkan konsentrasi lipid peroksida, dan malondialdehid tidak terbentuk (Onuh dkk, 2012). Senyawa flavonoid telah terbukti memiliki banyak manfaat, yaitu sebagai antioksidan, anti karsinogenik, antimikroba, antimutagenik, anti-inflamasi, dan mengurangi risiko penyakit kardiovaskular (Al-Farsi dan Lee, 2007). Kombinasi flavonoid dan fenolik secara

bersama-sama membantu mencegah terjadinya oksidasi lipid oleh radikal bebas (Saryono dan Santoso, 2015).

Buah kurma mengandung senyawa antioksidan, yaitu senyawa fenolik seperti flavonoid (Soebahar dkk, 2015). Fenolik (kandungan pirokatekol dan asam galat masing-masing adalah 6,2 dan 2,906 $\mu\text{g} / \text{mg}$) (Bouhlali dkk, 2017). Buah kurma juga mengandung senyawa *cinnamic acid*, *p-coumaric* dan *ferulic* sebagai antioksidan (Mansouri dkk, 2005). Aktivitas antioksidan dapat dikaitkan dengan keberadaan vitamin C (kandungan asam askorbat 0,66 $\mu\text{g} / \text{mg}$) dan senyawa flavonoid (4,79 $\mu\text{g} / \text{mg}$). Golongan senyawa flavonoid seperti katekin ($r = 0.96$), dan rutin ($r = 0.74$) pada ekstrak air (Saleh dkk, 2011).

Asam Ferulat merupakan komponen senyawa fenolik yang dominan terdapat pada buah kurma dengan kadar sebesar 4,7 mg/100 gram buah kurma dalam berat kering. Asam ferulat memiliki inti fenolik dan diperpanjang rantai samping konjugasi sehingga mudah membentuk resonansi stabil fenoksi radikal yang menyumbang potensi antioksidan kuat (Listyo dkk, 2018). Senyawa antioksidan beberapa di antaranya mempunyai gugus aktif *Benzoic Acid* dan sebagian darinya merupakan turunan Asam Sinamat (Al Farsi, 2005). Penelitian sebelumnya oleh Philips (2009) dengan melakukan analisis kadar antioksidan buah kurma dengan metode Ferric Reducing / Antioxidant Power (FRAP) yaitu buah kurma memiliki kadar antioxidant sebesar 11,65-387 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ dari berat kering, hal ini menunjukkan bahwa buah kurma memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi dari gula tebu atau jagung yang hanya berkisar 10-100 $\mu\text{mol}/100\text{g}$.

Tabel 2.1 Struktur Kimia Senyawa pada *Phoenix dactylifera* L.

No.	Struktur Kimia	Nama Senyawa
1.		Katekin (Parwata, 2016).
2.		Rutin (Jayameena dkk, 2018).
3.		Quercetin (Li Yao dkk, 2016).
4.		<i>Ferrulic acid</i> (Listyo dkk, 2018).
5.		Pyrocatechol (Mudasir, 2002).
6.		<i>Cinnamic acid</i> (Julianus dan Elvan, 2014).
7.		<i>Gallic acid</i> (Zanwar dkk, 2014).
8.		Polisianidin (Kim dkk, 2010).

2.2 Rhodamin B

Rhodamin B sebenarnya adalah pewarna sintetis yang biasa digunakan untuk mewarnai kain atau kertas. Pewarna ini berbentuk serbuk kristal berwarna kehijauan, larut dalam air dan menghasilkan warna merah terang dan berflourensi bila ditambahkan pada makanan. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 239/ Men.Kes/Per/V/85, rhodamin B merupakan zat warna berbahaya yang dilarang keras digunakan dalam makanan. Meskipun telah dilarang, namun penggunaan rhodamin B pada makanan masih saja ditemukan terutama pada industri kecil (Djarismawati dan Naingolan, 2004). Menurut Anggrahini (2008), rhodamin B merupakan senyawa sintetis yang mengandung residu logam berat yang berbahaya bagi kesehatan.

Rhodamin B tergolong dalam xenobiotik organoklorin yang tidak dapat diekskresi dengan baik sehingga terakumulasi yang dapat menyebabkan sitotoksisitas sampai dengan kematian sel. Metabolisme toksik menyebabkan kerusakan membran dengan pengikatan kovalen secara langsung pada protein dan lipid sehingga terjadi pembentukan radikal bebas reaktif. Radikal bebas reaktif dapat menyebabkan stress oksidatif baik pada manusia maupun mencit, sel-sel granulose dan lutel berespon negative terhadap stress oksidatif sehingga mengakibatkan berkurangnya sekresi bahkan dapat menghambat sekresi gonadotropin (Dianti, 2018)

Rhodamin B adalah zat pewarna yang tersedia di pasar untuk industri tekstil. Zat ini sering disalahgunakan sebagai zat pewarna makanan dan kosmetik di berbagai negara. Pangan yang ditemukan mengandung rhodamin B diantaranya

kerupuk (58%), terasi (51%), dan makanan ringan (42%). Zat ini juga banyak ditemukan pada kembang gula, sirup, manisan, dawet, bubur, ikan asap dan cendol. Rhodamin B sering digunakan sebagai zat pewarna pada kertas dan tekstil, zat ini paling berbahaya bila dikonsumsi bisa menyebabkan gangguan pada fungsi hati, bahkan kanker hati. Bila mengonsumsi makanan yang mengandung rhodamin B, dalam tubuh akan terjadi penumpukan lemak, sehingga lama-kelamaan jumlahnya akan terus bertambah. Dampaknya baru akan kelihatan setelah puluhan tahun kemudian. Zat ini tidak layak untuk dikonsumsi, jika sudah masuk dalam tubuh, maka akan mengendap pada jaringan hati dan lemak, tidak dapat dikeluarkan, dalam jangka waktu lama bisa bersifat karsinogenik. Oleh karena itu dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/MenKes/Per/IX/88, rhodamin B merupakan salah satu bahan yang dilarang sebagai bahan tambahan pangan (Wibowo dan Saebani, 2016).

2.3 Radikal Bebas

2.3.1 Pengertian Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus. Tubuh manusia memiliki sistem pertahanan endogen terhadap serangan radikal bebas terutama terjadi melalui peristiwa metabolisme sel normal dan peradangan. Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan faktor stress, radiasi, asap rokok dan polusi lingkungan menyebabkan sistem pertahanan

tubuh yang ada tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas (Wahdaningsih, 2011).

2.3.2 Jenis Radikal Bebas

Radikal bebas terdiri dari banyak jenis yaitu *Radical Nitrogen Species* (RNC), *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS terdiri dari *Oxygen Free radicals* (OFR_s) atau radikal oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), Radikal Peroksil (ROO^-), *hydrogen peroksida* (H_2O_2), radikal hidroksil (OH^-), oksigen *singlet* (O_2) (Punchard dan Kelly, 1996).

Tahap-tahap penambahan elektron tunggal dalam proses reduksi oksigen menghasilkan spektrum *intermediate* yang reaktif (radikal oksigen). Radikal oksigen berpotensi toksik terhadap sel yang mengakibatkan peroksida lipid, perubahan *sequence* basa asam nukleat yang dapat bermutasi sehingga menyebabkan kanker. Radikal oksigen memiliki potensial aksi yang kuat dan lama aksi yang relatif pendek (Niwa, 1997).

RNS (*Reactive Nitrogen Species*) terdiri dari Nitri Oksida (NO^-), peroksinitrit ($-OONO$) serta peroksinitrat ($-OONO_2$) (Punchard dan Kelly, 1996). Sedangkan radikal hidroksil adalah radikal bebas paling reaktif yang dapat dihasilkan dari reduksi superoksida sehingga terbentuk hidrogen peroksida yang dikatalisis dengan besi (II) dengan reaksi Fenton (Frei, 1994).

2.3.3 Sumber Radikal Bebas

Sumber radikal bebas berasal dari dalam tubuh (endogen) maupun luar tubuh (eksogen), yang dijelaskan sebagai berikut :

a. Radikal yang berasal dari dalam tubuh (endogen)

Radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh dapat berasal dari proses biologis normal, tetapi dapat menimbulkan suatu masalah apabila terdapat dalam jumlah yang berlebih. Radikal dalam sistem biologi penggunaannya terlibat dalam metabolisme asam arakidonat melalui biosintesis eikosanoid sebagai senyawa antara dari reaksi yang dikatalisis oleh suatu enzim, misalnya pada rantai *transport electron* di mitokondria dan bagian dari respon jaringan dalam melawan mikroorganisme. Namun juga berasal dari faktor NO dan iskemia reperfusi yang melibatkan metabolisme xantin oksidase (Niwa, 1997).

b. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogen)

Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh ini terjadi akibat lingkungan yang tercemar asap rokok, polusi udara, pola makan, gaya hidup, obat-obatan, olahraga yang berlebihan, zat-zat kimia. Pola makan seperti banyak mengonsumsi lemak khususnya lemak tak jenuh yang sulit diurai di dalam tubuh akan memicu adanya radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh. Hal ini dikarenakan lemak tak jenuh mudah sekali dioksidasi oleh radikal hidroksil menjadi radikal lipid peroksida (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Pembakaran yang tidak sempurna dari asap kendaraan, asap rokok, radiasi matahari, radiasi kosmis, bahan pencemar akan memicu munculnya radikal bebas dan reaksi oksidasi lainnya. Zat kimia yang memproduksi oksigen radikal dalam

inti sel yaitu insektisida, senyawa klorida, nitrogen oksida, kloramfenikol, obat anti kanker, obat TBC. Sinar x dan sinar ultraviolet juga dapat mematikan sel dengan cara merusak membran yang menyebabkan peradangan intraseluler sampai selnya lisis, merusak ikatan pasangan basa secara tidak langsung, sehingga proses replikasi atau transkripsi DNA terganggu yang menimbulkan penyakit kanker (Niwa, 1997).

2.3.4 Tahapan Pembentukan Radikal Bebas

Secara umum, tahapan reaksi pembentukan radikal bebas melalui 3 tahapan reaksi yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi merupakan tahap awal pembentukan radikal bebas, tahap propagasi adalah pemanjangan rantai dan tahap terminasi merupakan bereaksinya senyawa radikal dengan senyawa radikal lain atau dengan penangkap radikal sehingga potensi propagasinya rendah. Reaktivitas radikal bebas dihambat dengan cara sebagai berikut (Winarsi, 2007) :

1. Mencegah atau menghambat pembentukan radikal bebas baru.
2. Menginaktivasi atau menangkap radikal bebas dan memotong propagasi.
3. Memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas.

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan diperlukan untuk mencegah stress oksidatif. Stress oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas yang ada dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya,

sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul di sekitarnya (lipid, protein, DNA, dan karbohidrat). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Werdhasari, 2014).

Antioksidan adalah penghambat proses oksidasi, bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil dan dengan demikian memiliki peran fisiologis yang beragam dalam tubuh. Kandungan antioksidan dari bahan tanaman bertindak sebagai pemulung radikal, dan membantu dalam mengubah radikal menjadi spesies kurang reaktif. Berbagai antioksidan penangkal radikal bebas ditemukan dalam sumber makanan seperti buah-buahan, sayuran, teh dan lain-lain. Oksigen sangat penting untuk kehidupan organisme aerobik tetapi bisa menjadi beracun jika dipasok pada konsentrasi yang lebih tinggi. Dioksigen dalam keadaan dasar relatif tidak reaktif; reduksi parsialnya menimbulkan spesies oksigen aktif (AOS) seperti singlet *oxygen*, anion radikal super oksida, hidrogen peroksida, dan lain-lain. Ini sebagian disebabkan oleh stress oksidatif yang pada dasarnya merupakan efek buruk oksidan pada fungsi fisiologis (Kumar, 2014).

Antioksidan alami selain dapat melindungi tubuh dari serangan radikal bebas juga mampu memperlambat terjadinya penyakit kronik yang disebabkan penurunan spesies oksigen reaktif (ROS) terutama radikal hidroksil dan radikal superoksida. Antioksidan alami juga berfungsi menghambat oksidasi lipid yang menyebabkan ketengikan dan kerusakan pada makanan (Wahdaningsih, 2011).

2.4.2 Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami (Isnindar dan Setyowati, 2011) :

1. Antioksidan Sintetik

Beberapa antioksidan sintetik yang lebih populer digunakan adalah senyawa fenolik seperti Butylated Hydroxyanisole (BHA), Terbutalisasi Hidroksi – Toluene (BHT), Butylhydroquinone Tersier (TBHQ) dan ester dari asam galat, misalnya Gallate Propel (PG). Antioksidan fenolik sintesis selalu diganti oleh alkil untuk meningkatkan kelarutannya dalam lemak dan minyak (Sayuti dan Rina, 2015). Namun pada saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena beberapa antioksidan terbukti bersifat karsinogenik dan beracun terhadap percobaan (Zuhra dkk, 2008).

Telah dilaporkan bahwa penggunaan BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*) dan BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) dapat menimbulkan dampak buruk terhadap kesehatan manusia yaitu gangguan fungsi hati, paru-paru, mukosa usus, dan keracunan. Penggunaan antioksidan sintetik dapat menimbulkan keracunan pada dosis tertentu, menurut rekomendasi *Food and Drug Administration* dosis antioksidan sintetik yang diizinkan dalam pangan adalah 0,01% - 0,1% (Panagan, 2011).

2. Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami umumnya mempunyai gugus hidroksil dalam struktur molekulnya. Antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah

senyawa fenolik berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol (Isnindar dan Setyowati, 2011).

Senyawa fenolik tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik pada kayu, biji, daun, buah akar, bunga maupun serbuk sari. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan saat ini banyak diteliti, karena flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Zuhra dkk, 2008). Senyawa kimia yang tergolong antioksidan dan dapat ditemukan secara alami adalah asam ellagic, proantosianidin, polifenol, karotenoid, astaxanthin, tokoferol dan glutration (Isnindar dan Setyowati, 2011).

2.4.3 Mekanisme Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan enzimatik adalah mengkatalisir pemusnahan radikal bebas dalam sel. Antioksidan pemutus rantai adalah molekul kecil yang dapat menerima atau memberi elektron dari atau ke radikal bebas, sehingga membentuk senyawa baru yang stabil, misal vitamin E dan vitamin C. Sedangkan antioksidan logam transisi terikat protein bekerja mengikat ion logam mencegah radikal bebas (Hillbom, 1999).

Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, pertama kali akan dinetralkan oleh vitamin E, selanjutnya vitamin C dan diteruskan dengan mekanisme oksidatif di dalam tubuh yang dilakukan oleh enzim, misal glutathion. Di dalam sistem tersebut ada hubungan antara satu dengan lain (*antioxidant network*). Beberapa antioksidan penting dalam mekanisme untuk menghambat kerusakan oksidatif akibat radikal bebas, diantaranya glutathion peroksidase, vitamin C dan vitamin E. Antioksidan bisa dikelompokkan berdasarkan sumbernya menjadi antioksidan

endogen dan eksogen. Antioksidan endogen merupakan antioksidan secara alami berada dalam sel manusia diantaranya adalah Superoksida Dismutase (SOD), Katalase (CAT), dan Gluthathion Peroksidase (GPx). Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang berasal dari luar tubuh, berasal dari makanan sehari-hari seperti vitamin-vitamin (vitamin C, vitamin E, β -karoten), dan senyawa fitokimia (karotenoid, isoflavon, saponin, polifenol) (Rock dkk, 1996).

Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksidasi lemak (Dewi dkk, 2014). Flavonoid dapat mencegah terjadinya luka akibat radikal bebas dengan mekanisme berikut, penangkapan langsung dari spesies oksigen reaktif (ROS), aktivasi dari enzim antioksidan, aktivitas pengkelatan logam, reduksi radikal α -tocopherol, penghambatan oksidasi, mitigasi stress oksidatif yang disebabkan oleh oksida nitrat, peningkatan kadar asam urat, peningkatan sifat antioksidan dengan antioksidan molekul rendah (Arifin dan Sanusi, 2018). Flavonoid mampu mentransfer sebuah elektron ke senyawa radikal bebas dan membentuk kompleks dengan logam. Kedua mekanisme itu membuat flavonoid memiliki beberapa efek, diantaranya menghambat peroksidasi lipid, menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas dan menghambat beberapa enzim (Marliana, 2007).

2.4.4 Hubungan Antioksidan dengan Radikal Bebas

Sifat reaktivitas radikal bebas yang tinggi sehingga dapat mengakibatkan pembentukan senyawa radikal baru dan jika bertemu dengan molekul lain akan terbentuk radikal baru lagi sehingga terjadi reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi ini akan terus berlanjut dan dapat berhenti jika reaktivitasnya diredam (*quenched*) oleh senyawa yang bersifat antioksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat (Winarsi, 2007).

Senyawa antioksidan seperti fenol, polifenol, dan flavonoid dapat menghambat mekanisme oksidasi yang disebabkan radikal bebas. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan kuat adalah fenol yang memiliki gugus hidroksi pada posisi orto dan para (Shahidi, 1997).

Studi epidemiologi dan studi terhadap hewan menunjukkan bahwa konsumsi buah, sayur dan kacang-kacangan utuh menurunkan resiko penyakit kronik yang berkaitan dengan kerusakan oksidatif. Karotenoid, tokoferol, vitamin C, asam lipoat dan polifenol merupakan antioksidan alami yang kuat dan menunjukkan aktivitas scavenger radikal bebas. Enzim antioksidan endogen seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroxidase, glutathion reductase, mineral-mineral seperti Se, Mn, Cu, Zn, vitamin A, C dan E, karotenoid, limonoid dan polifenol bekerja secara sinergis dalam menangkap radikal bebas. Berdasarkan fungsi antioksidan dibagi menjadi empat yaitu (Syamsudin, 2013) :

- a. Antioksidan lini pertahanan pertama terdiri dari antioksidan yang bersifat mencegah seperti glutathion peroxidase, glutathion reductase, SOD, katalase, selenoprotein, transferrin, ferritin, latoferrin dan protein-protein non enzim, yang dapat menekan pembentukan radikal bebas. Antioksidan ini bertindak melalui $[O_2]^-$, penguraian H_2O_2 , sekuestari ion logam.
- b. Antioksidan lini pertahanan kedua merupakan antioksidan scavenger glutathion (GSH) dan senyawa yang berasal dari bahan alam. Antioksidan ini bertindak dengan menekan inisiasi rantai atau memutus perambatan rantai.
- c. Antioksidan lini pertahanan ketiga merupakan kelompok enzim kompleks yang diperlukan untuk memperbaiki protein yang rusak, DNA, lipid oksida; enzim-enzim ini dapat menghentikan perambatan rantai radikal peroksil lipid.
- d. Antioksidan lini pertahanan keempat merupakan adaptasi, dimana sinyal dan reaksi radikal bebas dan transport antioksidan ke lokasi penyakit yang tepat terjadi. Dalam hal ini, sistem imun memainkan peran penting.

2.5 Vitamin C

2.5.1 Pengertian Vitamin C

Vitamin C terdapat dalam bentuk asam askorbat maupun dehidroaskorbat. Asam askorbat diabsorpsi usus halus, dan hampir seluruh asam askorbat dari makanan terabsorpsi sempurna. Asam askorbat masuk sirkulasi untuk didistribusikan ke sel-sel tubuh. Asam askorbat dioksidasi in vivo menjadi radikal bebas askorbil. Sebagian proses reversibel menjadi asam askorbat kembali, sebagian menjadi dehidroaskorbat yang akan mengalami hidrolisis, oksidasi dan akhirnya diekskresi melalui urin (Horvath, 1992).

Vitamin C berbentuk seperti kristal berwarna putih, dengan rumus molekul $C_6H_6O_6$ dan berat molekul 176,13. Struktur vitamin C mengandung gugus enadiol yang mirip dengan struktur monosakarida. Asam askorbat atau vitamin C adalah antioksidan alami yang murah dan mudah bila dikonsumsi dari bahan alam. Asam askorbat sebagai antioksidan mempunyai fungsi mengikat oksigen sehingga tidak mendukung proses reaksi oksidasi (*oxygen scavenger*) (Kumalaningsih dan Suprayogi, 2006). Vitamin C menangkap anion superoksida dan Singlet Oksigen. Reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipid peroksidasi dapat diputus oleh vitamin C. Pada konsentrasi tinggi, asam ini tidak bereaksi, sedangkan konsentrasi rendah asam askorbat bereaksi secara langsung pada fase cair dengan radikal peroksil LOO^* lalu berubah menjadi askorbil sedikit reaktif. Asam askorbat mempunyai peranan penting dalam perlindungan DNA pada sperma (Sayuti, 2015).

Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder dan memiliki cara kerja yang sama dengan vitamin E, yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Dalam beberapa penelitian vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dalam menentukan aktivitas antioksidan (Praptiwi dan Harapini, 2006). Vitamin C membantu mempertahankan kondisi tubuh terhadap flu dengan meningkatkan sistem kekebalan tubuh, mengurangi tingkat stress dan membantu proses penyembuhan. Vitamin ini juga berperan penting dalam memelihara kesehatan sel-sel kulit sehingga tetap tampak bersih, berseri, dan sehat (Sayuti dan Rina, 2015).

2.5.2 Mekanisme Vitamin C sebagai Antioksidan

Vitamin C bersifat hidrofilik dan berfungsi paling baik pada lingkungan air sehingga merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan juga berperan dalam sel. Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan superoksida dan anion hidroksil, serta berbagai hidroperoksida lemak. Sedangkan sebagai antioksidan pemutus reaksi berantai, memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E tereduksi (Herbert, 1996).

Asam askorbat merupakan antioksidan alamiah yang terdapat dalam berbagai jenis buah-buahan dan sayuran, yang selama pemasakan dapat mengalami kerusakan sampai sedikitnya setengahnya. Asam askorbat merupakan antioksidan larut air. Asam askorbat menangkap secara efektif sekaligus O_2^* (anion superoksida) dan 1O_2 (singlet oksigen). Asam askorbat dapat memutus reaksi radikal yang dihasilkan melalui lipid peroksidasi (Sayuti dan Rina, 2015). Penggunaan asam askorbat sebagai antioksidan alami sangat dianjurkan untuk proses pengobatan dan detoksifikasi (peluruhan toksik) (Dianti, 2018).

2.6 Organ Manusia

2.6.1 Pengertian Organ Manusia

Setiap makhluk tersusun atas satuan atau unit terkecil yang disebut sel. Sel-sel manusia mempunyai bentuk dan fungsi sama berkumpul membentuk jaringan. Beberapa macam jaringan berkumpul membentuk organ tubuh. Di dalam tubuh manusia terdapat banyak organ. Beberapa organ tubuh bekerja saling

berinteraksi membentuk tubuh manusia. Tingkatan organisasi dalam tubuh manusia sehingga terbentuk tubuh manusia (Irianto, 2004).

Organ merupakan kumpulan beberapa jaringan untuk melakukan fungsi tertentu di dalam tubuh. Misalnya, kulit yang menutupi permukaan luar tubuh manusia adalah organ yang terdiri dari jaringan pengikat, jaringan epitel, jaringan otot, jaringan pembuluh darah dan jaringan saraf. Semua jaringan ini secara bersama-sama berfungsi sehingga memungkinkan kulit melindungi tubuh dari kekeringan, perubahan temperatur, cahaya matahari, terkena infeksi, zat-zat kimia dan tekanan-tekanan mekanik. Di samping melindungi tubuh, kulit juga merupakan organ tubuh yang berfungsi untuk mengeluarkan hasil-hasil metabolisme yang tidak berguna lagi bagi tubuh, sebagai tempat penyimpanan makanan cadangan, tempat indera peraba dan fungsi-fungsi khusus lainnya (Irianto, 2004).

2.6.2 Organ Perkemihan

a. Ginjal

Ginjal adalah salah satu organ yang terkena efek toksisitas saat tubuh terpapar oleh zat-zat antinutrisi atau radikal bebas (Guyton dan Hall, 2007). Ginjal adalah organ dimana proses penyaringan darah terjadi. Kontaminan yang terbawa oleh darah yang merupakan sisa metabolisme, terakumulasi di dalam ginjal (Taufikhurohmah, 2016). Glomerulus dan tubulus adalah bagian dari ginjal yang mudah mengalami kelainan sehingga akan berdampak secara morfologis dan fungsional jika terjadi kerusakan. Kerusakan dapat berupa nekrosis, proliferasi sel, infiltrasi sel radang, lolosnya protein, dan makromolekul lain dalam jumlah yang

besar, serta dapat terjadi atrofi, fibrosis, edema, vakuolisasi tubulus, kongesti, dan pendarahan (Adinata dkk, 2012).

b. Ureter

Ureter terdiri dari dua saluran, masing-masing bersambung dari ginjal ke kandung kemih (*vesika urinaria*), panjangnya 25-30 cm, dengan penampang 0,5 cm, mempunyai 3 jepitan di sepanjang jalan. Piala ginjal berhubungan dengan ureter, menjadi kaku ketika melewati tepi pelvis dan ureter menembus kandung kemih. Lapisan ureter terdiri dari 3 bagian, yaitu dinding luar jaringan ikat (jaringan fibrosa), lapisan tengah (otot polos) dan lapisan sebelah dalam (mukosa) (Syaiuddin, 2014).

c. Vesika Urinaria

Vesika urinaria terletak tepat di belakang os pubis. Bagian ini tempat menyimpan urin, ber dinding otot kuat, bentuknya bervariasi sesuai dengan jumlah urin yang dikandung. Vesika urinaria pada waktu kosong terletak di apeks venaika urinaria di belakang tepi atas simfisis pubis. Permukaan posterior vesika urinaria berbentuk segitiga, merupakan muara ureter dan sudut inferior membentuk uretra (Syaiuddin, 2014).

d. Uretra

Uretra merupakan alir sempit yang berpangkal pada kandung kemih dan fungsinya menyalurkan urin keluar (Syaiuddin, 2014).

2.7 Ginjal

2.7.1 Pengertian Ginjal

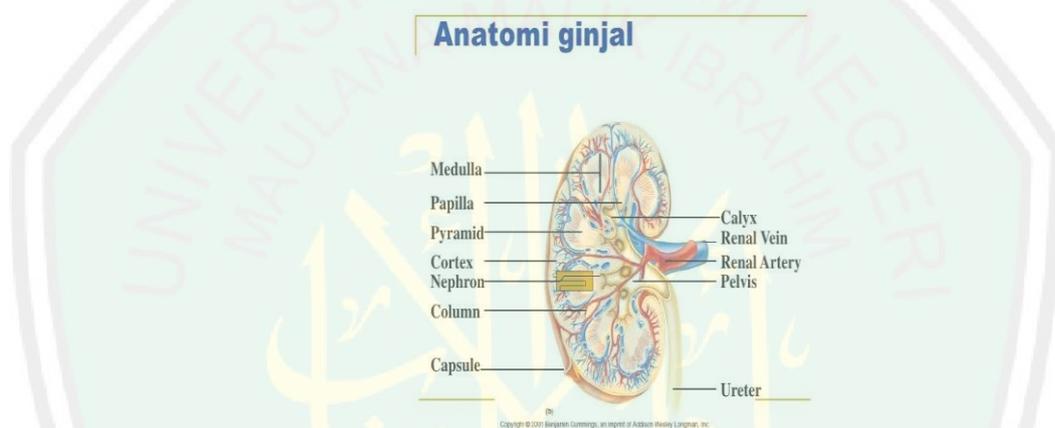
Ginjal adalah salah satu organ yang terkena efek toksisitas saat tubuh terpapar oleh zat-zat antinutrisi atau radikal bebas (Guyton dan Hall 2007). Ginjal adalah organ dimana proses penyaringan darah terjadi. Kontaminan yang terbawa oleh darah yang merupakan sisa metabolisme, terakumulasi di dalam ginjal (Taufikhurohmah, 2016). Glomerulus dan tubulus adalah bagian dari ginjal yang mudah mengalami kelainan sehingga akan berdampak secara morfologis dan fungsional jika terjadi kerusakan. Kerusakan dapat berupa nekrosis, proliferasi sel, infiltrasi sel radang, lolosnya protein, dan makromolekul lain dalam jumlah yang besar, serta dapat terjadi atrofi, fibrosis, edema, vakuolisasi tubulus, kongesti, dan pendarahan (Adinata dkk, 2012).

Ginjal rentan terhadap efek toksik, karena ginjal menerima aliran darah sekitar 25% dari volume darah yang mengalir ke jantung. Ginjal juga merupakan organ ekskresi untuk sebagian besar obat sehingga memungkinkan terjadinya akumulasi obat dan penimbunan cairan pada tubulus (Ganong, 2003).

2.7.2 Struktur Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan organ yang terpenting dalam mempertahankan homeostasis cairan tubuh. Berbagai fungsi ginjal untuk mempertahankan homeostasis dengan mengatur volume cairan, keseimbangan osmotik, asam-basa, ekskresi sisa metabolisme, dan pengaturan hormonal dan metabolisme. Ginjal terletak di dalam rongga abdomen retroperitoneal kiri dan kanan kolumna vertebralis, di kelilingi oleh lemak jaringan ikat di belakang peritoneum. Batas

atas ginjal kiri setinggi iga ke-11 dan ginjal kanan setinggi iga ke-12 sedangkan batas bawah setinggi vertebralis lumbalis ke-3. Setiap ginjal mempunyai panjang 11,25 cm, lebar 5-7 cm, dan tebal 2,5 cm. Ginjal kiri memiliki ukuran lebih panjang daripada ginjal kanan. Berat ginjal pria dewasa 150-170 gram dan wanita 115-155 gram. Bentuk ginjal seperti kacang, sisi dalam menghadap ke vertebra torakalis, sisi permukaannya cembung, dan di atas setiap ginjal terdapat sebuah kelenjar suprarenal (Syaifuddin, 2009).



Gambar 2.3. Anatomi Ginjal (Campbell dkk, 2001).

Ginjal terdiri dari beberapa bagian yaitu :

1. Nefron

Nefron terdiri dari korpuskulus renal (bagian yang melebar), tubulus konsturtus proksimal (lengkung henle) dan tubulus konturtus distal. Nefron juga memiliki apparatus juxtaglomerular yang merupakan bagian dari kutub vaskular pada korpuskular ginjal (Junqueira dan Carneiro, 2005). Nefron memiliki struktur yang berbeda yaitu untuk nefron kortikal memiliki ansa henle yang pendek terbatas pada korteks, namun juxtamedularis mempunyai ansa henle yang lebih

panjang yang terletak mulai dari korteks dan meluas ke bawah dalam medulla (Johnson dan Everitt, 1994).

a. Badan Malpighi (*korpuskulus renalis*)

Badan Malpighi ini terdiri dari kapsula bowman dan rumbai kapiler glomerulus. Kapsula bowman ini terletak disekeliling glomerulus yang dilapisi dengan epitel ber dinding ganda. Sel-sel epitel parietal ini memiliki bentuk pipih dan membentuk bagian terluar dari kapsula bowman. Membran basalis membentuk lapisan tengah dinding kapiler, berada diantara sel-sel epitel, sel endotel berkontak kontinu dengan membran basalis (Syarifuddin, 2009).

Glomerulus merupakan gulungan atau anyaman kapiler yang terletak di dalam kapsula bowman dan menerima darah dari *arteriole aferen* dan meneruskan ke sistem vena melalui *arteriol eferen*. Natrium secara bebas difiltrasi ke dalam glomerulus sesuai dengan konsentrasi dalam plasma. Kalium juga difiltrasi secara bebas, diperkirakan 10-20% dari kalium plasma terikat oleh protein dalam keadaan normal. Kapsula bowman adalah ujung-ujung buntu tubulus ginjal seperti kapsula cekung menutupi glomerulus yang saling melilitkan diri (Syarifuddin, 2009).

Glomerulus berdiameter 200 μm , dibentuk oleh invaginasi suatu anyaman kapiler yang menempati kapsula bowman. Glomerulus mempunyai dua lapisan yang memisahkan darah dari dalam kapiler glomerulus dan filtrat dalam kapsula bowman. Lapisan tersebut yaitu lapisan endotel khusus yang terletak di atas kapiler kapsula bowman. Kedua lapisan ini dibatasi oleh lamina basalis dan

terdapat sel-sel stealata yang mirip sel parasit yang terdapat pada dinding kapiler seluruh tubuh (Syarifuddin, 2009).

Sawar ginjal adalah istilah yang digunakan untuk bangunan yang memisahkan darah kapiler glomerulus dari filtrat dalam rongga kapsula bowman. Partikel ini dihubungkan dengan membran celah lapisan yang utuh sebagai saringan utama yang mencegah lewatnya molekul besar. Partikel yang lebih halus mampu masuk sampai rongga kapsula. Filtrasi harus melalui sawar dan tergantung pada tekanan hidrostatik darah dalam kapiler glomerulus. Pada umumnya, tekanan hidrostatik darah adalah 75 mmHg (Syarifuddin, 2009).

Tubulus konturtus proksimal terdapat banyak pada korteks ginjal dengan diameter sekita 60 mikrometer dan panjang 14 mm. Tubulus konturtus proksimal terdiri dari pars konvulata yang berada di dekat korpuskulus ginjal dan pars rekta yang berjalan turun di medulla korteks kemudian berlanjut menjadi lengkung henle di medulla (Junqueira dan Carneiro, 2005).

Tubulus konturtus proksimal dilapisi oleh epitel selapis kuboid atau silindris yang menunjang dalam mekanisme absorpsi dan ekskresi. Epitel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang dikarenakan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar. Apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang sekitar 1 mikrometer (Guyton dan Hall, 2007).

Tubulus konturtus distal memiliki bentuk yang lebih pendek dari tubulus konturtus proksimal, karena diameternya lebih kecil dan sel-sel epitelnya kuboid. Tubulus konturtus distal merupakan tempat mekanisme yang mengendalikan jumlah total garam dan air dalam tubuh dan mensekresi ion hidrogen dan

ammonium ke dalam urin. Hal ini dilakukan untuk mempertahankan keseimbangan asam basa (Junqueira dan Carneiro, 2005).

2. Duktus Koligens

Duktus koligens berjalan dalam berkas medulla menuju ke arah medulla, duktus koligens berhubungan secara tegak lurus dengan beberapa generasi tubulus koligens yang lebih kecil yang mengalirkan cairan setiap berkas medulla. Duktus koligens dalam medulla merupakan komponen utama dari mekanisme pemekatan urin karena adanya sedikit absorpsi yang dipengaruhi oleh hormon antidiuretik (ADH) (Ganong, 2003).

2.7.3 Fungsi Ginjal

Ginjal merupakan alat tubuh yang strukturnya amat rumit, berperan penting dalam pengelolaan berbagai faal utama tubuh. Beberapa fungsi ginjal (Syarifuddin, 2014) :

1. Regulasi volume dan osmolalitas cairan tubuh

Bila tubuh kelebihan cairan maka terdapat rangsangan melalui arteri karotis interna ke osmoreseptor di hipotalamus anterior. Rangsangan tersebut diteruskan ke kelenjar hipotalamus posterior sehingga produksi hormon anti diuretik (ADH) dikurangi dan akibatnya diuresis banyak.

2. Regulasi keseimbangan elektrolit

Untuk mempertahankan homeostasis, ekskresi air dan elektrolit seharusnya sesuai dengan asupan. Jika asupan melebihi ekskresi, jumlah zat dalam tubuh meningkat. Jika asupan kurang dari ekskresi, jumlah zat dalam tubuh berkurang.

3. Regulasi keseimbangan asam basa

Ginjal turut mengatur asam-basa, bersama dengan sistem dapar paru dan cairan tubuh, dengan mengekskresi asam dan mengatur penyimpanan dapar cairan tubuh.

4. Ekskresi produk metabolit dan substansi asing

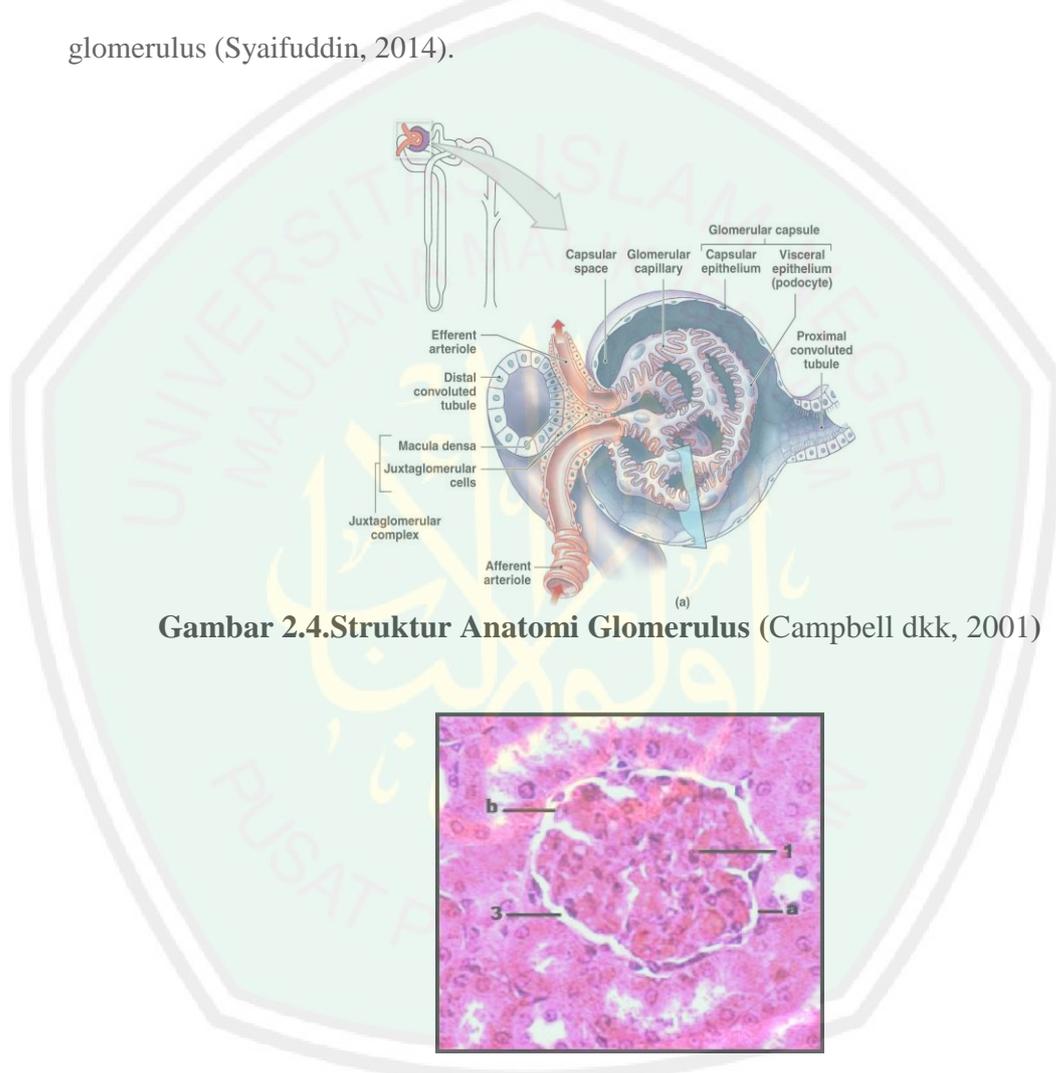
Ginjal merupakan organ utama untuk membuang produk sisa metabolisme tidak diperlukan lagi oleh tubuh, seperti urea (dari metabolisme asam amino), kreatinin (dari kreatin otot), asam urat (dari asam nukleat), produk akhir pemecahan hemoglobin (seperti bilirubin), dan metabolit dari berbagai hormon. Ginjal membuang banyak toksin dan zat asing lainnya yang diproduksi oleh tubuh atau pencernaan, seperti pestisida, obat-obatan dan makanan tambahan (Syarifuddin, 2014).

2.7.4 Glomerulus

Glomerulus merupakan bagian dari struktur histopatologi ginjal yang berfungsi sebagai tempat filtrasi zat-zat yang berasal dari sistem peredaran darah. Glomerulus adalah jaringan dari arterioli afferent (cabang dari arteri ginjal). Darah memasuki glomerulus dengan tekanan kira-kira 60 mmHg yang diatur oleh sel khusus pada arterioli afferent yaitu sel juxtaglomerular. Tekanan ini memberikan dorongan pada cairan darah untuk keluar dari pori-pori melalui membran dasar dan melewati arterioli afferent untuk disaring diantara sel penyusun lapisan sampai kapsula Bowman (Ganong, 2003).

Kapsula Bowman terdiri atas sel-sel squamous simpleks terdiri dari dua pars, yakni pars viseralis, yaitu meliputi kapiler-kapiler glomerulus, dan pars

parietalis yang membungkus glomerulus. Antara kapsula bowman pars viseralis dan pars parietalis terdapat ruangan bowman/ruangan kapsula (*bowman's space / capsular's space*). Membran basalis, endotel kapiler, dan epitel glomerulus (*capsula bowman pars visceralis*) merupakan barier filtrasi dari glomerulus (Syarifuddin, 2014).



Gambar 2.4. Struktur Anatomi Glomerulus (Campbell dkk, 2001)

Gambar 2.5. Penampang Melintang Korteks Ginjal (Glomerulus)

Keterangan :

1. Glomerulus
2. Kapsula Bowman
- a. Lapis parietal
- b. Lapis visceral
3. Ruang bowman

2.7.5 Mekanisme Kerusakan Ginjal Akibat Radikal Bebas

Konsumsi Rhodamin B secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan ginjal (Sugiyatmi, 2006). Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh akibatnya ginjal menjadi menjadi salah satu organ sasaran utama dari efek toksik. Urin sebagai jalur utama ekskresi, dapat mengakibatkan ginjal memiliki volume darah yang tinggi, mengkonsentrasikan toksikan pada filtrat, membawa toksikan melalui sel tubulus dan mengaktifkan toksikan tertentu (Guyton dan Hall, 1995). Bahan-bahan yang bersifat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi ginjal (Mayori dkk, 2013).

Struktur kimia rhodamin B terdapat ikatan dengan klorin (Cl) dimana senyawa klorin ini merupakan senyawa anorganik yang reaktif juga berbahaya. Klorin sangat berbahaya jika dikonsumsi karena merupakan senyawa radikal (senyawa yang tidak stabil) (Anjasmara dkk, 2013). Sehingga rhodamin B tidak dapat termetabolisme di hepar dan masuk mengikuti aliran darah. Selanjutnya aliran darah ini menuju ke sistem ekskresi yaitu ginjal untuk dikeluarkan dari dalam tubuh melalui glomerulus. Glomerulus berfungsi sebagai tempat filtrasi yang terdiri dari untaian-untaian saringan, pelindung glomerulus yaitu kapsula bowman (Mayori dkk, 2013).

2.8 Mencit (*Mus musculus*)



Gambar 2.6.Morfologi Mencit (*Mus musculus*) (Medero, 2008).

Taksonomi hewan mencit (*Mus musculus*) menurut Kartika dkk (2013) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordota

Kelas : Mammalia

Ordo :Rodentia

Famili : Muridae

Genus : Mus

Spesies :*Mus musculus*

Mencit laboratorium merupakan turunan dari mencit liar yang telah mengalami pembiakan secara selektif. Mencit dikelompokkan ke dalam kingdom animalia, phylum chordata. Hewan ini termasuk hewan yang bertulang belakang dan menyusui sehingga dimasukkan ke dalam subphylum vertebrata dan kelas mamalia. Selain itu hewan ini juga memiliki kebiasaan mengerat (ordo rodentia), dan merupakan famili muridae, dengan nama genus *Mus* serta memiliki nama spesies *Mus musculus* L (Priyambodo, 2003).

Mencit secara biologis memiliki ciri umum, yaitu berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Mencit merupakan

hewan nokturnal yang sering melakukan aktivitasnya pada malam hari. Perilaku mencit dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya faktor internal seperti seks, perbedaan umur, hormon, kehamilan, dan penyakit; faktor eksternal seperti makanan, minuman, dan lingkungan disekitarnya (Smith dan Mangkoewidjojo dkk, 1998).

Mencit memiliki berat badan yang bervariasi. Berat badan ketika lahir berkisar antara 2-4 gram, berat badan mencit dewasa berkisar antara 20-40 gram untuk mencit jantan dan 25-40 gram untuk mencit betina dewasa. Sebagai hewan pengerat mencit memiliki gigi seri yang kuat dan terbuka. Susunan gigi mencit adalah indicisivus $\frac{1}{2}$, caninus 0/0, premolar 0/0, dan molar 3/3 (Setijono, 1985). Mencit dapat bertahan hidup selama 1-2 tahun dan dapat juga mencapai umur 3 tahun. Lama bunting 19-21 hari sedangkan umur untuk siap dikawinkan 8 minggu. Perkawinan mencit terjadi pada saat mencit betina mengalami estrus. Satu induk dapat menghasilkan 6-15 ekor anak (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

2.9 Ekstrak

2.9.1 Pengertian Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Dirjen POM, 1995).

2.9.2 Macam Macam Ekstrak

Menurut Dirjen POM (1995) dikenal tiga macam ekstrak yaitu :

1. Ekstrak cair adalah ekstrak yang diperoleh dari hasil penyarian bahan alam yang masih mengandung larutan penyari.
2. Ekstrak kental adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan, dan tidak mengandung cairan penyari, tetapi konsistensinya tetap cair pada suhu kamar.
3. Ekstrak kering adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan tidak mengandung lagi pelarut dan mempunyai konsistensi padat (berwujud kering).

2.10 Ekstraksi

2.10.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan pelarut yang sesuai. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Setelah diketahui senyawa aktif yang dikandung oleh simplisia akan memudahkan pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah ditembus oleh pelarut, karena itu proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai sangat halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu dan kulit akar sulit untuk ditembus oleh pelarut, karena itu perlu diserbuk sampai sangat halus (Depkes RI, 2000).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terdapat dalam simplisia, proses ekstraksi ini didasarkan atas perpindahan massa

komponen-komponen zat padat dari simplisia kedalam pelarut, setelah pelarut menembus permukaan dinding sel, kemudian berdifusi sehingga terjadi perbedaan tekanan diluar dan di dalam sel (Dirjen POM, 1986).

2.10.2 Pemilihan Pelarut

Pemilihan pelarut yang akan digunakan untuk ekstraksi harus diperhatikan kandungan kimia (metabolit sekunder) yang akan diekstraksi. Sifat yang penting adalah kepolaran, dapat dilihat dari gugus polar senyawa tersebut yaitu gugus OH, COOH. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan sebaliknya senyawa non polar akan lebih mudah larut pada pelarut non polar. Derajat kepolaran tergantung pada ketetapan dielektrik, makin besar ketetapan dielektrik makin polar pelarut tersebut (Dirjen POM, 1992).

Syarat-syarat pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah (Dirjen POM, 1992) :

1. Kapasitas besar
2. Selektif
3. Volatilitas cukup rendah (kemudahan menguap / titik didihnya cukup rendah).
Cara memperoleh penguapannya adalah dengan cara penguapan di atas penangas air dengan wadah lebar pada temperatur 60°C , destilasi, dan penyulingan vakum).
4. Harus dapat diregenerasi
5. Relatif tidak mahal
6. Tidak toksik, non korosif, tidak memberikan kontaminasi serius dalam keadaan menguap
7. Viskositas cukup rendah

2.10.3 Macam Macam Metode Ekstraksi

Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi (Pratiwi, 2009). Macam-macam metode ekstraksi untuk bahan alam adalah sebagai berikut :

A. Ekstraksi secara Dingin

Ekstraksi secara dingin pada prinsipnya tidak memerlukan pemanasan. Hal ini diperuntukkan untuk bahan alam yang mengandung komponen kimia yang tidak tahan pemanasan dan bahan alam yang mempunyai tekstur yang lunak. Metode ekstraksi yang termasuk cara dingin adalah (Dirjen POM, 1986) :

1. Maserasi

Metode ekstraksi maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Pengadukan dilakukan untuk meningkatkan proses ekstraksi. Metode ini digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang seperti benzoin, stiraks dan lilin (Dirjen POM, 1986).

Keuntungan dari metode ekstraksi maserasi ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah. Selain itu, kerusakan pada komponen kimia sangat minimal. Namun metode maserasi ini juga memiliki kerugian yaitu pengerjaannya yang lama dan penyariannya kurang sempurna (Dirjen POM, 1986).

2. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip ekstraksi dengan perkolasi adalah serbuk simplisia di tempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampel dalam keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan tekanan penyari dari cairan di atasnya, dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan ke bawah (Dirjen POM, 1986).

Kerugian dari metode ekstraksi perkolasi ini adalah serbuk yang mengandung sejumlah besar zat aktif yang larut, tidak baik bila diperkolasi dengan alat perkolasi yang sempit, sebab perkolat akan segera menjadi pekat dan berhenti mengalir (Dirjen POM, 1986).

B. Ekstraksi Secara Panas

Ekstraksi secara panas dilakukan untuk mengekstraksi komponen kimia yang tahan terhadap pemanasan seperti glikosida, saponin, minyak-minyak menguap yang mempunyai titik didih yang tinggi, selain itu pemanasan juga diperuntukkan untuk membuka pori-pori sel simplisia sehingga pelarut organik mudah masuk ke dalam sel untuk melarutkan komponen kimia. Metode ekstraksi yang termasuk cara panas yaitu (Tobo, 2001) :

1. Refluks

Metode ekstraksi refluks merupakan metode berkesinambungan dimana cairan penyari secara kontinu menyari komponen kimia dalam simplisia cairan penyari dipanaskan sehingga menguap dan uap tersebut dikondensasikan oleh pendingin balik, sehingga mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan dan jatuh kembali ke labu alas bulat sambil menyari simplisia. Proses ini berlangsung secara berkesinambungan dan biasanya dilakukan 3 kali dalam waktu 4 jam. Simplisia yang dapat diekstraksi dengan metode refluks adalah simplisia yang mengandung komponen kimia yang tahan pemanasan dan mempunyai tekstur keras seperti akar, batang, buah, biji dan herba (Dirjen POM, 1986).

Keuntungan dari metode refluks adalah (Dirjen POM, 1986) :

1. Dapat mencegah kehilangan pelarut oleh penguapan selama proses pemanasan jika digunakan pelarut yang mudah menguap atau dilakukan ekstraksi jangka panjang.
2. Dapat digunakan untuk ekstraksi sampel yang tidak mudah rusak dengan adanya pemanasan.

Kerugian dari metode ekstraksi refluks ini adalah prosesnya membutuhkan waktu yang sangat lama dan diperlukan alat-alat yang tahan terhadap pemanasan (Dirjen POM, 1986).

2. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah metode yang populer yang digunakan untuk ekstraksi minyak-minyak menguap (esensial) dari sampel tanaman. Metode destilasi uap air diperuntukkan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau

mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal, misalnya pada penyarian minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman Sereh (*Cymbopogon nardus*). Pada metode ini uap air digunakan untuk menyari simplisia dengan adanya pemanasan kecil uap air tersebut menguap kembali bersama minyak menguap dan dikondensasikan oleh kondensor sehingga terbentuk molekul-molekul air yang menetes ke dalam corong pisah penampung yang telah diisi air. Penyulingan dilakukan hingga sempurna (Dirjen POM, 1986).

Prinsip fisik destilasi uap yaitu jika dua cairan tidak bercampur digabungkan, tiap cairan bertindak seolah-olah pelarut itu hanya sendiri, dan menggunakan tekanan uap. Tekanan uap total dari campuran yang mendidih sama dengan jumlah tekanan uap parsial, yaitu tekanan yang digunakan oleh komponen tunggal, karena pendidihan yang dimaksud yaitu tekanan yang digunakan oleh komponen tunggal, karena pendidihan yang dimaksud yaitu tekanan uap total sama dengan tekanan atmosfer, titik didih dicapai pada temperatur yang lebih rendah daripada jika tiap-tiap cairan berada dalam keadaan murni (Dirjen POM, 1986).

Keuntungan dari destilasi uap ini adalah titik didih dicapai pada temperatur yang lebih rendah dari pada jika tiap-tiap cairan berada dalam keadaan murni. Selain itu, kerusakan zat aktif pada destilasi langsung dapat ditangani pada destilasi uap ini. Adapun kerugiannya adalah diperlukan alat yang lebih lengkap dan pengetahuan yang lebih banyak sebelum melakukan destilasi uap ini (Dirjen POM, 1986).

3. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon. Proses ini berlangsung hingga penyari yang melalui pipa sifon atau jika diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis tidak memberikan noda lagi (Dirjen POM, 1986).

Keuntungan dari metode ekstraksi *soxhletasi* adalah cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping. Adapun kerugiannya adalah jumlah ekstrak yang diperoleh lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi (Dirjen POM, 1986).

4. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50⁰C (Dirjen POM, 1986).

2.10.4 Ekstraksi Buah Kurma

Ekstrak buah kurma diperoleh dari serbuk buah kurma yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode ekstraksi maserasi ini dipilih karena buah kurma mengandung senyawa yang tidak tahan panas sehingga cocok dilakukan metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi. Alasan pemilihan pelarut etanol karena lebih selektif dan kuman sulit untuk tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik,

dapat mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Selain itu, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Guna meningkatkan ekstraksi, biasanya digunakan campuran antara etanol dan air dalam berbagai perbandingan tergantung pada bahan yang akan diekstrak (Voight, 1994). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi karena merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar sampai non polar. Etanol memiliki titik didih cukup rendah sehingga mudah diuapkan, inert, dan memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan metanol (Patonah dan Cica, 2014).

2.10.5 Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi antara lain:

1. Ukuran partikel padatan

Untuk meningkatkan kinerja proses ekstraksi baik dari waktu yang diperlukan yang lebih singkat dan hasil ekstrak yang diperoleh dapat lebih besar, diupayakan sampel padatan yang digunakan memiliki luas permukaan yang besar. Luas permukaan yang besar ini dapat dicapai dengan memperkecil ukuran bahan padatan. Semakin luas permukaan padatan maka perpindahan massa ekstraksi akan berlangsung lebih cepat. Pengecilan ukuran padatan ini dapat diusahakan dengan penggerusan atau penekanan pada padatan (Treyball, 1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog, W.H. , 2002).

2. Pelarut

Pelarut yang digunakan dapat murni atau dapat pula mengandung sedikit *solute* sejak awal. Selama proses ekstraksi berlangsung terjadi peningkatan

konsentrasi *solute* dan kecepatan ekstraksi akan menurun karena kemampuan pelarut untuk terus melarutkan *solute* semakin berkurang. Pelarut yang biasa digunakan dapat berupa (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

3. pH

Rentang pH yang digunakan harus disesuaikan dengan kestabilan bahan yang akan diekstrak. Misalnya untuk klorofil, suasana asam dan basa dapat membuat klorofil terhidrolisis menjadi klorofilid (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

4. Porositas dan difusivitas

Perlu diperhatikan apakah struktur bahan padat yang diekstrak berpori atau tidak. Struktur yang berpori dari padatan berarti memungkinkan terjadinya difusi internal *solute* dari permukaan padatan ke pori-pori padatan tersebut. Difusivitas sendiri merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan *solute* berpindah secara difusional. Semakin besar difusivitas bahan padatan maka semakin cepat pula difusi internal yang terjadi dalam padatan tersebut (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

5. Pengadukan

Pengadukan diperlukan untuk meningkatkan difusi *eddy* sehingga perpindahan massa dari permukaan padatan ke pelarut dapat meningkat pula. Pengadukan akan mencegah terbentuknya suspensi atau bahkan endapan serta efektif untuk membentuk suatu lapisan *interphase*. Pengadukan yang tinggi akan meminimalkan tahanan perpindahan masa selama reaksi dan ekstraksi namun

kemudian akan membentuk emulsi atau padatan yang sangat kecil dan sulit diendapkan (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

6. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin lama waktu kontak antara pelarut dan *solute* sehingga perolehan ekstrak akan semakin besar. Namun bila waktu yang dibutuhkan terlalu lama maka secara ekonomis proses ekstraksi tersebut berlangsung dengan tidak efisien (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

7. Rasio zat padat pada pelarut

Jumlah pelarut perlu disesuaikan dengan kebutuhan. Pelarut yang terlalu banyak dapat mengakibatkan pemborosan biaya dalam operasi ekstraksi (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

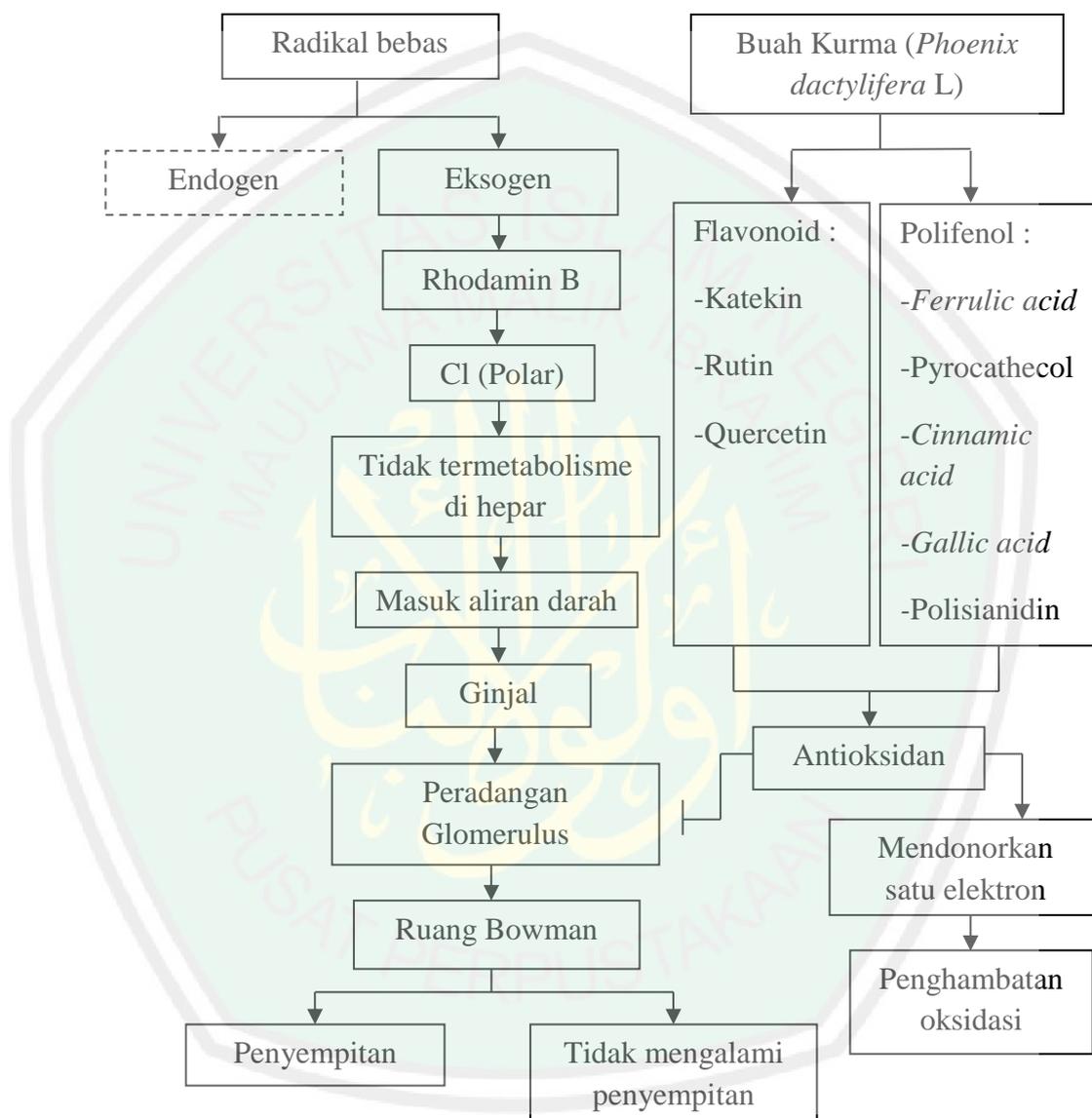
8. Mode operasi

Pemilihan mode operasi dalam pelaksanaan ekstraksi padat-cair perlu dipertimbangkan karena menentukan keberhasilan pemisahan yang dapat berlangsung (Treyball,1980 ; Mc. Cabe, 2005 ; Skoog.W.H. , 2002).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Keterangan :

: Diteliti
 : Tidak diteliti
 → : Berhubungan
 |— : Menghambat

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual

3.2 Uraian Kerangka Konsep

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus. Radikal bebas dapat berasal dari dalam dan luar tubuh manusia, radikal bebas yang berasal dari dalam tubuh akibat reaksi autooksidasi, oksidasi enzimatik, dan *respiratory burst*. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh berasal dari asap rokok, polusi udaram, zat-zat kimia, obat-obatan, hasil samping pengolahan makanan (Wahdaningsih, 2011).

Rhodamin B merupakan salah satu radikal bebas yang berasal dari luar tubuh (eksogen). Rhodamin B berbahaya jika dikonsumsi dalam jumlah banyak dengan jangka waktu yang panjang, karena rhodamin B adalah tekstil yang disalahgunakan sebagai pewarna makanan (Djarismawati dan Naingolan, 2004). Rhodamin B sendiri terdapat ikatan dengan klorin (Cl) dimana senyawa klorin ini merupakan senyawa anorganik yang reaktif juga berbahaya. Klorin sangat berbahaya jika dikonsumsi karena merupakan senyawa radikal (senyawa yang tidak stabil) (Anjasmara dkk, 2013). Sehingga rhodamin B tidak dapat termetabolisme di hepar dan masuk mengikuti aliran darah. Selanjutnya aliran darah ini menuju ke sistem ekskresi yaitu ginjal untuk dikeluarkan dari dalam tubuh melalui glomerulus. Glomerulus berfungsi sebagai tempat filtrasi yang terdiri dari untaian-untaian saringan, pelindung glomerulus yaitu kapsula bowman (Mayori dkk, 2013).

Bahan toksik dalam hal ini rhodamin B akan mempengaruhi daya filtrasi glomerulus, sehingga daya saring menjadi berkurang. Kerusakan ginjal akibat rhodamin B dapat terlihat dari adanya peradangan glomerulus yang menyebabkan penyempitan pada ruang bowman. Ruang bowman merupakan ruang yang berada diantara glomerulus dengan kapsula bowman (Mayori dkk, 2013). Radikal bebas dapat ditangani oleh antioksidan seperti kurma yang merupakan antioksidan alami.

Buah kurma mengandung senyawa antioksidan, yaitu senyawa fenolik seperti flavonoid (Soebahar dkk, 2015). Aktivitas antioksidan pada buah kurma disebabkan adanya senyawa polifenol. Senyawa polifenol yang kebanyakan terdapat dalam daging buah matang (*tamr*) adalah *polisianidin* (95 % dari total *polifenol*). Fenolik (kandungan pirokatekol dan asam galat masing-masing adalah 6,2 dan 2,906 $\mu\text{g} / \text{mg}$) (Bouhlali dkk, 2017). Buah kurma juga mengandung senyawa *cinnamic acid*, *p-coumaric* dan *ferulic* sebagai antioksidan (Mansouri dkk, 2005). Aktivitas antioksidan dapat dikaitkan dengan keberadaan vitamin C (kandungan asam askorbat 0,66 $\mu\text{g} / \text{mg}$) dan senyawa flavonoid (4,79 $\mu\text{g} / \text{mg}$). Golongan senyawa flavonoid seperti katekin ($r = 0.96$), dan rutin ($r = 0.74$) pada ekstrak air (Saleh dkk, 2011).

Mekanisme antioksidan flavonoid dan polifenol pada buah kurma dalam menangkal radikal bebas yaitu dengan cara mendonorkan satu elektron ke radikal bebas dan membentuk kelat dengan logam. Sehingga dapat menghambat reaksi oksidasi akibat zat toksik (rhodamin B) yang akan memperbaiki peradangan glomerulus (Marliana, 2007).

3.3 Hipotesis Penelitian

H0 = Ekstrak buah kurma tidak memberikan pengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.

H1 = Ekstrak buah kurma memberikan pengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true eksperimental* dalam skala laboratorium yang menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test-only control group design*. Dilakukan untuk mempelajari tentang korelasi sebab akibat dengan cara memberikan suatu perlakuan pada hewan coba sebagai subjek penelitian, kemudian melihat apa efek dari perlakuan tersebut (Notoadmodjo, 2012). Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa mencit BALB/c betina dengan 5 kelompok yaitu masing-masing kelompok dipapar dengan radikal bebas (rhodamin B), kemudian diberikan ekstrak buah kurma. Setelah dilakukan perlakuan kemudian mencit betina diterminasi dan selanjutnya dilakukan pengukuran variabel tergantung pada masing-masing kelompok dan dibandingkan.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan pada bulan Januari sampai April 2019 yang bertempat di :

1. Laboratorium Biomed-Farmakokinetik, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang untuk pengadaptasian mencit selama 1 minggu, kemudian diberi perlakuan.
2. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang untuk pembuatan preparat ginjal.

3. Laboratorium Botani, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang untuk pengamatan struktur histopatologi glomerulus.

4. Laboratorium Fitokimia, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang untuk pembuatan ekstrak buah kurma.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah keseluruhan objek yang diteliti (Murti, 2003). Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit.

4.3.2 Cara Pengambilan Sampel

Mencit betina galur BALB/c dipilih karena penanganannya yang mudah, mudah diperoleh, harganya terjangkau. Jenis kelamin betina dipilih karena mudah terpapar zat toksik, hal ini dikarenakan mencit betina mudah mengalami perubahan hormonal pada masa siklus estrus hamil dan menyusui dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi psikologi mencit (Suhendi dkk, 2011). Estrogen meningkatkan imunitas humoral, beberapa kondisi fisiologis, patologis dan terapeutik dapat mengubah kadar estrogen seperti menstruasi, menopause, penuaan dan terapi pengganti hormone yang dapat menginduksi perubahan imunitas. Perubahan sistem imun terjadi berdasarkan fase siklus menstruasi yang berhubungan dengan pengeluaran sel NK (*Natural Killer*). Perubahan respon imun terjadi ketika fase folikular. Selama periode pre ovulasi terjadi penurunan aktivitas sitolitik sel NK, dan selama fase luteal terjadi perubahan respon imun

seluler terhadap humoral (Gameiroa dkk, 2010). Berat badan yang digunakan 25-30 gram diharapkan semakin besar mencit maka organ glomerulusnya lebih besar sehingga mudah diamati.

4.3.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah sebagian atau seluruh anggota yang diambil dari seluruh objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Notoatmodjo, 2003). Besar sampel yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federrer (1991) dimana t adalah jumlah kelompok perlakuan dan n adalah nilai sampel yang dicari pada setiap kelompok, perhitungannya adalah sebagai berikut :

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

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

$$(4)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Jumlah sampel yang digunakan yaitu 25 ekor mencit betina BALB/c. Tahap selanjutnya dilakukan skrining dengan kriteria sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi

- Mencit betina
- Usia : 3-4 bulan
- Berat Badan : 25-30 gram
- Mencit dalam keadaan sehat
- Tidak terlihat kelainan pada anatomi secara mikroskopis

b. Kriteria Eksklusi

- Mencit sakit dan terlihat tidak aktif
- Terdapat kelainan anatomi secara mikroskopis
- Mencit hamil dan menyusui

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas : Variabel yang menyebabkan atau mempengaruhi yaitu faktor faktor yang diukur, dimanipulasi atau dipilih oleh peneliti untuk menentukan hubungan antara fenomena yang diamati (Sugeng, 2007).

Variabel bebas : Dosis ekstrak buah kurma (*Phoenix dactilyfera* L.)

b. Variabel Tergantung : Variabel tergantung adalah faktor-faktor yang diamati dan diukur untuk menentukan adanya pengaruh variabel bebas, yaitu faktor yang muncul atau tidak muncul (Sugeng, 2007).

Variabel Tergantung : Lebar ruang bowman mencit

c. Variabel Kendali : Variabel kendali adalah variabel yang perlu di kendalikan, dipertahankan tetap, atau diacak sedemikian rupa sehingga pengaruhnya dinetralisir, dikeluarkan atau disamakan bagi semua kondisi (Sugeng, 2007).

Variabel Kendali : Dosis rhodamin B

4.4.2 Definisi Operasional

Tabel 4.1. Definisi Operasional

No.	Definisi Operasional	Skala
1.	<p>Ekstrak buah kurma (<i>Phoenix dactylifera</i> L.)</p> <p>Buah kurma yang digunakan adalah buah kurma matang yang diperoleh dari toko pusat oleh-oleh di Kampung Arab, Malang, Jawa Timur. Ekstrak buah kurma (<i>P. dactylifera</i> L) diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak kurma diberikan secara peroral pada mencit BALB/c dengan dosis bertingkat 1,75 3,5, 7,00 mg/25gBB sesuai kelompoknya (Dewi, 2015).</p>	Rasio
2.	<p>Lebar ruang bowman</p> <p>Diamati histopatologi glomerulus mencit pada lebar ruang bowman menggunakan optilab, pengukuran lebar ruang bowman diukur mulai dari lapis visceral sampai lapis parietal kapsula bowman, diambil 4 lapang pandang kemudian di rata-rata. Ruang bowman adalah ruang yang terletak diantara lapis parietal dengan lapis visceral.</p>	Rasio
3.	<p>Rhodamin B</p> <p>Rhodamin B adalah zat pewarna sintetis yang biasa digunakan untuk pewarna tekstil, namun sering disalahgunakan sebagai pewarna pada makanan. Rhodamin B pada penelitian ini dilarutkan dengan aquades, selanjutnya diberikan pada mencit betina galur BALB/c secara peroral dengan dosis 0,08 mg/25gBB (Roosdiana, 2017). Pemberian dosis dilakukan rutin selama 15 hari (Mayori dkk, 2013).</p>	Rasio
4.	<p>Vitamin C</p> <p>Vitamin C adalah makanan penting antioksidan dan secara signifikan menurunkan efek samping spesies reaktif seperti radikal bebas. Vitamin C dilarutkan dengan aquades, kemudian diberikan pada mencit betina galur BALB/c secara peroral dengan dosis 1,3 mg/25gBB (Lukitasari, 2014). Pemberian dilakukan selama 15 hari</p>	Rasio

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

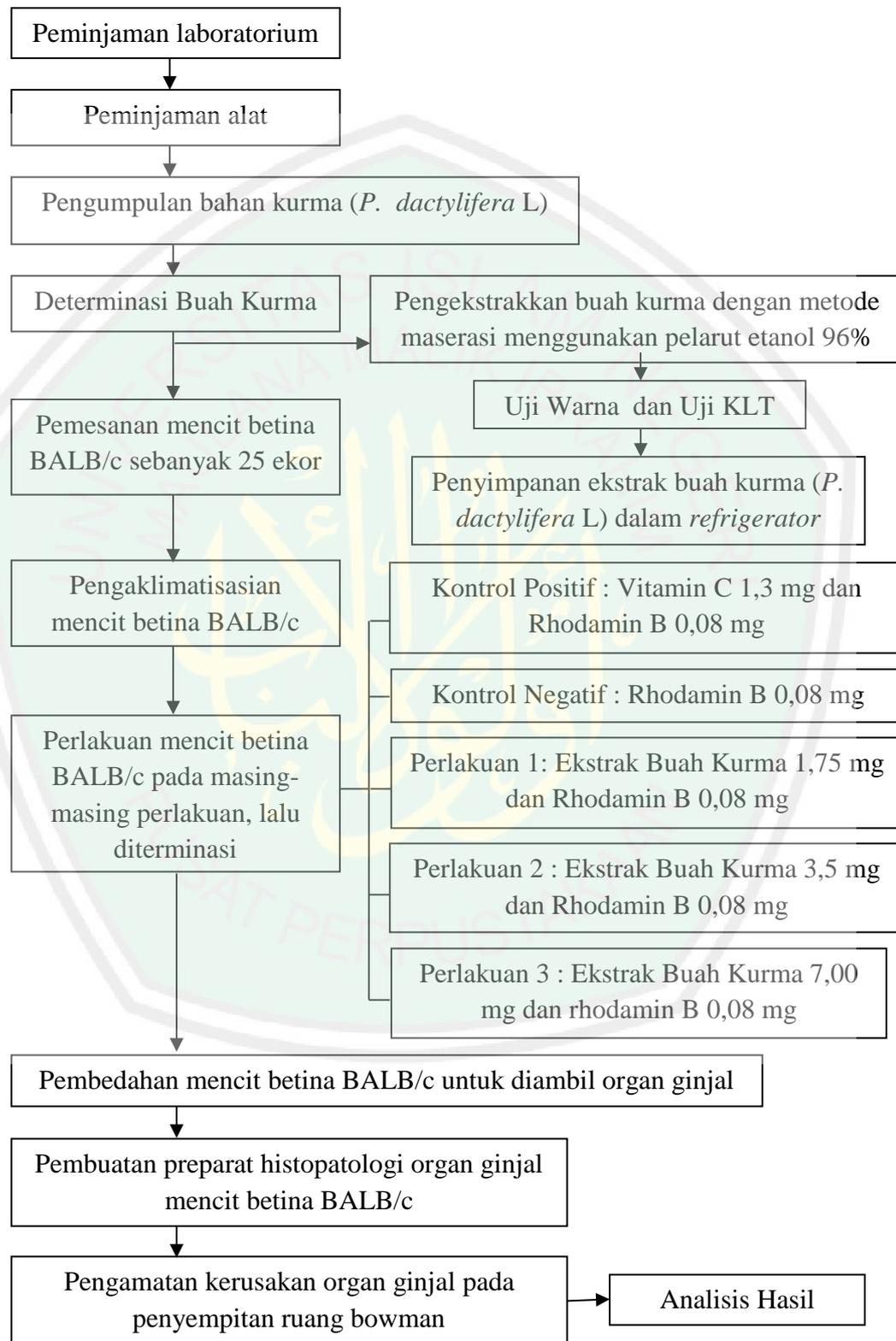
Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang tikus, spuit 3 cc, skalpel / pisau bedah, gunting, botol kaca 60 ml, *object glass*, mortar dan stemper, *beaker glass*, batang pengaduk, labu ukur, neraca analitik, spatula, label, kertas saring, loyang, aluminium foil, sonde mencit, kaki tiga, kasa dan bunsen, kaca arloji, *scan dotslide microscop*, rotary evaporator merek *heidolph instrument*, oven merek *memmert*, *moisture content analyzer* merk *metteler toledo*.

4.5.2 Bahan Penelitian

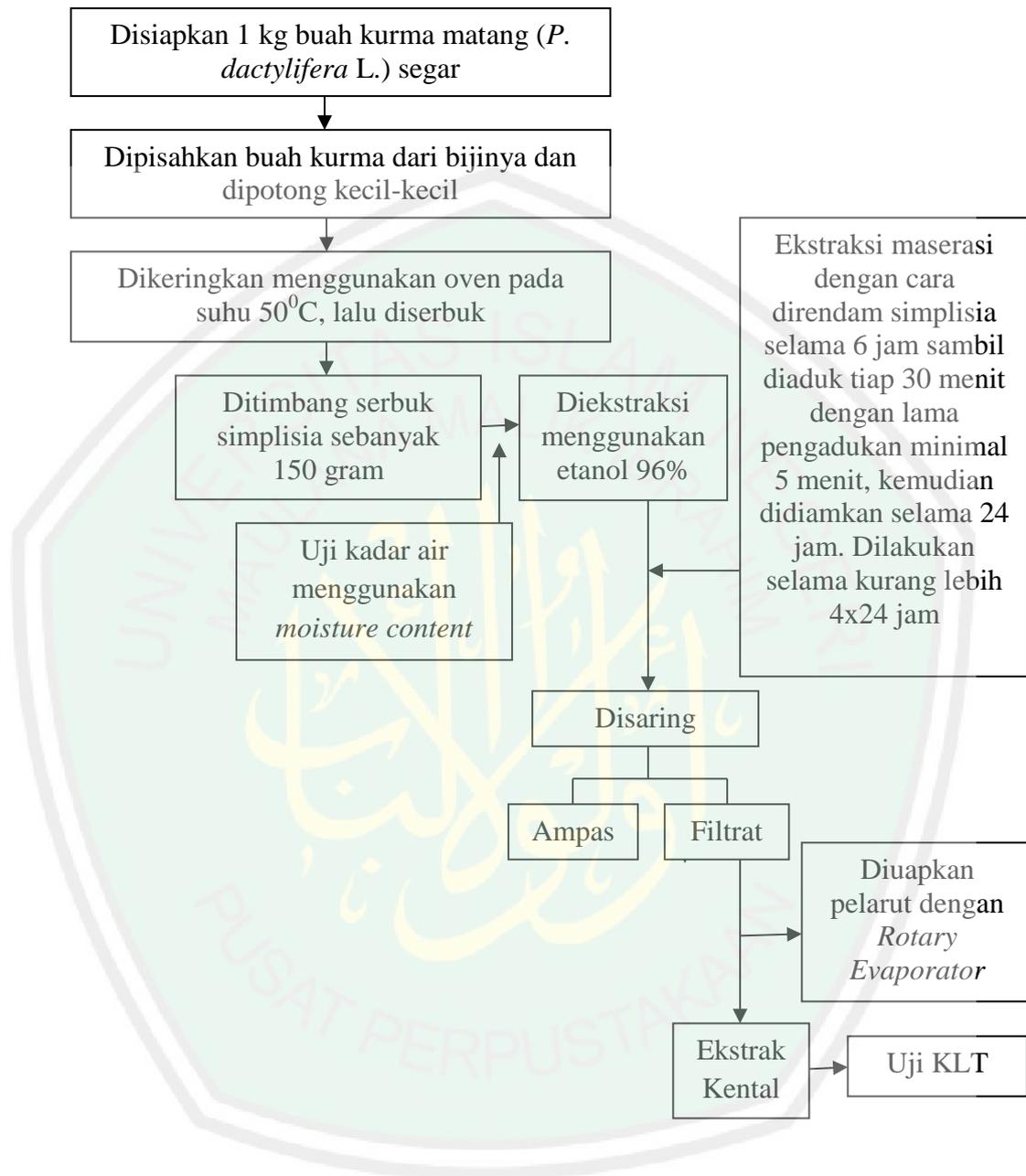
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina berumur 3-4 bulan, rhodamin B (*Tokyo Chemical Industry CO.,LTD.*), buah kurma (malang), vitamin C (*Tokyo Chemical Industry CO.,LTD.*), etanol 96%, aquadest, CMC Na (10 g), pakan mencit berjenis Br 1, air mineral merek *Cleo*, formalin 10%, kloroform, infus NS, tube organ, butanol, etil asetat, kloroform, FeCl_3 , HCl , n-heksan, NaCl , gelatin, H_2SO_4

4.6 Prosedur Penelitian

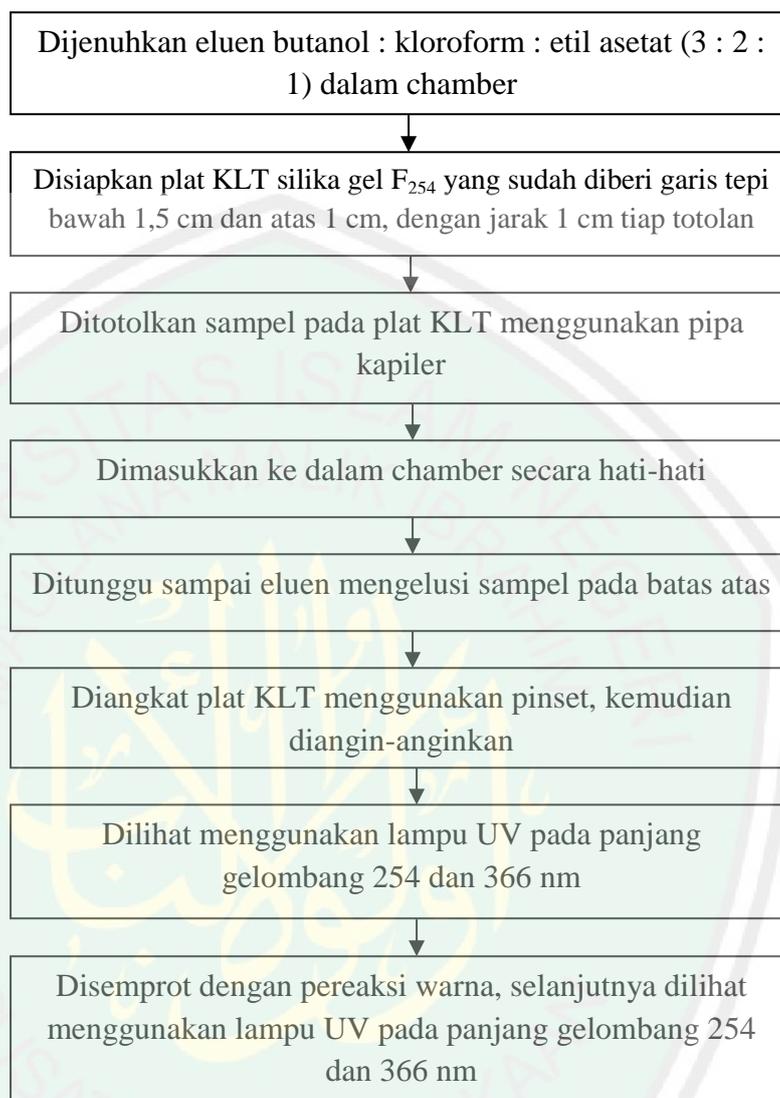
4.6.1 Alur Penelitian



4.6.2 Skema Kerja Proses Ekstraksi



4.6.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis



4.6.4 Perlakuan

- Mencit diaklimatisasi selama 1 minggu di Laboratorium dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.
- Setiap kelompok diberi label kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3).

- c. Perlakuan kontrol positif (K+) yaitu mencit betina galur BALB/c diberikan rhodamin B dengan dosis 0,08 mg/25gBB dan vitamin C dengan dosis 1,3 mg/25gBB secara peroral, diberikan rutin selama 15 hari.
- d. Perlakuan kontrol negatif (K-) yaitu mencit betina galur BALB/c diberikan rhodamin B secara peroral dengan dosis 0,08 mg/hari, diberikan rutin selama 15 hari.
- e. Perlakuan 1 (P1) yaitu mencit betina galur BALB/c diberikan rhodamin B dengan 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah kurma dengan dosis 1,75 mg/25gBB secara peroral, pemberian dilakukan rutin selama 15 hari.
- f. Perlakuan 2 (P2) yaitu mencit betina galur BALB/c diberikan rhodamin B dengan dosis 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah kurma dengan dosis 3,5 mg/25gBB secara peroral, pemberian dilakukan rutin selama 15 hari.
- g. Perlakuan 3 (P3) yaitu mencit betina galur BALB/c diberikan rhodamin B dengan dosis 0,08 mg/25gBB dan ekstrak buah kurma dengan dosis 7,00 mg/hari secara peroral, pemberian dilakukan rutin selama 15 hari.
- h. Setelah dilakukan perlakuan selama 15 hari, mencit betina galur BALB/c selanjutnya dilakukan diterminasi.
- i. Dilakukan pembedahan mencit betina galur BALB/c untuk diambil organ ginjal, dibuat prepat ginjal bagian glomerulus
- j. Dilakukan pengamatan pada histopatologi glomerulus bagian ruang bowman dengan cara mengukur penyempitan ruang bowman dengan 4 lapang pandang menggunakan *software image raster*, selanjutnya dilakukan analisis data.

4.7 Analisis Data

Analisis statistik untuk mengolah data yang diperoleh menggunakan program pengolahan data dengan jenis bivariat. Analisis bivariat adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung dengan menggunakan uji statistik. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Uji normalitas dan homogenitas data

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui sebaran distribusi suatu data apakah normal atau tidak. Uji normalitas data yang digunakan berupa uji *Shapiro-Wilk* dikarenakan besar sampel ≤ 50 (25 sampel). Distribusi normal baku adalah data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk p dan diasumsikan normal. Jika nilainya di atas 0,05 maka distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normalitas, dan jika nilainya di bawah 0,05 maka diinterpretasikan sebagai tidak normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas berupa *Levene Test* untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak. Jika nilainya di atas 0,05 maka homogenitas data dinyatakan memenuhi asumsi homogen, dan jika nilainya di bawah 0,05 maka diinterpretasikan sebagai tidak homogen.

2. Uji Parametrik

Uji parametrik ini dilakukan untuk menguji perbedaan pengaruh terhadap kelompok yang telah dipapar rhodamin B dengan pemberian ekstrak buah kurma terhadap histologi glomerulus dengan pemberian vitamin C. Uji *one way analysis of variance* (one way ANOVA) dilakukan karena penelitian ini berupa analisis

komparatif numerik tidak berpasangan > 2 kelompok. Bila data yang diperoleh tidak memenuhi syarat uji parametrik, maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Selanjutnya dilakukan uji data menggunakan bantuan aplikasi SPSS 24. SPSS merupakan aplikasi yang digunakan untuk menguji data statistik dari hasil peningkatan dosis ekstrak buah kurma. Analisis selanjutnya dilakukan uji Post Hoc dengan fungsi *Tukey*.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah kurma (*P. dactylifera*) terhadap glomerulus mencit yang telah dipapar rhodamin B. Ekstrak buah kurma diberikan secara peroral dengan variasi dosis 1,75 mg/25gBB, 3,5 mg/25gBB, 7,00 mg/25gBB perhari. Pengaruh pemberian ekstrak buah kurma diamati pada glomerulus mencit dengan mengukur lebar ruang bowman pada 4 lapang pandang. Indikasi kerusakan glomerulus dapat dilihat dari penyempitan pada ruang bowman yang disebabkan karena adanya zat kimia yang masuk ke dalam tubuh. Glomerulus dapat dikatakan rusak apabila proses filtrasi yang terjadi di dalam tubuh terganggu, yang disebabkan oleh penumpukan zat asing yang berbahaya bagi tubuh karena tidak dapat dieksresikan.

5.1 Determinasi Tanaman Kurma

Tanaman kurma yang akan digunakan sebelumnya akan dilakukan determinasi terlebih dahulu. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian sudah sesuai dengan tanaman yang diinginkan. Determinasi tanaman kurma dilakukan di UPT Materia Medica Batu, bagian tanaman yang di determinasi yaitu buah dari tanaman kurma. Hasil kebenaran determinasi dibuktikan dengan diterbitkannya surat dengan nomor 074/ 374A / 102.7/ 2018 oleh UPT Materia Medica Kota Batu. Hasil dari determinasi yaitu spesies dari tanaman kurma ini adalah *Phoenix*

dactylifera L. dengan kandungan kimia pada buahnya seperti antioksidan, karotenoid, mineral, vitamin dan fitonutrient.

5.2 Ekstraksi Buah Kurma

Buah kurma yang digunakan pada penelitian ini adalah buah kurma matang yang diperoleh dari toko pusat oleh-oleh di Kampung Arab, Malang. Jawa Timur. Buah kurma akan dibuat dalam bentuk ekstrak. Tujuan dibuat dalam bentuk ekstrak agar senyawa-senyawa aktif seperti flavonoid dan polifenol yang terdapat di dalam buah kurma dapat tertarik ke dalam pelarut. Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia, prinsip ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka yang kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Ansel, 2008).

Menurut Sudjaji (1986) pemilihan metode ekstraksi juga sangat penting untuk mencapai hasil maksimal yang diinginkan. Zat aktif dalam simplisia mempunyai karakteristik masing-masing seperti zat yang tahan pada pemanasan dan yang tidak tahan pemanasan. Namun flavonoid dan polifenol yang terkandung dalam buah kurma merupakan zat yang tidak tahan pada pemanasan, maka digunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Maserasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara perendaman selama 4 hari, apabila pelarut sudah jenuh dilakukan pergantian pelarut sambil diaduk sesekali. Hal ini didasarkan pada prinsip maserasi yaitu pencapaian keseimbangan konsentrasi, keseimbangan ini akan berhenti setelah jenuh yang dapat dikatakan proses ekstraksi selesai.

Proses ekstraksi buah kurma yang pertama dihilangkan biji dari buahnya, kemudian di potong tipis memanjang dengan lebar 1-2 cm. Kemudian diletakkan secara rapi di atas loyang, lalu dimasukkan ke dalam oven selama 5 hari dengan suhu 50⁰C. Pemilihan suhu ini sesuai dengan Pathira dan Fereeidon (2005) yang menyebutkan bahwa senyawa aktif terutama jenis fenolik akan rusak bila dipanaskan pada suhu melebihi 80⁰C, karena apabila melebihi suhu tersebut maka senyawa akan mengalami perubahan struktur. Kemudian diambil buah kurma yang sudah kering untuk dilakukan penyerbukan. Penyerbukan ini dilakukan untuk memperkecil partikel agar luas permukaan lebih luas sehingga pelarut lebih mudah masuk ke dalam serbuk untuk menarik senyawa. Setelah terbentuk serbuk, selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara perendaman serbuk simplisia pada pelarut etanol 96% selama 4x24 jam dengan sesekali diaduk. Pelarut yang digunakan diganti apabila pelarut sudah dalam keadaan jenuh, telah selesainya proses ekstraksi ini ditandai dengan berubahnya warna maserat menjadi bening. Warna maserat ini dikarenakan telah habisnya senyawa yang dapat ditarik pada buah kurma. Alasan pemilihan pelarut etanol 96% karena dapat menarik senyawa aktif yang bersifat polar sampai non polar, seperti senyawa pada buah kurma yaitu flavonoid dan polifenol, sehingga cocok untuk pelarut pada proses ekstraksi dan banyak digunakan pada industri makanan atau minuman karena memiliki toksisitas yang rendah. Alasan lain yang disebutkan Voight (1994) dalam penggunaan pelarut etanol seperti inert, kuman sulit tumbuh pada etanol dengan konsentrasi 20% ke atas, dapat mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim.



Gambar 5.1 Buah Kurma Kering (Dok. Pribadi, 2019)

Setelah proses ekstraksi selesai, kemudian dilakukan pemekatan ekstrak menggunakan *Rotary Evaporator*. Pemekatan ekstrak dilakukan untuk menghilangkan pelarut dari proses ekstraksi dengan cara penguapan dan untuk menekan toksisitas yang dapat ditimbulkan oleh pelarut (Depkes RI, 2000). Prinsip dari *Rotary Evaporator* ini adalah penurunan tekanan uap pada labu alas bulat agar pelarut lebih mudah menguap di bawah titik didihnya, sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak oleh suhu tinggi. Ekstrak buah kurma dipekatkan pada tekanan 175 psi dengan rotasi 70 rpm. Penggunaan tekanan dan rotasi tersebut didasarkan pada pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% yang sudah tertera pada petunjuk *Rotary Evaporator*. Hasil dari pemekatan ekstrak ini yaitu ekstrak kental, yang kemudian dimasukkan ke dalam botol coklat dan disimpan di dalam lemari es. Penyimpanan ini agar ekstrak tidak rusak karena suhu luar dan menghambat proses pertumbuhan jamur.



Gambar 5.2 Ekstrak Buah Kurma (Dok. Pribadi, 2019)

5.3 Uji Warna dan Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

5.3.1 Uji Warna

Uji warna dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam buah kurma. Uji warna yang dilakukan pada penelitian ini ada 2 yaitu uji warna senyawa flavonoid dan senyawa polifenol, karena dari banyak penelitian sebelumnya buah kurma mengandung senyawa antioksidan tersebut.

a. Uji warna flavonoid

Uji warna flavonoid dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol 96% buah kurma (*P. dactylifera*). Sebelum dilakukan uji warna flavonoid terlebih dahulu dipreparasi ekstrak buah kurma untuk memisahkan analit dari zat-zat pengganggu saat diidentifikasi dan untuk memekatkan larutan. Preparasi ekstrak ini dilakukan dengan ditimbang 0,3 gram ekstrak buah kurma kemudian dikocok dengan 3 ml n-heksan dalam tabung reaksi sampai ekstrak tidak berwarna. Tujuan penambahan n-heksan ini yaitu untuk melarutkan senyawa-senyawa non-polar. Selanjutnya dipisahkan residu dengan filtrat, lalu dilarutkan residu dalam 20 ml etanol dan dibagi menjadi 4 ke dalam tabung reaksi, lalu diberi label. Residu dilarutkan dengan etanol untuk mengikat senyawa-senyawa polar yang akan diidentifikasi, karena flavonoid bersifat polar.

Tujuan dilakukan uji wilstater yaitu untuk mengetahui adanya senyawa golongan flavonoid, seperti warna jingga untuk golongan flavon, merah crimson untuk flavonol dan merah tua untuk flavonon (Harborne, 1987). Dilakukan uji

wilstater, yang pertama ekstrak yang sudah dipreparasi ditambahkan dengan 0,5 ml HCl pekat dan 4 potongan magnesium, lalu diamati perubahan warna yang terjadi. Reduksi dengan magnesium dan HCl pekat akan menghasilkan senyawa kompleks merah atau jingga pada flavonol, flavon, flavonon (Marliana, 2006). Setelah itu diencerkan dengan 2 ml aquadest dan ditambahkan 1 ml butanol, lalu diamati perubahan warna yang dibandingkan dengan larutan blanko. Butanol digunakan untuk pembentukan 2 fase. Hasilnya yaitu larutan ekstrak berubah warna menjadi jingga yang mengindikasikan bahwa ekstrak etanol 96% buah kurma mengandung senyawa flavonoid (Maulana dkk, 2016).

b. Uji warna polifenol

Uji warna senyawa polifenol dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa polifenol yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% buah kurma. Langkah pertama yang dilakukan yaitu dilakukan preparasi sampel yaitu ditimbang 0,3 gram ekstrak ditambah dengan 10 ml aquadest panas, lalu diaduk dan dibiarkan sampai temperatur kamar. Setelah dingin, ditambahkan dengan 3-4 tetes NaCl 10%, lalu diaduk dan disaring. Penambahan NaCl 10% bertujuan untuk menghindari positif palsu karena NaCl dapat mengendapkan protein dan menghilangkan pengotor. Kemudian filtrat dibagi menjadi 3 bagian ke dalam tabung reaksi dan diberi label. Selanjutnya ekstrak yang sudah dipreparasi ditambahkan dengan sedikit larutan gelatin dan 5 ml NaCl 10%, lalu diamati perubahannya. Hasil dari penambahan gelatin yaitu tidak terbentuk endapan putih pada ekstrak buah kurma (Muti'ah dkk, 2016)

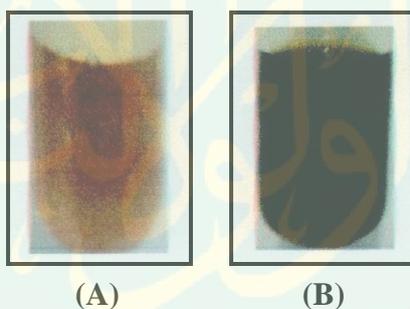
Langkah selanjutnya yaitu uji feriklorida dilakukan dengan cara ekstrak diberi beberapa tetes larutan FeCl_3 , lalu diamati. Penambahan FeCl_3 ini menurut Mamta (2012) digunakan sebagai pereaksi senyawa polifenol, yang ditandai dengan penambah beberapa tetes FeCl_3 akan menghasilkan warna hijau yang intens, ungu, biru atau hitam. Ekstrak berubah warna menjadi biru kehitaman setelah ditambahkan dengan larutan FeCl_3 yang mengindikasikan bahwa ekstrak etanol 96% buah kurma mengandung senyawa polifenol.

Tabel 5.1 Hasil Uji Reaksi Warna Flavonoid dan Polifenol

Golongan Senyawa	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Berwarna kuning
Polifenol	+	Berwarna biru kehitaman

Keterangan :

(+) = mengandung golongan senyawa



Gambar 5.3 Hasil uji reaksi warna (A) Flavonoid, (B) Polifenol.

5.3.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis

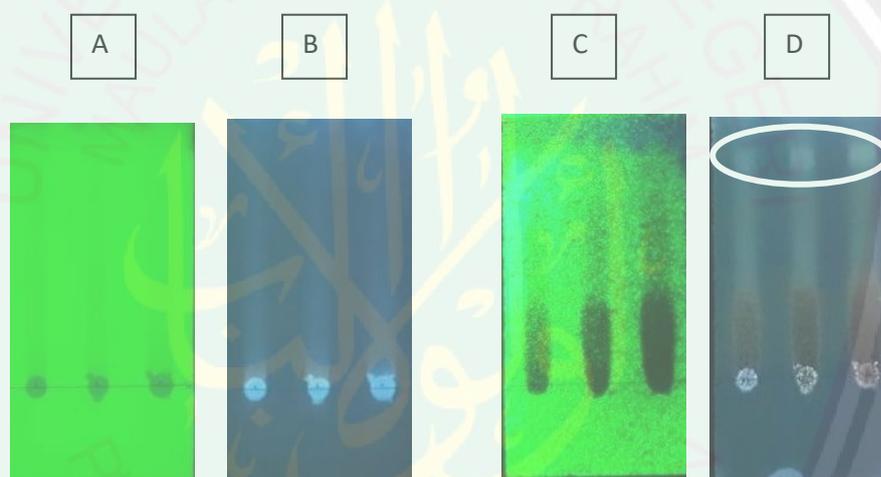
Uji kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa polifenol dan flavonoid dalam ekstrak etanol 96% buah kurma. Prinsip dari uji kromatografi lapis tipis adalah adsorpsi dan partisi dimana adsorpsi merupakan penyerapan pada permukaan, sedangkan partisi adalah penyebaran atau kemampuan suatu zat untuk berpisah ke dalam fase gerak (Dirjen POM, 1986). Fase diam yang digunakan pada penelitian ini yaitu plat silika gel F_{254} dengan

ukuran 1 x 10 cm, tujuan menggunakan plat silika gel F₂₅₄ ini yaitu karena ekstrak buah kurma bersifat polar maka dibutuhkan fase diam yang bersifat non-polar agar dapat mengikat senyawa polar dan dapat berfluoresensi di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Fase gerak yang digunakan yaitu perbandingan antara pelarut polar dengan semi polar. Hal ini bertujuan agar eluen dapat mengelusi analit secara optimal.

Plat KLT disiapkan dengan memberi tanda untuk penotolan yaitu batas bawah 0,5 cm dan batas atas 1 cm. Setelah itu ditotolkan ekstrak yang sudah dipreparasi pada plat KLT dengan pipa kapiler 0,2 µl secara hati-hati agar hasil totolan tidak melebar. Kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak yang sebelumnya sudah dijenuhkan, lalu ditunggu sampai eluen mencapai batas atas. Fase gerak yang digunakan sebagai eluen untuk mengelusi senyawa flavonoid dan polifenol yaitu perbandingan dari beberapa pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda yaitu butanol : kloroform : etil asetat dengan perbandingan 4 : 3 : 1. Penggunaan fase gerak ini berdasarkan hasil dari optimasi yang menunjukkan hasil pemisahan senyawa yang paling baik.

Selanjutnya diambil plat KLT, dikeringkan dan diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hal ini bertujuan untuk mengetahui dan mengidentifikasi noda pada tiap pemisahan dari golongan senyawa flavonoid dan polifenol. Disemprot plat KLT dengan penampak noda H₂SO₄ noda yang terbentuk lebih jelas. Menurut Gandjar (2007) pemilihan H₂SO₄ sebagai penampak noda karena sifatnya sebagai reduktor yang dapat memutuskan ikatan rangkap sampai panjang gelombangnya bertambah dan noda bisa terlihat.

Hal ini dikarenakan H_2SO_4 mempunyai gugus OH yang berfungsi sebagai ausokrom yang dapat menyebabkan pergeseran batokromik. Pergeseran batokromik adalah dimana pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih panjang. Setelah disemprot dengan penampak noda, plat KLT selanjutnya diamati di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, agar noda lebih nampak lagi. Hasil uji KLT adalah terlihat noda warna kuning yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak buah kurma (Latifah, 2015).



Gambar 5.4 Hasil Uji KLT. Fase diam plat silika gel F_{254} dan fase gerak butanol:kloroform:etil asetat (4:3:1). (A) Plat sebelum disemprot pada pengamatan UV 254 nm, (B) sebelum disemprot pada pengamatan UV 366 nm, (C) Sesudah disemprot pada pengamatan UV 254 nm, (D) Setelah disemprot pada pengamatan UV 366 nm.

5.4 Penanganan Hewan Coba

5.4.1 Pemilihan Hewan Coba

Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah mencit yang diperoleh dari Laboratorium Anatomi Fisiologi Manusia, jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang harus

dipilih berdasarkan kriteria inklusi penelitian. Kriteria inklusi ini seperti mencit yang digunakan berjenis kelamin betina, alasan pemilihan ini karena betina mudah terpapar zat toksik, hal ini dikarenakan mencit betina mudah mengalami perubahan hormonal pada masa siklus estrus hamil dan menyusui dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi psikologinya (Suhendi dkk, 2011). Kriteria inklusi selanjutnya berat badan mencit 25-30 gram, mencit dalam kondisi sehat dan tidak terlihat kelainan pada anatomi secara mikroskopis.

5.4.2 Persiapan Hewan Coba

Persiapan hewan coba sebelum digunakan yaitu aklimatisasi. Aklimatisasi merupakan pemeliharaan hewan coba dengan tujuan agar hewan coba dapat beradaptasi terhadap lingkungan penelitian (Hasanah, 2015). Aklimatisasi hewan coba dilakukan di Laboratorium Biomed-Farmakokinetik, jurusan Farmasi, fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang selama 7 hari yang di tempatkan dalam kandang yang sudah disiapkan. Ruangan tempat hewan coba dikontrol pada suhu ruangan antara 23⁰C-27⁰C, selanjutnya hewan coba diberikan makanan *Br1* sebanyak 5 gram/ekor dengan minum merek *cleo* yang diberikan secara *ad libitum*. Setelah proses aklimatisasi selesai kemudian seluruh mencit ditimbang berat badannya untuk penentuan dosis yang akan digunakan. Setelah itu dikelompokkan mencit pada kandang yang sudah diberi label.

Penelitian ini terbagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dosis perlakuan 3 (P3) dengan perlakuan yang berbeda. Mencit pada kelompok K+ diberikan

rhodamin B dengan dosis 0,08 mg/25gBB dan vitamin C pada dosis 1,3 mg/25gBB, sedangkan untuk kelompok K- hanya diberikan rhodamin B dengan dosis yang sama tanpa pemberian antioksidan. Hal ini bertujuan untuk melihat perbedaan antara kelompok K- dengan kelompok lainnya. Mencit untuk kelompok ekstrak buah kurma dibagi menjadi 3 kelompok dengan dosis yang berbeda. Kelompok P1, P2 dan P3 masing-masing diberikan rhodamin B pada dosis yang sama sebelumnya, selanjutnya diberikan ekstrak buah kurma pada P1 dengan dosis 1,75 mg/25gBB, P2 dengan dosis 3,5 mg/25gBB dan untuk P3 diberikan dosis ekstrak buah kurma 7,00 mg/25gBB. Tiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor mencit dengan dilebihkan 2 ekor mencit untuk mengantisipasi hal-hal yang tidak diinginkan. Jadi total keseluruhan mencit sebanyak 35 ekor.

5.4.3 Perlakuan Hewan Coba

A. Pemberian Rhodamin B pada Hewan Coba

Hewan coba terlebih dahulu diinduksi dengan zat radikal bebas yang berasal dari luar tubuh yaitu rhodamin B sebelum dilakukan terapi dengan menggunakan ekstrak buah kurma. Rhodamin B dapat menjadi radikal bebas apabila dikonsumsi secara terus menerus, karena tidak dapat diekskresikan sehingga terjadi penumpukan radikal bebas akibat adanya peroksidasi lipid yang semakin lama jumlahnya akan bertambah. Hal ini dikarenakan rhodamin B merupakan pewarna sintesis yang biasa digunakan untuk mewarnai tekstil, namun banyak disalahgunakan sebagai pewarna makanan khususnya oleh para pedagang makanan. Salah satu dampak dari pengonsumsian rhodamin B secara terus menerus yaitu kerusakan pada ginjal, karena ginjal merupakan organ ekskresi

utama untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik (Guyton dan Hall, 1995). Bahan-bahan yang bersifat toksik seperti rhodamin B yang menyebabkan kerusakan ginjal seperti perubahan struktur dan fungsi ginjal (Mayori dkk, 2013).

Pemberian rhodamin B pada hewan coba dilakukan selama 15 hari dengan dosis 0,08 mg/25gBB. Dosis rhodamin B ini diperoleh dari penelitian Roosdiana (2017) yaitu 22,5 mg/kgBB pada tikus, selanjutnya dikonversikan untuk dosis mencit dikalikan 0,14, hasilnya 0,08mg/25gBB. Pemberian rhodamin B pada hewan coba diberikan dengan cara peroral. Pertama yang dilakukan yaitu menghitung dosis rhodamin B yang akan digunakan, kemudian ditimbang serbuk rhodamin B sebanyak 0,042 g dan dilarutkan dalam aquades sebanyak 17,5 ml. Pemberian rhodamin B dilakukan pada semua kelompok penelitian. Diharapkan dengan pemberian rhodamin B ini akan menimbulkan dampak radikal bebas yang terjadi dalam tubuh khususnya pada organ ginjal. Ciri-ciri fisik hewan coba yang telah diberikan rhodamin B pada kelompok kontrol negatif yaitu hewan coba lemas tidak aktif seperti biasanya.

Mekanisme rhodamin B sebagai radikal bebas yaitu terdapatnya ikatan klorin pada strukturnya yang merupakan senyawa anorganik yang reaktif juga berbahaya. Oleh sebab itu, rhodamin B tidak dapat termetabolisme di hepar dan masuk mengikuti aliran darah yang selanjutnya akan menuju sistem ekskresi melalui glomerulus. Glomerulus berfungsi sebagai tempat filtrasi yang terdiri dari untaian-untaian saringan, pelindung glomerulus yaitu kapsula bowman. Sehingga rhodamin B akan mengurangi daya saring filtrasi glomerulus. Kerusakan ginjal

dapat dilihat dari adanya peradangan glomerulus yang menyebabkan penyempitan pada ruang bowman (Mayori dkk, 2013). Untuk mencegah kerusakan ginjal yaitu dengan antioksidan yang berasal dari buah kurma (Soebahar dkk, 2015). Sesungguhnya hal ini disebutkan dalam hadits shahih riwayat Imam Bukhari, bahwa Rasulullah *shallallahu 'alaihi wa sallam* bersabda

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya : “Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan Dia menurunkan penawarnya (obat)”. (HR. Shahih Al-Bukhari dan Muslim).

Penjelasan dari Hadist tersebut yaitu Allah SWT memberikan suatu penyakit disertai dengan penawarnya yaitu obat. Hal ini memotivasi manusia untuk mencari kesembuhan dibantu dengan pengetahuan yang akan menuntun untuk menemukan suatu obat-obatan yang telah disediakan oleh Allah SWT di alam yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat sebagai pencegah penyakit dan telah digunakan pada zaman nabi yaitu kurma. Hal ini dibuktikan dengan manfaat buah kurma sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas di ginjal yang ditunjukkan dengan pencegahan kerusakan glomerulus pada mencit yang dilihat dari lebar ruang bowman. Sehingga glomerulus dapat memfiltrat kembali secara normal untuk dapat mengeksresikan zat-zat yang tidak dibutuhkan oleh tubuh (Mayori, 2013).

B. Pemberian Ekstrak Buah Kurma (*P. dactylifera*) pada Hewan Coba

Pemberian ekstrak buah kurma pada hewan coba dilakukan selama 15 hari secara berturut-turut dengan dosis bertingkat yaitu kelompok P1 dengan dosis 1,75 mg, P2 pada dosis 3,5 mg, P3 dengan dosis 7,00 mg perhari secara peroral

menggunakan sonde. Dosis yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada Dewi (2015) yaitu 250 dan 1000 mg/kgBB pada tikus, namun pada penelitian ini memilih dosis 1000 mg/kgBB. Kemudian dikonversikan satuannya dari tikus ke mencit yaitu dikalikan 0,14 mg. Dosis hasil konversi yaitu 3,5 mg/25gBB sebagai dosis tengah (n), selanjutnya dibuat tiga variasi dosis yaitu 1,75 mg/25gBB dari $\frac{1}{2}$ dosis (n), 3,5 mg/25gBB yang diperoleh dari dosis (n), dan 7,00mg/25gBB dari dua kali dosis (n). Tujuan dibuat variasi dosis ini yaitu untuk mengetahui dosis yang paling optimal dalam menangkal radikal bebas. Cara pembuatan ekstrak buah kurma yang pertama yaitu dihitung ekstrak buah kurma yang akan digunakan, kemudian ditimbang ekstrak 1, 2, 3 secara berurutan sebanyak 0,919 g, 1,845 g dan 3,675 g, lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker. Setelah itu ekstrak buah kurma dilarutkan dengan larutan CMC Na 0,1% sebanyak 262,5 ml sebagai larutan pendispersi ekstrak. Ekstrak yang sudah jadi dimasukkan ke dalam botol coklat agar tidak terkena kotoran dari lingkungan.

Ekstrak yang sudah siap, kemudian diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan. Tujuan pemberian ekstrak etanol 96% buah kurma diharapkan mampu menangkal radikal bebas yang berasal dari rhodamin B. Kandungan ekstrak buah kurma yang mampu mencegah kerusakan glomerulus agar proses filtrasi tidak terganggu yaitu flavonoid dan polifenol. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Dewi, dkk (2014) yang menyebutkan bahwa flavonoid dan polifenol bertindak sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik, sehingga dapat menangkap

radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak yang nantinya dapat menekan kerusakan glomerulus.

Hewan coba diterminasi pada hari ke-16 dengan cara membius hewan coba menggunakan kloroform agar hewan coba tidak merasa kesakitan saat dibedah. Kemudian hewan coba ditelentangkan pada papan bedah untuk dilakukan pembedahan, pertama dilakukan pemotongan midsagital dan lateral. Setelah tubuh hewan coba sudah terbuka, kemudian diambil ginjal bagian kiri menggunakan gunting dan pinset. Pengambilan ginjal ini harus dilakukan secara hati-hati agar ginjal tidak rusak, lalu dicuci dengan larutan NS (*Sodium Chloride*) untuk menghilangkan darah dan kotoran yang menempel pada ginjal agar tidak mempengaruhi hasil pengamatan. Ginjal bersih, dimasukkan ke dalam tube organ yang berisi formalin 10% dan sudah diberi label, yang kemudian dilakukan pembuatan preparat di Laboratorium Patologi Anatomi, Universitas Brawijaya Malang. Penggunaan formalin ini agar organ tidak rusak dan tidak busuk.

5.5 Pengamatan Glomerulus pada Ruang Bowman Hewan Coba

Pengamatan glomerulus pada hewan coba dilakukan untuk mengetahui pengaruh antioksidan setelah pemberian ekstrak buah kurma terhadap perubahan lebar ruang bowman. Pengamatan ini dilakukan secara histopatologi dengan menggunakan *scan dotslide microscop*. Setelah dilakukan pengamatan, selanjutnya dilakukan pengukuran pada lebar ruang bowman, karena menurut penelitian yang dilakukan Mayori dkk (2013) indikasi kerusakan pada glomerulus ditunjukkan dengan penyempitan ruang bowman. Pengukuran lebar ruang bowman menggunakan *software image raster 3.0* pada perbesaran 40x dalam 4

lapang pandang dengan satuan *micrometer*. Selanjutnya hasil pengukuran dari masing-masing sampel di jumlah dan di rata-rata.

Tabel 5.2 Hasil Rerata Pengukuran Lebar Ruang Bowman pada Masing-Masing Kelompok Penelitian

Kontrol Positif					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	23.31	18.28	18.81	22.63	20.76
2	21.49	19.55	17.35	21.91	20.08
3	23.94	26.94	26.94	22.61	25.11
4	26.48	23.42	22.11	26.79	24.70
5	18.26	19.34	20.23	18.99	19.21
Total Rata-rata					21.97
Kontrol Negatif					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	7.70	8.60	5.09	4.83	6.56
2	5.14	4.14	5.33	3.64	4.56
3	5.01	8.00	5.49	5.24	5.94
4	4.14	4.30	4.90	4.49	4.46
5	5.60	6.09	4.99	2.09	4.69
Total Rata-rata					5.24
Dosis 1,75 mg					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	14.56	16.21	19.29	19.82	17.47
2	14.45	17.28	15.96	15.76	15.86
3	15.53	19.78	18.86	18.00	18.04
4	15.07	11.66	16.86	12.29	13.97
5	17.32	18.70	15.84	10.34	15.55
Total Rata-rata					16.18

Dosis 3,5 mg					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	19.43	19.70	18.29	23.44	20.22
2	20.56	16.56	24.77	11.78	18.42
3	19.75	20.90	17.80	18.07	19.13
4	22.27	17.42	14.46	14.68	17.21
5	18.29	18.04	16.68	23.81	19.21
Total Rata-rata					18.84
Dosis 7,00 mg					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	28.01	20.92	21.26	18.02	22.05
2	23.12	19.89	21.34	17.02	20.34
3	15.39	22.21	19.25	21.98	19.71
4	15.72	15.09	14.40	17.72	15.73
5	25.66	18.96	26.92	29.19	25.18
Total Rata-rata					20.60

5.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini merupakan analisis data statistik yang diperoleh menggunakan program pengolahan data dengan jenis bivariat. Analisis bivariat adalah analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung dengan menggunakan uji statistik. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan metode *Levene Test*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji parametrik menggunakan *One Way Analysis of Variance (One Way Annova)*. Kemudian dilakukan uji lanjutan *Post-Hoc* menggunakan fungsi *Tukey*.

5.6.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui sebaran distribusi suatu data normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-Wilk*, hal ini dikarenakan besar sampel yang digunakan kurang dari 50 yaitu 25 sampel. Hipotesis dari data ditentukan oleh signifikansi yang diperoleh. Hasil dari uji normalitas Shapiro-Wilk pada tabel 5.1 :

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas (*Shapiro-Wilk*)

Kelompok Penelitian	Signifikansi	Keterangan
Kontrol Positif	0,184	Normal
Kontrol Negatif	0,137	Normal
Perlakuan 1	0,776	Normal
Perlakuan 2	0,864	Normal
Perlakuan 3	0,952	Normal

Berdasarkan tabel 5.1 hasil uji normalitas di atas dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi pada masing-masing kelompok $p > 0,05$.

5.6.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak. Hasil dari uji homogenitas yaitu dilihat dari nilai p sebesar 0,076. Hipotesis dari data dapat dilihat dari nilai signifikansi yang didapatkan.

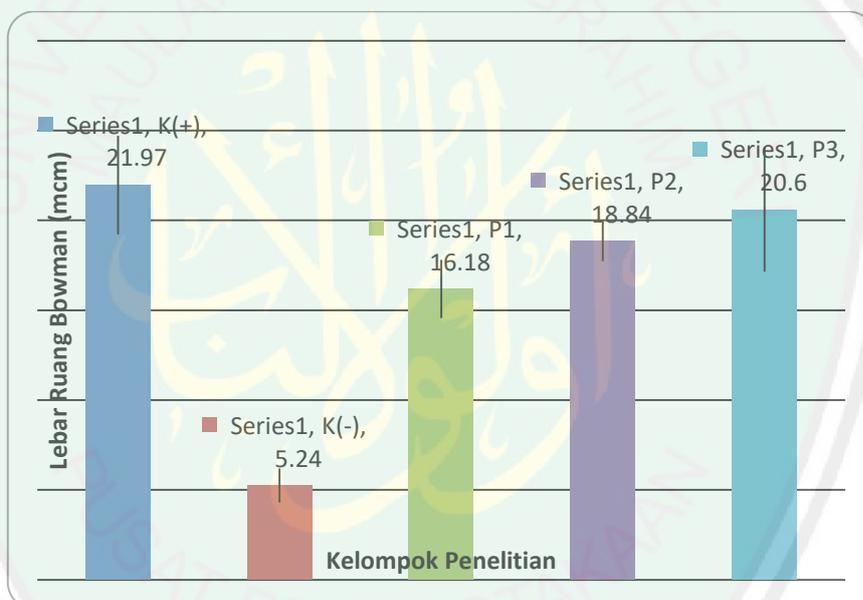
Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas

<i>Levene Test</i>	Signifikansi
2.488	0,076

Berdasarkan hasil uji homogenitas metode *Levene Test* menunjukkan bahwa data pada variabel penelitian dalam data memiliki ragam yang homogen karena nilai $p > 0,05$.

5.6.3 Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Kurma dalam Menangkal Radikal Bebas dari Rhodamin B

Pengamatan glomerulus pada hewan coba dilakukan untuk mengetahui pengaruh antioksidan setelah pemberian ekstrak buah kurma terhadap perubahan lebar ruang bowman.

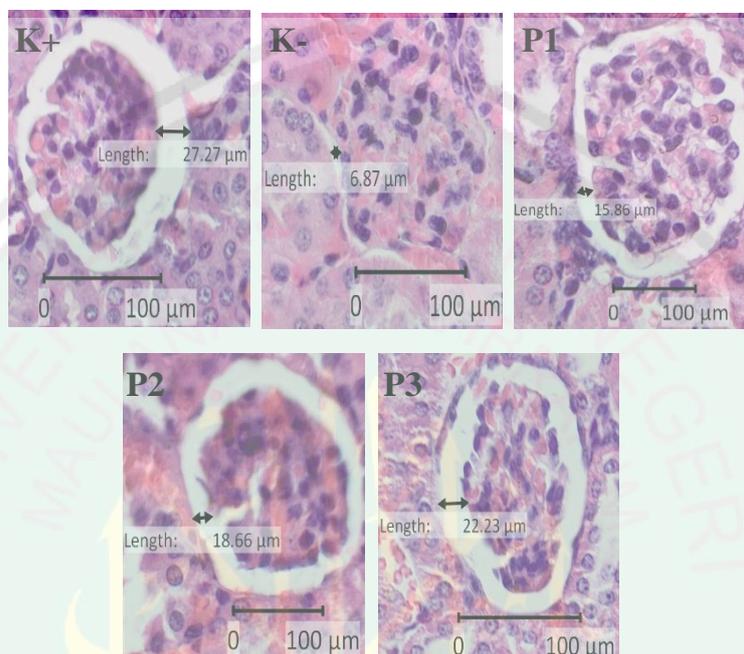


Gambar 5.5 Hasil rerata lebar ruang bowman hewan coba pada masing-masing kelompok penelitian.

Berdasarkan hasil grafik di atas lebar ruang bowman yang paling besar yaitu pada kelompok kontrol positif yang diberikan antioksidan dari vitamin C dan radikal bebas dari rhodamin B, sedangkan ruang bowman yang paling kecil pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberikan rhodamin B tanpa ada pemberian antioksidan. Namun hasil pada kelompok perlakuan yang paling lebar ukuran

ruang bowmannya yaitu pada kelompok perlakuan 3 dengan pemberian dosis ekstrak buah kurma 7,00 mg/25gBB.

Hasil gambaran dari pengukuran ruang bowman sebagai berikut :



Gambar 5.6 Pewarnaan HE glomerulus perbesaran 40x. (K+) Kontrol Positif, (K-) Kontrol Negatif, (P1) Kurma 1,75 mg/25gBB, (P2) Kurma 3,5 mg/25gBB, (P3) Kurma 7,00 mg/25gBB. Tanda (↔) menunjukkan lebar ruang bowman.

Hasil dari pengukuran lebar ruang bowman berdasarkan gambar di atas terdapat perbedaan lebar ruang bowman pada setiap kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol positif memiliki lebar ruang bowman yang paling besar yang ditunjukkan dengan terlihat jelas jarak pada ruang bowman, hal ini dikarenakan kelompok kontrol positif diberikan vitamin C yang sudah terbukti baik dalam menangkal radikal bebas yaitu rhodamin B. Kemudian pada kelompok kontrol negatif terlihat perbedaan yang sangat signifikan dengan kelompok kontrol positif, hal ini terjadi karena kelompok ini hanya diinduksi rhodamin B tanpa diberikan senyawa

antioksidan sebagai penangkal radikal bebasnya. Penggunaan kelompok K- ini bertujuan sebagai kelompok untuk membandingkan dengan kelompok lain yang sudah diberikan ekstrak buah kurma.

Hasil ini juga berbeda dengan kelompok yang diberikan ekstrak buah kurma dengan dosis yang berbeda-beda yang bertujuan untuk mengetahui dosis optimal dari ekstrak buah kurma dalam menangkal radikal bebas. Pada hasil pengamatan kelompok P1 ekstrak buah kurma menunjukkan ruang bowman sedikit lebih lebar dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, yang menunjukkan pengaruh antioksidannya kecil dalam menangkal radikal bebas. Kelompok P2 hasilnya juga baik, karena terlihatnya ruang bowman yang jaraknya lebih lebar dari kelompok P1. Dan yang terakhir dari hasil kelompok dosis yang paling tinggi yaitu dosis 7,00 mg/25gBB terlihat sangat jelas ruang bowman yang paling lebar daripada kelompok P1 dan P2 dan hampir mendekati dari kelompok kontrol positif.

Syarat untuk dilakukan uji parametrik yaitu distribusi data normal dan varian data homogen. Dilihat dari hasil uji normalitas dan homogenitas telah memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik menggunakan *One way Annona*.

Hasil dari uji *One Way Annona* dapat dilihat pada tabel 5.3 sebagai berikut :

Tabel 5.3 Hasil Uji *One Way Annona*

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Signifikansi
Between Group	895,298	4	223,825	46,296	0,000
Within Group	96, 693	20	4,835		
Total	991, 991	24			

Berdasarkan hasil uji *One Way Annova* diperoleh nilai signifikansi 0,000 yang diasumsikan sebagai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat minimal ada dua kelompok yang memiliki beda signifikan pada ekstrak etanol 96% buah kurma terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.

Kemudian dilakukan uji lanjutan *Post-Hoc Test* untuk mengetahui kelompok yang memiliki beda signifikan. Berikut adalah hasil dari *Post-Hoc Test* menggunakan fungsi *Tukey* seperti pada tabel 5.4 :

Tabel 5.4 Hasil *Post-Hoc Test* dengan fungsi *Tukey*

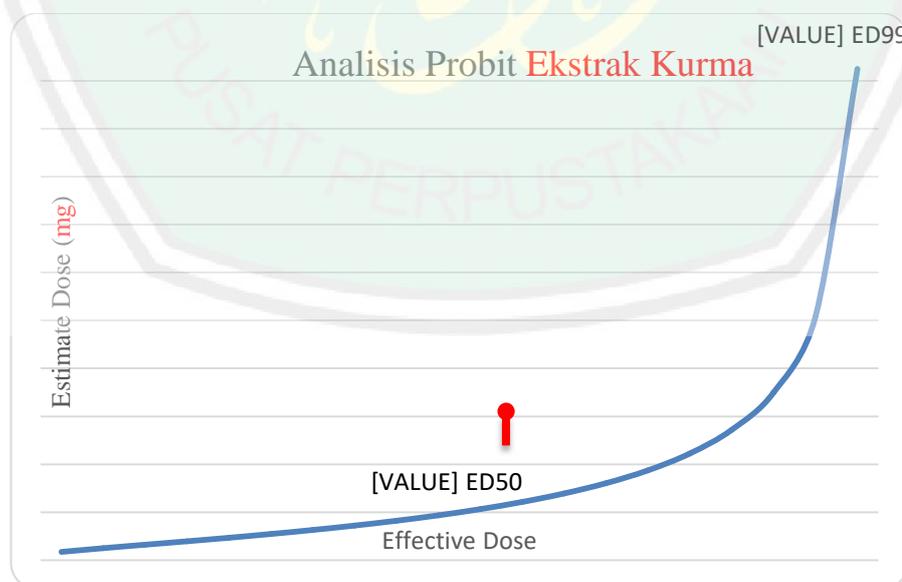
Kelompok Penelitian	Kontrol +	Kontrol -	Dosis 1,75 mg	Dosis 3,5 mg	Dosis 7,00 mg
Kontrol +		0,000*	0,004*	0,201	0,859
Kontrol -	0,000*		0,000*	0,000*	0,000*
Dosis 1,75 mg	0,004*	0,000*		0,343	0,034*
Dosis 3,5 mg	0,201	0,000*	0,343		0,713
Dosis 7,00 mg	0,859	0,000*	0,034*	0,713	

*nilai signifikansi $< 0,05$

Hasil dari *Post-hoc Test* ini bermakna jika nilai signifikansi kurang dari 0,05. Berdasarkan hasil tersebut terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok K-, karena nilai signifikansi kurang dari 0,05 yaitu 0,000. Pada kelompok K+ terdapat perbedaan yang bermakna dengan kelompok P3, namun tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok P1 dengan kelompok P2 karena nilai signifikansi yang diperoleh lebih dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa dosis yang paling baik dalam menangkal radikal bebas dari ketiga dosis yang digunakan yaitu dosis 7,00 mg/25gBB. Hasil tersebut membuktikan hipotesis bahwa ekstrak buah kurma dapat menangkal radikal bebas dengan dosis

optimal 7,00 mg/25gBB. Hasil pengamatan dari ketiga kelompok dosis ekstrak buah kurma menunjukkan hasil yang paling bagus untuk lebar ruang bowman yaitu pada kelompok P3 dosis 7,00 mg/25gBB. Pernyataan ini didukung oleh adanya pencegahan penyempitan pada ruang bowman dengan pemberian ekstrak buah kurma sebagai penangkal radikal bebas dari rhodamin B. Flavonoid dan polifenol sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik, sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lipid yang nantinya dapat menekan kerusakan glomerulus (Dewi dkk, 2014).

Hasil dari pengamatan pada lebar ruang bowman dengan pemberian dosis yang bertingkat, selanjutnya dilakukan perhitungan ED_{50} (*Effective Dose*) menggunakan *software* SPSS 24 untuk mengetahui dosis secara farmakologi yang menimbulkan efek yang diinginkan pada 50% populasi yang terpapar ekstrak. Hasil perhitungan pada ekstrak buah kurma mempunyai ED_{50} sebesar 2,34 mg.



Gambar 5.7 Hasil Pengukuran ED_{50} (*Effective Dose*) Ekstrak Buah Kurma

Kandungan buah kurma yang bertindak sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid dan polifenol. Kedua senyawa ini mampu menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas dengan mendonorkan elektron ke senyawa radikal bebas dan membentuk kompleks dengan logam (Marliana, 2006), sehingga dapat menurunkan konsentrasi lipid peroksida dan malondialdehid tidak terbentuk (Onuh dkk, 2012). Kandungan flavonoid dan polifenol dalam buah kurma dapat ditingkatkan 20 – 100 % dengan proses pengeringan (Phillips, 2009).

Rhodamin B yang digunakan pada penelitian ini terbukti sebagai radikal bebas. Hal ini dibuktikan dengan kerusakan yang terjadi pada glomerulus ditunjukkan dengan penyempitan pada ruang bowman pada kelompok kontrol negatif tanpa pemberian antioksidan dengan hasil rerata lebar ruang bowman 5,24 μm . Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 239/Men.Kes/Per/V/85, rhodamin B merupakan zat warna berbahaya yang dilarang keras digunakan dalam makanan, namun masih saja ditemukan terutama pada industri kecil (Djarismawati dan Naingolan, 2004). Hal ini dikarenakan rhodamin B termasuk golongan pewarna *xanthenes basa* yang tidak bisa dikonsumsi dan sangat berfluoresensi karena terbuat dari bahan *metadietilaminofenol dan ftalik anhidrid*. Struktur kimia rhodamin B terdapat ikatan klorin (Cl) dimana senyawa ini merupakan senyawa anorganik yang reaktif dan juga berbahaya. Rhodamin B merupakan salah satu radikal bebas yang dikonsumsi secara oral yang nantinya akan dieksresikan melalui ginjal dalam bentuk urin. Selama proses metabolisme tidak dapat dieksresi dengan baik sehingga terakumulasi dapat menyebabkan sitotoksitas sampai dengan kematian sel. Hal ini menyebabkan kerusakan

membran dengan pengikatan kovalen secara langsung pada protein dan lipid yang menyebabkan stress oksidatif karena terjadi pembentukan radikal bebas reaktif (Dianti, 2018).

Kondisi stress oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid membran sel yang terjadi secara terus menerus sehingga merusak struktur membran sel dan hilangnya fungsi seluler secara total, dalam hal ini yaitu kerusakan glomerulus yang ditandai dengan penyempitan ruang bowman. Radikal bebas merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbital sehingga sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul disekitar seperti lipid, protein, DNA dan karbohidrat. Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan (Werdhasari, 2014).

Antioksidan merupakan senyawa yang diperlukan untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas, karena dapat menghambat proses oksidatif (Dianti, 2018). Antioksidan terdiri dari 2 macam yaitu antioksidan sintetis seperti vitamin C dan antioksidan alami. Antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan antioksidan alami yang terdapat pada tanaman kurma pada bagian buah yaitu flavonoid dan polifenol. Penggunaan buah kurma karena ekstrak buah kurma memiliki kadar antioksidan 11,65 – 387 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ dari berat buah kering melalui analisis kadar antioksidan dengan metode *Ferric Reducing / Antioxidant Power (FRAP)*. Dari hasil tersebut dapat dikatakan buah kurma memiliki kadar antioksidan lebih tinggi dari kadar antioksidan gula tebu atau jagung yang berkisar 10-100 $\mu\text{mol}/100\text{g}$ (Philips, 2009). Pada penelitian ini terbukti bahwa flavonoid

dan polifenol pada buah kurma sebagai antioksidan mampu menghambat radikal bebas khususnya pada ginjal bagian glomerulus. Dosis 7,00 mg/25gBB mampu mencegah kerusakan glomerulus yang dilihat dari lebar ruang bowman dengan hasil rerata 20,6 μm , karena salah satu indikasi kerusakan ginjal ditunjukkan dengan menyempitnya ruang bowman akibat peradangan glomerulus. Ruang bowman merupakan ruang antara kapiler dengan kapsula bowman yang menampung cairan ultra filtrat (Junqueira dan Carneiro, 1980). Cairan ultrafiltrat selanjutnya di reabsorpsi di tubulus konturtus proksimal, maka apabila glomerulus terganggu fungsinya, maka bahan-bahan asing yang tidak diperlukan oleh tubuh di dalam tubulus dalam kadar yang abnormal yang berasal dari ruang bowman (Junquiera dan Carneiro, 2002).

Pemilihan pengamatan radikal bebas pada organ ginjal bagian glomerulus karena merupakan organ vital untuk ekskresi dalam proses filtrasi zat-zat yang berasal dari sistem aliran darah seperti kalium, natrium, asam amino, glukosa, air yang diperlukan oleh tubuh (Ganong, 2003). Apabila glomerulus ini terganggu fungsinya maka tidak dapat berfungsi dengan baik dalam memfiltrat zat-zat yang diperlukan oleh tubuh, terganggunya fungsi produksi filtrat dan kontrol komposisi filtrat sendiri (Mayori, 2013). Ekskresi merupakan proses yang penting bagi tubuh untuk membuang zat-zat toksik atau yang tidak digunakan oleh tubuh, seperti rhodamin B yang terbukti sebagai radikal bebas.

Senyawa flavonoid dan polifenol pada buah kurma sebagai antioksidan memiliki aktivitas yang mirip dengan vitamin C dalam menangkal radikal bebas, karena dalam hal ini vitamin C yang digunakan pada dosis 1,3 mg/25gBB

digunakan sebagai kontrol positif untuk perbandingan yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan dari lebar ruang bowman dengan rerata sebesar 21,97 μm yang dilihat dari perbandingan dengan kontrol negatif yang mengalami penyempitan ruang bowman dengan rerata 5,24 μm . Hal ini dikarenakan vitamin C merupakan antioksidan untuk memutus ikatan berantai dari radikal bebas yang bekerja dalam cairan ekstraseluler karena memiliki kelarutan yang tinggi dalam air. Vitamin C sebagai antioksidan karena dapat mereduksi superoksida, hidrogen peroksida radikal hidroksida dan oksigen reaktif lain dari intraseluler maupun ekstraseluler (Pakaya, 2014).

Buah kurma dapat dijadikan sebagai alternatif penggunaan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan dalam menangkal radikal bebas yang menumpuk di dalam tubuh. Penggunaan antioksidan alami banyak dipilih oleh masyarakat karena memiliki efek samping yang minimal daripada penggunaan antioksidan sintetik yang telah terbukti dapat mengakibatkan keracunan pada dosis tertentu dan menimbulkan efek samping, oleh karena itu penggunaannya di batasi (Panagan, 2011). Buah kurma juga banyak digemari oleh masyarakat karena memiliki rasa yang manis, mudah diperoleh dan tanaman kurma mulai dirintis untuk dibudidayakan di Indonesia.

5.7 Pemanfaatan Buah Kurma sebagai Antioksidan dalam Perspektif Islam

Kurma merupakan buah yang istimewa, karena Allah SWT telah menyebutnya sebanyak 20 kali di 16 surah yang berbeda dalam Al-Qur'an. Keistimewaan ini juga karena Rasulullah SAW menjadikan kurma sebagai makanan wajib sehari-hari dalam keluarga. Keistimewaan lain dari buah kurma yaitu dapat dikonsumsi

tanpa mengenal batas usia, dari ujung akar sampai daun memiliki manfaat, dapat bertahan dalam suhu tinggi hingga 50° C dan dalam kadar garam yang ekstrim, bisa memiliki jangka waktu kadaluwarsa hingga 1,5 tahun (kurma yang berkualitas dan disimpan dengan teknik yang baik) (Sumandra, 2019).

Manfaat buah Kurma yang terdapat dalam Hadist HR. Muslim, sebagai berikut :

مَنْ تَصَبَّحَ بِسَبْعِ تَمَرَاتٍ عَجْوَةً، لَمْ يَضُرَّهُ ذَلِكَ الْيَوْمَ سُمٌّ وَلَا سِحْرٌ

Rasulullah Salallahu ‘alaihi wassalam pernah bersabda : *“Barang siapa yang memakan tujuh butir kurma, maka akan terlindung dari racun”*. Benar saja, satu cerita dikisahkan ada seorang wanita yahudi yang melakukan percobaan pembunuhan kepada Rasulullah dengan memberikan racun ke dalam makanan Rasulullah pada Perang Khaibar. Namun, racun yang telah tertelan oleh beliau bisa dinetralsir oleh zat-zat yang terkandung dalam buah kurma. Bisyr Ibnu al-Barra, salah satu sahabat yang juga memakan racun tersebut meninggal dunia, namun Rasulullah selamat.

Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT tidaklah sia-sia karena memiliki beraneka macam manfaat yang dapat digunakan oleh makhluk hidup khususnya manusia untuk kemaslahatan bagi hambanya yang menggunakan akal serta pikiran. Salah satu ciptaan Allah SWT yang memiliki banyak manfaat yaitu tumbuhan. Hal ini terdapat dalam firman Allah SWT Al-Qur’an Surah Al-Imran ayat 190 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَبْصَارِ

Artinya : *“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal”* (QS. Al-Imran:190).

Penjelasan dari ayat di atas menurut Shihab (2002) yaitu Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan beraneka ragam jenis, rasa, warna, bentuk yang berbeda-beda sebagai bentuk kenikmatan yang diberikan Allah SWT kepada manusia. Tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT memiliki manfaat yaitu sebagai bahan makanan, obat, menjaga daya tahan tubuh. Namun dalam pemanfaatan tumbuhan khususnya buah kurma digunakan sebagai obat atau suplemen harus dipelajari dan dilakukan penelitian terlebih dahulu menggunakan ilmu yang kita miliki dan akal yang diberikan untuk berpikir.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa buah kurma mengandung senyawa antioksidan alami seperti flavonoid dan polifenol yang bermanfaat sebagai penangkal radikal bebas yang berasal dari luar tubuh seperti rhodamin B. Kedua senyawa ini telah diketahui mampu menghambat reaksi oksidasi dan menangkap radikal bebas dengan mendonorkan elektronnya ke senyawa radikal bebas, sehingga dapat menurunkan konsentrasi lipid peroksida dan malondialdehid tidak terbentuk (Onuh dkk, 2012). Hal ini ditunjukkan dengan adanya pencegahan penyempitan ruang bowman pada glomerulus akibat rhodamin B dengan pemberian ekstrak buah kurma.

Takaran dosis diperlukan dalam pengonsumsian suplemen seperti halnya penggunaan dosis pada buah kurma, karena segala sesuatu yang berlebihan

ataupun kurang itu tidak baik. Hal tersebut sesungguhnya sudah dijelaskan dalam ayat Al-Quran surat Al-Hijr ayat 19 :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ

Artinya : “Kami tumbuhkan segala sesuatu menurut ukurannya.” (QS. Al-Hijr : 19).

Penjelasan dari ayat di atas menurut Ibnu Abbas pada lafadz *min kulli syai'in mauzun* yaitu segala sesuatu harus sesuai dengan ukuran, *mauzun* maklum.

Namun pendapat setiap ulama berbeda, ada sebagian ulama mengartikan kata *mauzun* sebagai kadar yang sudah ditentukan (Abdullah, 2007).



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak buah kurma (*P. dactylifera*) berpengaruh terhadap peningkatan lebar ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$).
2. *Effective Dose* 50% ekstrak buah kurma sebagai antioksidan terhadap lebar ruang bowman mencit betina sebesar 2,34 mg.

6.2 Saran

Saran dari penelitian yang telah dilakukan yaitu :

1. Pengembangan penelitian lanjutan secara molekular pada peradangan glomerulus menggunakan marker inflamasi perlu dilakukan.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan ekstrak buah kurma sebagai terapi dalam menangkal radikal bebas pada organ lain.
3. Pengembangan penelitian lanjutan menggunakan ekstrak buah kurma sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas jenis lain.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan pengujian antioksidan ekstrak buah kurma dengan menggunakan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, M., Nazilah K. N. R., Eva A. 2017. Identifikasi Senyawa Aktif dalam Ekstrak Metanol Daging Buah Kurma Jenis Ajwa (*Phoenix dactylifera* L.). Prosiding *Seminar Nasional III tahun 2017*. Malang, 29 April 2017. Surabaya : Universitas Sunan Ampel. Hal. 69.
- Adinata, M.O., Sudira I. W, dan Berata I. K. 2012. Efek Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Musmusculus*) Jantan. *Buletin Veteriner Udayana*. Bali. 4(2).
- Al-Farsi, M.A., dan Lee, C.Y. 2007. Optimization of Phenolics and Dietary Fibre Extraction from Date Seeds. *Elseiver Journal*, 108 (3).
- Ali, Syamsuri. 2015. Pengobatan Alternatif Dalam Perspektif Hukum Islam. *Al'Adalah*. Vol. 12. No. 4. Bandar Lampung : IAIN Bandar Lampung.
- Al-Shahib, W., dan Marshall R. J. 2003. The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 54 (4).
- Anggrahini, S. 2008. Keamanan Pangan Kaitannya Dengan Penggunaan Bahan Tambahan Dan Kontaminan. *Jurnal Pangan*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Anjasmara, P. W., Muhammad, F. R., Mustika, R. 2017. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Peroral Subakut terhadap Perubahan Ketinggian Mukosa Gaster Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus* Strain Wistar). Vol. 13. No. 2. Purwokerto : Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Anonim, 1985. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Nomor :239/Men.Kes/Per/V/85. *Tentang Zat Warna Tertentu Yang Dinyatakan Sebagai Bahan Berbahaya*.
- Ansel, H. C. 2008. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, edisi IV. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Appel, L.J., Moore, T.J., Obarzanek, E., Vollmer, W.M., Svetkey, L.P., Sacks, F.M., Bray, G.A., Vogt, T.M., Cutler, J.A., Windhauser, M.M., Lin, Pao-Hwa., Karanja N. 1997. A Clinical Trial of The Effects of Dietary Patterns on Blood Pressure. *The New England Journal of Medicine*. 16. 336.
- Ardekania, M.R., K Hanavia, M., Hajimahmoodib, M., Jahangiria, M., & Hadjiakhoondi, A. 2010. Comparison of antioxidant activity and total phenol contents of some date seed varieties from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 9 (2).

- Assirey, E. A. R. 2015. *Nutritional Composition of Fruit of 10 Date Palm (PhoenixdactyliferaL.) Cultivars Grownin Saudi Arabia. Journal of Taibah University for Science* 9.
- Bouhlali, E. D. T., Alem. C., Ennasir. J. 2017. Phytochemical Compositions and Antioxidant Capacity of Three Date (*Phoenix dactylifera L.*) Seeds Varieties Grown in the South East Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 16.
- Campbell, N., Reece J. B., Lawrence G. M., Urry L., Molles M., Zimmer C., Wills C., Minorsky P., Niles M. J., Stretton A. 2001. *Biology Fifth Edition*. San Francisco : Pearson Benjamin Cummings.
- Ceriana, R., dan Widya S. 2016. Perubahan Struktur Makroskopis Hati dan Ginjal Mencit yang Diberi Ekstrak Batang Sipatah-patah (*Cissus quadrangular Salisb.*). *Prosiding Seminar Nasional Biotik 2016*. ISBN : 978-602-18962-9-7.
- Chevion, S. 2003. Plasma Antioxidant Status and Cell Injury After Severe Physical Exercise. *Proc Nati Acad Sci*. 100 (9). *Date Palm (Phoenix dactylifera L.) Fruits at Two Edible Ripening Stages, Food Science and Nutrition*.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, Novia. 2015. Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Kurma Sukkari (*Phoenix dactylifera*) pada Tikus Jantan yang Diinduksi Paracetamol. *Naskah Publikasi*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Dianti, M. R. 2018. Efektifitas Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica*) dan Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) sebagai Antioksidan dalam Menanggulangi Radikal Bebas terhadap Kadar Estradiol dan FSH Mencit (*Mus musculus*) Betina yang Dipapar Rhodamin B. *Laporan Penelitian*. Malang : Universitas Islam Negeri Malang Press.
- Dirjen POM. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dirjen POM. 1992. *Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Djarismawati, S., dan Naingolan R. 2004. Pengetahuan dan Perilaku Pedagang Cabe Merah Giling Dalam Penggunaan Rhodamin B di Pasar Tradisional di DKI Jakarta. *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 3(1).
- Elleuch, M., Besbes S., Roiseux O., Blecker C., Deroanne C., Attia H. 2008. Date Flesh: Chemical Composition and Characteristics of the Dietary Fiber, *Food Chem*.
- Febrina, R., Ngurah I. W., Ni Wayan S. 2013. Pengaruh Pemberian Rhodamin B terhadap Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L) Betina. *Jurnal Biologi*. Vol. 16. No. 1. Bali : Universitas Udayana.
- Frei. 1994. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanisms of Action (American Journal Medicine). *Excerpta Medica Inc*.
- Gameiroa, C. M., Romaoa F., Castelo B. 2010. *Menopause and Aging : Changes in The Immune System A Review*. *Maturitas* 67:316-20.
- Gandjar, Ibnu Gholib. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta : Pustaka Belajar.
- Ganong, W. F. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi 20*. Jakarta : Kedokteran EGC.
- Gardjito, M., Murdiati, A., Aini, N. 2006. Mikroenkapsulasi β -Karoten Buah Labu Kuning dengan *Enkapsulan Whey dan Karbohidrat*. Yogyakarta : Jurusan TPHP Fakultas Teknologi Pertanian UGM.
- Guyton, A. C. dan Hall J. E. 2007. *Ginjal dan Cairan Tubuh*. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi XI. Jakarta : Penerbit EGC.
- Habib, H.M., Platat, C., Meudec, E., Cheynier, V., & Ibrahim, W. H., 2013. Polyphenolic Compound in Date Fruit Seed Characterization and Quantification by Using UPLC-DAD-ESI-MS. *Whiley Online Library*.
- Halliwell, B. dan Gutteridge J. M. C. 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford : Oxford University Press dalam Henry, J. 2014. *Advances in Food and Nutrition Research*. Vol. 71.
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun *Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua*. Bandung : ITB Press.
- Hasanah, Annisa'. 2015. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium Cepa* Linn.) terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). Vol. 11. No. 2.

- Hattenschwiller, S., dan Vitousek, P. M. 2000. The Role of Polyphenols in Terrestrial Ecosystem Nutrient Cycling. *Trend in Ecology and Evolution*. 15 (6).
- Herbert, V. 1996. Prooxidant Effects of Antioxidant Vitamins: Introduction. *J Nutr* ;126 (Suppl.4).
- Hillbom, M. 1999. Oxidant, Antioxidant, Alcohol, and Stroke. *Fronties in Bioscience* 4 e.
- Horvath, P. J. 1992. *Vitamins as therapeutic agent*. In: Smith CM, Reynard AM. Ed, Textbook of pharmacology. Philadelphia : WB Saunders Company.
- Irianto, K. (2004). *Struktur Dan Fungsi Tubuh Manusia Untuk Paramedis*. Bandung : Yrama Widya.
- Isnindar, W. S., dan Setyowati, E. P. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diopyros kaki Thumb.*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 16 (3).
- Jayameena, P., Sivakumari, K., Ashok, K., Rajesh, S. 2018. In Silico Molecular Docking Studies of Rutin Compound against Apoptotic Proteins (Tumor Necrosis Factor, Caspase-3, NF-Kappa-B, P53, Collagenase, Nitric Oxide Synthase and Cytochrome). *Journal of Cancer Research and Treatment*. Vol. 6. No. 2. India : Department of Zoology.
- Johnson, M. H., dan Everitt, B. J. 1994. *Essential Reproduction*. Third Edition. Blackwell. London : Sci. Publ.
- Julianus, J dan Elvan Luckyvano. 2014. Sintesis Asam Sinamat dari Benzaldehida dan Aasam Malonat dengan Katalis Dietilamina. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Vol. 11. No. 1. Yogyakarta : Universitas Sanata Dharma.
- Junqueira, L. C., dan Carneiro, J. 1980. *Basic Histology*. Lange Medical Publication, California.
- Junqueira, L. C., dan Carneiro, J. 2002. *Basic Histology Text and Atlas*. Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Junqueira, L. C., dan Carneiro, J. 2005. *Basic Histology Text and Atlas*. Jakarta : EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Kartika, A. A., Siregar, H. C. H., Fuah, A. L. 2013. Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus norvegicus*) dan Mencit (*Mus musculus*) di Fakultas Peternak IPB. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. Vol. 1. No. 3. Bogor : Institut Pertanian Bogor Press.

- Kim, J. E., Kwon, J.Y., Seo, S.K. 2010. Cyanidin Suppresses Ultra-Violet B-Induced COX-2 Expression in Epidermal Cells by Targeting MKK4, MEK1, and Raf-1. *Biochem. Pharmacol* 79.
- Kumar, S. 2014. The Importance of Antioxidant and Their Role in Pharmaceutical Science – A Review. *Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 1 No. 1. India : Manav Bharti University.
- Latifah. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Uin Maulana Malik Ibrahim : Malang
- Lemine, F. M. M., Ahmed M. V. O. M., Maoulainine L. B. M., Bouna Z. A. O., Samba., and Boukhary M.S.O. 2014. *Antioxidant Activity of Various Mauritanian*.
- Listyo, A. B., Dewi, K., Enny, F. 2018. Isolasi Asam Ferulat dari Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. Vol. 3. No.1. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Li Yao, Jiaying, Y., Chunyan, H., Jiaxin, Y., Maria, T. C., Shengnan, W., Hongnan, L dan Yulong, Y. 2016. Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*. 8.
- Lusiana. 2010. Kemampuan Antioksidan Asal Tanaman Obat Dalam Modulasi Apoptosis Sel Khamir (*Saccharomyces cerevisiae*). *Tesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Mamta, Saxena. 2012. Phytochemical Screening of Acorus calamus and Lantana camara. *International Research Journal of Pharmacy*. Vol. 2. No. 5. India.
- Mansouri, A., Guendez E., Eugene K., Panagiotis K. 2005. Phenolic Profile and Antioxidant Activity of The Algerian Ripe Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* 89. Algeria : Institut National de Protection.
- Marliana. 2006. Skrining Fitokimia. Mataram : Universitas Udayana.
- Maulana, E. A., Asih, A., Made. 2016. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* Linn). *Jurnal Kimia* 10 (1). Bali : Universitas Udayana.
- Mayori, R., Netty M., Djong H. T. 2013. Pengaruh Pemberian Rhodamin B terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus* L). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. Vol. 2. No. 1. Padang : Universitas Andalas.

- Mc. Cabe, W. L. 2005. *Unit Operation of Chemical Engineering*. 5th Edition. Mc Graw-Hill, New York.
- Medero, A. J. D. L. 2008. During The Mouse Lecture and Wet Lab. Dalam www.uprh.edu/rise/activities/mouse/mouse.htm. Diakses 10 Februari 2019 pukul 15.00 WIB.
- Mirzaa, M. B., Elkadya A. I., Al-Attara A. M., Syeda F. Q., Mohammeda F. A., Hakeema K. R. 2018. Induction of Apoptosis and Cell Cycle Arrest by Ethyl Acetate Fraction of *Phoenix dactylifera* L. (Ajwa dates) in Prostate Cancer Cells. *Journal of Etnopharmacology*.
- Mudasir., Mugiyanti., Ngaditjo, H. 2002. Spectrophotometric Determination of Pyrocathocol and Pyrogallol Based On Their RedoxReaction with Iron(III)/Phenanthroline System. *Indonesian Journal of Chemistry*. 2 (3). Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Mudjajanto. 2006. *Situational Analysis Nutrition Problems in Indonesia*. Rineka : Jakarta.
- Murti, B. 2003. *Prinsip dan Metode Riset Epidemiologi*. Yogyakarta : Gajah Mada University Press.
- Muti'ah, R., dkk. 2016. *Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Malang : Universitas Islam Negeri Press.
- Naskar, S., Islam A., Mazumder U. K., Saha P., Haldar P. K., and Gupta M. 2010. In Vitro and In Vivo Antioxidant Potential of Hydromethanolic Extract of *Phoenix dactylifera* Fruits. *Journal of Scientific Research*. Vol. 2. No. 1. India : Jadavpur University.
- Niwa, Y. 1997. *Radikal Bebas Mengundang Maut*. Tokyo : Personal Careco, LTD. P : 112.
- Notoadmojo, S. 2003. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka.
- Onuh, S. N., Ukaejiofo E. O., Achukwu P. U., Ufelle S. A., Okwuosa C. N. & Chukwuka C. J., 2012, Haemopoietic Activity and Effect of Crude Fruit Extract of *Phoenix dactylifera* on Peripheral Blood Parameters, *Bio Med Sci Dierect Publication*. Vol. 3 (2).
- Pakaya, D. 2014. Peranan Vitamin C. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*. Vol. 1. No. 2. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tadulako.

- Panagan, A. T. 2011. Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (*Daucus carrota* L.) terhadap Bilangan Peroksidan dan Asam Lemak pada Minyak Goreng Curah. *Jurnal Penelitian Sains*.
- Parwata, I. M. O. A. 2016. *Flavonoid*. Denpasar : Universitas Udayana.
- Pathira, C. dan Fereidoon, S. 2005. Optimization of Extraction of Phenolic Compounds from Wheat Using Response Surface Methodology. 93.
- Patonah, A. Y., dan Cica, N. 2014. Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa* L.) dan Bangle (*Zingiber cassumunir* Roxb.) serta Kombinasinya pada Hewan Hipertriglisidemia. *Jurnal Farmasi Galenika*. Vol. 1. No. 2. ISSN : 2406-9299.
- Phillips, K. M., Carlsen M. H., and Blomhoff R. 2009. Total Antioxidant Content of Alternative to Refined Sugar. *Journal of the American Dietetic Association*. 109 (2009) : p. 64-71.
- Peraturan Menteri Kesehatan No.722/MENKES/PER/IX/88 dalam Wisnu Cahyadi, *Analisis dan aspek kesehatan bahan tambahan pangan*. Bumi Aksara; 2008.
- Pratiwi, P. D., dan Harapani M. 2006. Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas *Dipheni Picril Hydrazil Hydrate* (DPPH) Ekstrak Metanol *Knemalaurina*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17 (1).
- Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* terhadap Bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Surakarta : Jurusan Biologi FMIPA UNS.
- Priyambodo, S. 2003. Pengendalian Hama Tikus Terpadu. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Punchard, N. A., and Kelly F. J. 1996. *Free Radical: A Practical Approach*, Oxford.
- Reynerston, K. A. 2007. Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit. *Dissertation*. New York : The City University of New York.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB Press.
- Rock, C. L., Jacob R. A., Bowen P. A. 1996. Update on biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E and carotenoids. *J. Am Diet Assoc*.

- Saleh, E. A., Tawfik, M. S., Abu-Tarboush, H. M. 2011. Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Various Date Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruits from Saudi Arabia. *Food and Nutrition Sciences*. 2. Qatar : National Health Authority.
- Saryono, R. H., dan Santoso D. 2015. Seduhan Biji Kurma (*Phoenix dactylifera*) Memperkuat Membran Sel Sperma untuk Menurunkan Kadar Malondialdehid. *Jurnal Ners*. Vol. 10. No. 2. Purwokerto : Universitas Jenderal Soedirman.
- Satuhu, S. 2010. *Kurma, Khasiat dan Olahannya*. Edisi I. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sayuti, K. S., dan Rina, Y. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang : Andalas University Press.
- Setijono, M. 1985. Mencit (*Mus musculus*) sebagai Hewan Percobaan. Bandung : Institut Pertanian Bandung Press.
- Shahidi, F. 1997. *Natural Antioxidant, Chemistry, Health Effect and Application*. Illinois. AOCS Press.
- Sherwood, L. 2001. *Fisiologi Manusia*. Jakarta : Kedokteran EGC.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Alquran*. Vol. 5. Jakarta : Lentera Hati.
- Skoog, W. H. 2002. *Fundamental of Analytical Chemistry*. 8th eds. Thomas Brooks Cole, New York.
- Smith, J. B dan Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press.
- Soebahar, M. Erfan, R., Arizal F., Edi D. A. 2015. Mengungkap Rahasia Kurma dan Zaitun dari Petunjuk Hadits dan Penjelasan Sains. *Ulul Albab*. Vol. 16. No. 2. Semarang : UIN Walisongo.
- Soeksmanto. 2007. Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa, *Phaleriamacrocarpa* (Scheff) Boerl. (Thymelaceae). *Biodiversita*. Vol. 8. No. 2. Jakarta : LIPI.
- Subandi. 1991. Penelitian kadar arsen dan timbale dalam pewarna rhodamine B dan auramine secara spektrofotometri: *Suatu penelitian pendahuluan*.

- Subandi. 1999. Penentuan Kadar Arsen dan Timbal dalam Pewarna Rhodamin B dan Auramine secara Spektrofotometri. *Jurnal Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam dan Pengajarannya*. 28(1):12-26.
- Sudjaji. 1986. Metode Pemisahan. Yogyakarta : Kanisius.
- Sugeng, A. Y. 2007. *Dasar-Dasar Penelitian*. Semarang : IKIP PGRI Semarang Press.
- Syaifuddin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia untuk Mahasiswa Keperawatan* . Jakarta : Salemba Medika.
- Syaifuddin. 2014. *Anatomi Fisiologi Manusia Edisi 4*. Jakarta : Kedokteran EGC.
- Syamsudin. 2013. *Nutrasetikal*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Takaeidi, M.R., Jahangiri, A., Khodayar, M.J., Siahpoosh, A., Yaghooti, H., Rezaei, S. 2014. The Effect of Date Seed (*Phoenix dactylifera*) Extract on Paraoxonase and Arylesterase Activities in Hypercolesterolemic Rats. *Jundishapur Journal National Pharmacology*. 9(1).
- Taufikhurohmah, T. 2016. Perubahan Histokimia Hati dan Ginjal Mencit Terpapar Merkuri serta Pemulihannya dengan Nanogold. *Molekul*. Vol. 11. No. 1. Surabaya : Unair.
- Tobo, F. 2001. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Langsung (*Lansium domesticum* L). *Skripsi*. Gorontalo : Universitas Negeri Gorontalo.
- Treyball, R. E. 1980. *Mass Transfer Operatins 3rd Edition*. McRwaw-Hill Companies, New York pp.
- Ulfah, Jauza. 2018. Aktivitas Antikanker pada Sel Kanker Servik (HeLa) dan Toksisitas Sel Normal Vero dari Bagian Akar, Batang, Daun dan Biji (*Helianthus annuus* L.). *Skripsi*. Malang : Universitas Islam Negeri Press.
- UPT Materia Medica Batu. 2018. Determinasi Tanaman Kurma. Batu : UPT Materia Medica.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta : UGM Press.
- Voight, R. 1994. *Buku Pengantar Teknologi Farmasi Edisi V*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada Press.
- Wahdaningsih, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophilaglauca J. Sm*). *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), 156 – 160. Yogyakarta : University Gadjah Mada Press.

- Wahyuningsih, S. P. A., Istuning M., Dwi W. 2016. Toksisitas Kronis Polisakarida Krestin dari Ekstrak *Coriolus Versicolor* pada Histologi Ginjal dan Kadar Kreatinin Serum Mus musculus L. *Prosiding Seminar Nasional from Basic Science to Comprehensive Education*. Makassar, 26 Agustus 2016). Makassar : UIN Alauddin. Hal. 32.
- Werdhasari, A. 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. Jakarta : Kemenkes RI.
- Wibowo, B. A., dan Saebani. 2016. Pengaruh Rhodamine B Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histopatologis Jantung Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. Vol. 5. No. 2. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta : Kanisus.
- Windarini, L. G. E., Astuti K. W., Warditiani N. K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *OJS Unud*. Bali : Universitas Udayana Press.
- Zanwar, A. A., Sachin, S. L., Pankaj, S. S., Mahabaleshwar, V. H., Subhash, L. B. 2014. Role of Gallic Acid in Cardiovascular Disorders. *Pholyphenols in Human and Disease*. India. University of Basel.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J., Sitohang, H. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynous* (L) Merr). *Jurnal Biologi Sumatra*. ISSN : 1907-5537; 3(1).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan dosis dan pengambilan bahan uji

1.1 Ekstrak Buah Kurma

1. Perhitungan dosis

Dosis yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian Dewi (2015) yaitu 1000 mg/kgBB pada tikus, kemudian dikonversikan ke dosis mencit sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Dosis mencit} &: 1000 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 140 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,14 \text{ mg/gBB} \\ &= 0,14 \text{ mg} \times 25 \text{ g} = 3,5 \text{ mg (dosis sedang)} \end{aligned}$$

Penelitian ini menggunakan tiga dosis ekstrak buah kurma dengan 2 kali (dosis tinggi) dan setengah dosis (dosis rendah)

$$\text{Dosis rendah} : 1,75 \text{ mg/25gBB}$$

$$\text{Dosis sedang} : 3,5 \text{ mg/25gBB}$$

$$\text{Dosis tinggi} : 7,00 \text{ mg/25gBB}$$

2. Pengambilan Bahan

a. Ekstrak buah kurma 1,75 mg/25gBB

Ekstrak untuk 1 hari = dosis x jumlah mencit

$$= 1,75 \text{ mg/25gBB} \times 35 \text{ ekor}$$

$$= 61,25 \text{ mg}$$

Ekstrak untuk 15 hari = 61,25 mg x 15 hari

$$= 918,75 \text{ mg/25gBB}$$

$$= 0,919 \text{ g/25gBB}$$

Dilartukan dalam larutan CMCNa 0,1% :

$$\text{Penimbangan CMCNa} : 0,1/100 \times 262,5 \text{ ml} = 0,265 \text{ g}$$

b. Ekstrak buah kurma 3,5 mg/25gBB

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk 1 hari} &= 3,5 \text{ mg/25gBB} \times 35 \\ &= 122,5 \text{ mg/25gBB} \\ &= 0,123 \text{ g/25gBB}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk 15 hari} &= 0,123 \text{ g/25gBB} \times 15 \text{ hari} \\ &= 1,845 \text{ g/25gBB}\end{aligned}$$

Dilarutkan dalam larutan CMCNa 0,1% :

$$\text{Penimbangan CMCNa} : 0,1/100 \times 262,5 \text{ ml} = 0,265 \text{ g}$$

c. Ekstrak buah kurma dosis 7,00 mg/25gBB

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk 1 hari} &= \text{dosis} \times \text{jumlah mencit} \\ &= 7,00 \text{ mg/25gBB} \times 35 \text{ ekor} \\ &= 245 \text{ mg/25gBB} \\ &= 0,245 \text{ g/25gBB}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Ekstrak untuk 15 hari} &= 0,245 \text{ g/25gBB} \times 15 \text{ hari} \\ &= 3,675 \text{ g/25gBB}\end{aligned}$$

Dilarutkan dalam larutan CMCNa 0,1% :

$$\text{Penimbangan CMCNa} : 0,1/100 \times 262,5 \text{ ml} = 0,265 \text{ g}$$

1.2 Rhodamin B

1. Perhitungan Dosis

Dosis rhodamin B yang digunakan beracuan pada penelitian Roosdiana (2017) yaitu 22,5 mg/kgBB pada tikus, kemudian dikonversikan pada dosis mencit sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Dosis mencit} &: 22,5 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 3,15 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,0032 \text{ mg/gBB} \\ &= 0,08 \text{ mg/25gBB}\end{aligned}$$

2. Pengambilan Bahan

$$\begin{aligned} \text{Rhodamin B untuk 1 hari} &= \text{dosis} \times \text{jumlah mencit} \\ &= 0,08 \text{ mg/25gBB} \times 35 \text{ ekor} \\ &= 2,8 \text{ mg/25gBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rhodamin B untuk 15 hari} &= 2,8 \text{ mg/25gBB} \times 15 \text{ hari} \\ &= 42 \text{ mg/25gBB} \\ &= 0,042 \text{ g/25gBB} \end{aligned}$$

Dilarutkan dengan aquades ;

$$\begin{aligned} \text{Aquades} &= 0,5 \text{ ml} \times \text{jumlah mencit} \\ &= 0,5 \text{ ml} \times 35 \text{ ekor} \\ &= 17,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

1.3 Vitamin C

1. Perhitungan Dosis

Kebutuhan manusia setiap hari untuk antioksidan adalah 500 mg/hari (Lukitasari, 2014). Dosis ini dikonversikan pada dosis mencit sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Dosis mencit} &= 500 \text{ mg/25gBB} \times 0,026 \\ &= 1,3 \text{ mg/25gBB} \end{aligned}$$

2. Pengambilan Bahan

$$\begin{aligned} \text{Vitamin C untuk 1 hari} &= \text{Dosis} \times \text{jumlah mencit} \\ &= 1,3 \text{ mg/25gBB} \times 35 \text{ ekor} \\ &= 45,5 \text{ mg/25gBB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Vitamin C untuk 15 hari} &= 45,5 \text{ mg/25gBB} \times 15 \text{ hari} \\ &= 682,5 \text{ mg/25gBB} \\ &= 0,683 \text{ g/25gBB} \end{aligned}$$

Dilarutkan dengan aquades :

Aquades = 0,5 ml x jumlah mencit
 = 0,5 ml x 35 ekor
 = 17,5 ml

Lampiran 2. Skema kerja pembuatan larutan uji

2.1 Pembuatan Ekstrak Buah Kurma

Ekstrak Buah Kurma

- Diambil ekstrak buah kurma dan ditimbang berturut-turut 0,919 gram, 1,845 gram, 3,675 gram
- Dilarutkan masing-masing ekstrak dalam gelas beaker dengan 262,5 ml CMCNa 0,1%, aduk ad tepat larut dan homogen
- Dipindahkan dalam botol kaca coklat, beri label dan tutup botol rapat

Hasil

2.2 Pembuatan Rhodamin B

Rhodamin B

- Ditimbang serbuk rhodamin B sebanyak 0,042 gram
- Dilarutkan dengan aquades sebanyak 17,5 ml, aduk ad tepat larut dan homogen
- Dipindahkan dalam botol kaca coklat, beri label dan tutup rapat botol

Hasil

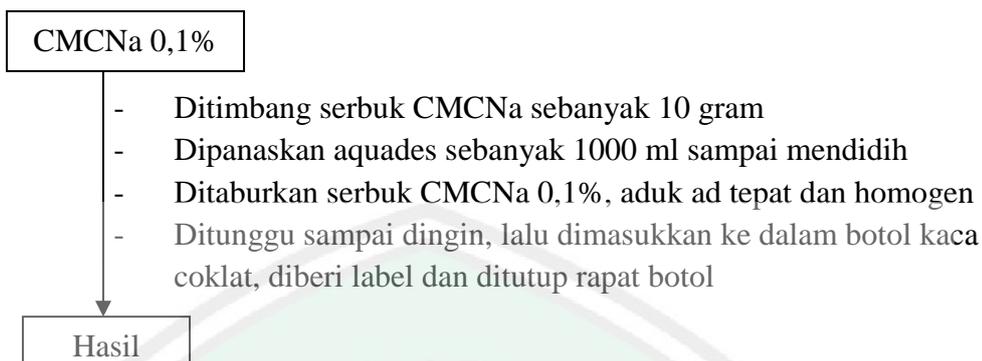
2.3 Pembuatan Vitamin C

Vitamin C

- Ditimbang serbuk vitamin C sebanyak 0,683 gram
- Dilarutkan dengan aquades sebanyak 17,5 ml, aduk ad tepat larut dan homogen
- Dipindahkan ke dalam botol kaca coklat, diberi label dan tutup rapat botol

Hasil

2.4 Larutan CMCNa 0,1%



Lampiran 3. Analisis Data

3.1 Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Lebar	Kontrol Positif	.271	5	.200*	.846	5	.184
	Kontrol Negatif	.320	5	.105	.829	5	.137
	Perlakuan 1	.187	5	.200*	.955	5	.776
	Perlakuan 2	.203	5	.200*	.968	5	.864
	Perlakuan 3	.198	5	.200*	.983	5	.952

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

a. Lilliefors Significance Correction

3.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Lebar			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.488	4	20	.076

3.3 Uji One Way Analysis

ANOVA

Lebar					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	895.298	4	223.825	46.296	.000
Within Groups	96.693	20	4.835		
Total	991.991	24			

3.4 Uji Post-Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Lebar

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol positif	Kontrol negatif	16.73000*	1.39063	.000	12.5687	20.8913
	Perlakuan 1	5.79400*	1.39063	.004	1.6327	9.9553
	Perlakuan 2	3.13400	1.39063	.201	-1.0273	7.2953
	Perlakuan 3	1.37000	1.39063	.859	-2.7913	5.5313
Kontrol negatif	Kontrol positif	-16.73000*	1.39063	.000	-20.8913	-12.5687
	Perlakuan 1	-10.93600*	1.39063	.000	-15.0973	-6.7747
	Perlakuan 2	-13.59600*	1.39063	.000	-17.7573	-9.4347
	Perlakuan 3	-15.36000*	1.39063	.000	-19.5213	-11.1987
Perlakuan 1	Kontrol positif	-5.79400*	1.39063	.004	-9.9553	-1.6327
	Kontrol negatif	10.93600*	1.39063	.000	6.7747	15.0973
	Perlakuan 2	-2.66000	1.39063	.343	-6.8213	1.5013
	Perlakuan 3	-4.42400*	1.39063	.034	-8.5853	-.2627
Perlakuan 2	Kontrol positif	-3.13400	1.39063	.201	-7.2953	1.0273
	Kontrol negatif	13.59600*	1.39063	.000	9.4347	17.7573
	Perlakuan 1	2.66000	1.39063	.343	-1.5013	6.8213
	Perlakuan 3	-1.76400	1.39063	.713	-5.9253	2.3973
Perlakuan 3	Kontrol positif	-1.37000	1.39063	.859	-5.5313	2.7913
	Kontrol negatif	15.36000*	1.39063	.000	11.1987	19.5213

Perlakuan 1	4.42400*	1.39063	.034	.2627	8.5853
Perlakuan 2	1.76400	1.39063	.713	-2.3973	5.9253

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

Lampiran 4. Perhitungan Lebar Ruang Bowman

Kontrol Positif					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	23.31	18.28	18.81	22.63	20.76
2	21.49	19.55	17.35	21.91	20.08
3	23.94	26.94	26.94	22.61	25.11
4	26.48	23.42	22.11	26.79	24.70
5	18.26	19.34	20.23	18.99	19.21
Total Rata-rata					21.97
Kontrol Negatif					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	7.70	8.60	5.09	4.83	6.56
2	5.14	4.14	5.33	3.64	4.56
3	5.01	8.00	5.49	5.24	5.94
4	4.14	4.30	4.90	4.49	4.46
5	5.60	6.09	4.99	2.09	4.69
Total Rata-rata					5.24
Dosis 1,75 mg					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	14.56	16.21	19.29	19.82	17.47
2	14.45	17.28	15.96	15.76	15.86
3	15.53	19.78	18.86	18.00	18.04
4	15.07	11.66	16.86	12.29	13.97
5	17.32	18.70	15.84	10.34	15.55
Total Rata-rata					16.18

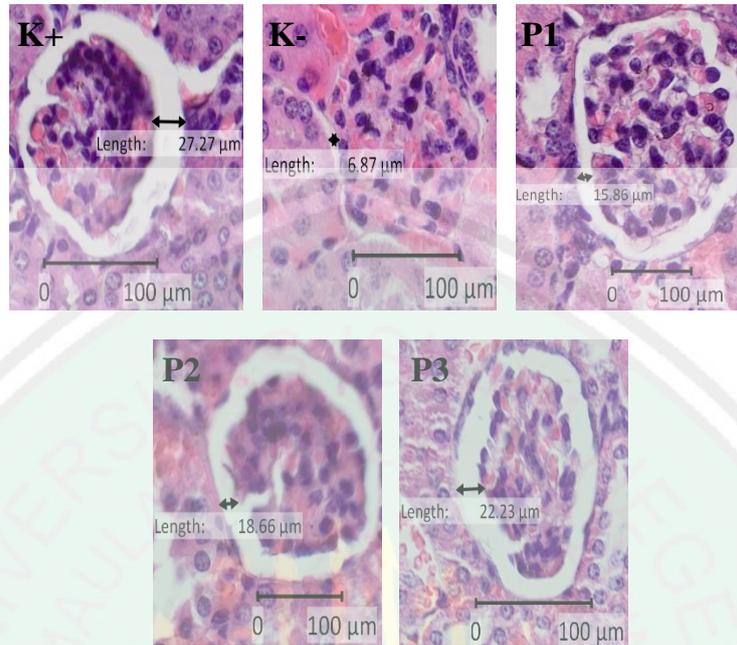
Dosis 3,5 mg					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	19.43	19.7	18.29	23.44	20.22
2	20.56	16.56	24.77	11.78	18.42
3	19.75	20.9	17.8	18.07	19.13
4	22.27	17.42	14.46	14.68	17.21
5	18.29	18.04	16.68	23.81	19.21
Total Rata-rata					18.84
Dosis 7,00 mg					
Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata (μm)
	1	2	3	4	
1	28.01	20.92	21.26	18.02	22.05
2	23.12	19.89	21.34	17.02	20.34
3	15.39	22.21	19.25	21.98	19.71
4	15.72	15.09	14.40	17.72	15.73
5	25.66	18.96	26.92	29.19	25.18
Total Rata-rata					20.60

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

5.1 Perlakuan Hewan Coba



5.2 Pengamatan Ruang Bowman



Keterangan :

K+ : Kontrol Positif

K- : Kontrol Negatif

P1 : Perlakuan 1

P2 : Perlakuan 2

P3 : Perlakuan 3

↔ : Lebar Ruang Bowman

Lampiran 6. *Ethical clearance*



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MALANG
STATE POLYTECHNIC OF HEALTH MALANG

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
Reg.No.:386 / KEPK-POLKESMA/ 2019

Protokol penelitian yang diusulkan oleh
The research protocol proposed by Meilina Ratna Dianti S.Kep.,NS.,M.Kep

Peneliti Utama
Principal In Investigator **Meilina Ratna Dianti S.Kep.,NS.,M.Kep**

Nama Institusi
Name of the Institution UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Dengan Judul
Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) dan Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) Sebagai Antioksidan Terhadap Ginjal Mencit yang Dipapar Rhodamin B
Study of Effect Tin (*Ficus carica*) and Dates (*Phoenix dactylifera*) Extract as Antioxidant to Miceâ€™s Kidney which Exposed by Rhodamin B

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 01 Agustus 2019 sampai dengan 01 Agustus 2020
This declaration of ethics applies during the period August 1, 2019 until August 1, 2020

Malang, 01 Agustus 2019
Head of Committee



Dr. SUSI MILWATI, S.Kp, M.Pd
NIP. 196312011987032002

Lampiran 7. Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/374A/102.7/2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Kurma**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : KARTIKA DINA RAHMA
 NIM : 15670074
 Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman kurma
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 - Kelas : Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
 - Sub Kelas : Arecidae
 - Ordo : Arecales
 - Famili : Arecaceae / Palmae (suku pinang-pinangan)
 - Genus : Phoenix
 - Spesies : *Phoenix dactylifera* L.
 - Sinonim : *Phoenix iberica* D.Rivera, S.Rios & Obón.; *P. chevalieri* D.Rivera, S.Rios & Obón
 - Nama Umum : Kurma, korma, date palm, common date-tree.
 - Kunci Determinasi : 1b-6b-21b-22b-25b-28b-35a.
2. Deskripsi : Pohon sedang, dengan tinggi sekitar 15-25 m, tumbuh membentuk rumpun pada sejumlah batang dari sebuah sistem akar tunggal. Daunnya memiliki panjang 3-5 m, dengan duri pada tangkai daun, menyirip dan mempunyai sekitar 150 pucuk daun muda berukuran dengan panjang 30 cm dan lebar 2 cm. Rentangan penuh tajuknya berkisar dari 6-10 m. Bentuk buahnya lonjong-silinder dengan panjang 3-7 cm, berdiameter 2-3 cm dan ketika masih muda warnanya merah cerah ke kuning terang, tergantung dari kultivarnya. Kurma memiliki biji tunggal yang ukuran panjangnya sekitar 2-2,5 cm dan tebalnya 6-8 mm.
3. Nama Simplisia : *Phoenii dactyliferae* Fructus/ Buah Kurma.
4. Kandungan kimia : Buah mengandung antioksidan, karotenoid, mineral, vitamin, dan fitonutrien.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. 2013. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-152659>.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol I. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

November 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 Dr. Husni M. Drs., Apt., M.Kes.
 DINAS KESEHATAN 102 199103 1 003

Lampiran 8. Effective Dose

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log (Dosis) ^b		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	.214	.	.	-.670	.	.
	.020	.283	.	.	-.548	.	.
	.030	.338	.	.	-.471	.	.
	.040	.387	.	.	-.413	.	.
	.050	.431	.	.	-.366	.	.
	.060	.473	.	.	-.325	.	.
	.070	.513	.	.	-.290	.	.
	.080	.552	.	.	-.258	.	.
	.090	.589	.	.	-.230	.	.
	.100	.626	.	.	-.203	.	.
	.150	.806	.	.	-.094	.	.
	.200	.985	.	.	-.007	.	.
	.250	1.169	.	.	.068	.	.
	.300	1.365	.	.	.135	.	.
	.350	1.575	.	.	.197	.	.
	.400	1.804	.	.	.256	.	.
	.450	2.057	.	.	.313	.	.
	.500	2.340	.	.	.369	.	.
	.550	2.663	.	.	.425	.	.
	.600	3.037	.	.	.482	.	.
	.650	3.479	.	.	.541	.	.
	.700	4.014	.	.	.604	.	.
	.750	4.684	.	.	.671	.	.
	.800	5.563	.	.	.745	.	.
	.850	6.797	.	.	.832	.	.
	.900	8.746	.	.	.942	.	.
	.910	9.296	.	.	.968	.	.
	.920	9.931	.	.	.997	.	.
	.930	10.681	.	.	1.029	.	.
	.940	11.585	.	.	1.064	.	.
	.950	12.710	.	.	1.104	.	.
	.960	14.171	.	.	1.151	.	.

.970	16.201	.	.	1.210	.	.
.980	19.355	.	.	1.287	.	.
.990	25.620	.	.	1.409	.	.

- a. A heterogeneity factor is used.
b. Logarithm base = 10.

