

**PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

Oleh :
ELVIRA SUKMADEWI
NIM. 15670044



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

2019

**PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B**

SKRIPSI

**Oleh:
ELVIRA SUKMADEWI
NIM. 15670044**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) 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 TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B

SKRIPSI

Oleh:

ELVIRA SUKMADEWI

15670044

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji

Tanggal : 30 Oktober 2019

Pembimbing I

Dr. Roihatul Muti'ah M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 2009122003

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 2009122003

PENGARUH EKSTRAK BUAH TIN (*Ficus carica* L.) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GLOMERULUS MENCIT YANG DIPAPAR RHODAMIN B

SKRIPSI

Oleh:
ELVIRA SUKMADEWI
15670044

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)
Tanggal : 30 Oktober 2019

Ketua Penguji : Meilina Ratna Dianti S.Kep.,Ns.,M.Kep. (.....)
NIP. 19820523 200912 2 001
Anggota Penguji : 1. Fidia Rizkiah Inayatilah S.ST.,M.Keb. (.....)
NIP. 19851209 200912 2 004
2. Ach. Nashichuddin, M.A.
NIP. 197307052000031000
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt
NIP. 19800203 2009122003



Mengetahui
Ketua Program Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt
NIP. 19800203 2009122003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Elvira Sukmadewi

NIM : 15670044

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) 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, 30 Oktober 2019

Yang membuat pernyataan,



Elvira Sukmadewi

NIM. 15670044

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”

(Q.S. Al Insyirah : 6-8)

“Hidup ini seperti sepeda. Agar tetap seimbang, kau harus terus bergerak”

—Albert Einstein

“Tetaplah menjadi orang baik. Jika belum bisa menjadi orang baik, setidaknya jangan jadi orang jahat”

(Elvira Sukmadewi/15670044)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

Dengan memanjatkan puji dan syukur kepada Allah SWT dan junjungan kita Nabi Muhamad SAW sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan keadaan yang baik. Persembahan skripsi ini dan rasa terima kasih saya ucapkan kepada:

Kedua orang tua saya, Abah Sukino dan Ibu Umidati yang telah memberikan dukungan, kasih sayang, semangat, dan doa yang tiada henti terputus sehingga saya dapat mengerjakan skripsi ini hingga selesai. Juga untuk kakak saya dan semua keluarga besar yang telah mendukung dalam penyelesaian skripsi ini.

Pembimbing saya Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. dan Ibu Meilina Ratna Dianti S.Kep.,Ns., M.Kep. yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing saya dan memberikan ilmu pengetahuan yang berharga, serta dukungan baik dalam bentuk moral dan materiil.

Teman-teman Farmasi angkatan 2015, terutama kelas B terimakasih atas semua bantuan, dukungan, doa dan perjuangan selama 4 tahun ini. Antioksidan club terimakasih untuk waktu penelitian selama kurang lebih 3 bulan, serta semua orang yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Senang sekali bisa mengenal kalian.

(Elvira Sukmadewi/15670044)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) sebagai Antioksidan Terhadap Gambaran Histopatologi Glomerulus Mencit yang Dipapar Rhodamin B”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang diridhai Allah SWT.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga
2. Bapak Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp.BP-RE (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt., selaku dosen pembimbing utama
4. Ibu Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,Ns.,M.Kep., selaku pembimbing II
5. Ibu Fidiah Rizkiah Inayatillah, S.ST.,M.Keb., selaku Penguji Utama
6. Bapak Ach. Nashichuddin M.A., selaku Penguji Agama
7. 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 keterbatasan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada kita semua.

Malang, 30 Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiv
BAB I : PENDAHULUAN	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	6
1.3.Tujuan	7
1.4.Manfaat	7
1.5.Batasan Masalah	7
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. Buah Tin (<i>Ficus carica</i> Linn.)	8
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi Buah Tin (<i>F. carica</i> L.)	8
2.1.2. Keistimewaan Buah Tin dalam Al-Qur'an dan Hadist	10
2.1.3. Kandungan Buah Tin (<i>F. carica</i> L.)	14
2.2. Antioksidan	17
2.3. Rhodamin B	21
2.4. Radikal Bebas	26
2.5. Vitamin C	31
2.6. Organ Manusia	32
2.6.1. Sistem Perkemihan	34
2.7. Ginjal	35
2.7.1. Struktur Ginjal	37
2.7.2. Struktur Mikroskopis Ginjal	38
2.7.3. Bagian-bagian Ginjal	39
2.7.4. Glomerulus	40
2.8. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	42
2.9. Ekstraksi	45
BAB III : KERANGKA KONSEPTUAL	50
3.1. Kerangka Konsep Penelitian	50
3.2. Deskripsi Kerangka Konsep	51
3.3. Hipotesis	53
BAB IV : METODE PENELITIAN	54
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	54

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian	54
4.3. Populasi dan Sampel	55
4.3.1. Populasi	55
4.3.2. Sampel	55
4.3.3. Cara Pengambilan Sampel	55
4.3.4. Besar Sampel	56
4.4. Variabel Penelitian	56
4.5. Definisi Operasional Variabel	58
4.6. Alat dan Bahan Penelitian	59
4.6.1. Alat	59
4.6.2. Bahan	59
4.7. Prosedur Penelitian	60
4.7.1. Alur Penelitian	60
4.7.2. Alur Proses Ekstraksi	61
4.7.3. Proses KLT (Kromatografi Lapis Tipis)	61
4.8. Analisis Data	62
BAB V : HASIL DAN PEMBAHASAN	63
5.1. Determinasi Buah Tin (<i>F. carica</i>)	63
5.2. Proses Ekstraksi	63
5.3. Uji Warna dan Kromatografi Lapis Tipis	66
5.3.1. Uji Warna	66
5.3.2. Kromatografi Lapis Tipis	68
5.4. Penanganan Hewan Coba	70
5.4.1. Pemilihan Hewan Coba	70
5.4.2. Aklimatisasi Hewan Coba	71
5.4.3. Perlakuan pada Hewan Coba	73
5.4.4. Pengamatan pada Glomerulus	74
5.5. Analisis Data	77
5.5.1. Uji Normalitas	77
5.5.2. Uji Homogenitas	78
5.5.3. Pengaruh Ekstrak Buah Tin Terhadap Ruang Bowman	78
BAB VI : PENUTUP	88
6.1. Kesimpulan	88
6.2. Saran	88
DAFTAR PUSTAKA	89
LAMPIRAN	99

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Ficus carica</i> L	8
Gambar 2.2 Sistem Perkemihan	35
Gambar 2.3 Struktur Ginjal	38
Gambar 2.5 Histologi Ginjal Manusia Normal	38
Gambar 2.6 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	44
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	50
Gambar 4.1 Alur Penelitian	60
Gambar 4.2 Alur Proses Ekstraksi	61
Gambar 4.3 Alur Proses KLT	61
Gambar 5.1 Daun, Batang, dan Buah <i>Ficus carica</i>	63
Gambar 5.2 Ekstrak jadi Buah Tin (<i>F. carica</i>)	66
Gambar 5.3 Hasil Uji Warna Ekstrak Buah Tin	68
Gambar 5.4 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis	70
Gambar 5.5 Gambaran Histopatologi Ruang Bowman	76
Gambar 5.6 Hasil ED ₅₀ dan ED ₉₉ dari Ekstrak Buah Tin (<i>Ficus carica</i> L.)	82

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Struktur Kimia Senyawa Buah Tin.....	16
Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel.....	58
Tabel 5.1 Hasil Uji Warna Ekstrak Buah Tin.....	67
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas.....	77
Tabel 5.3 <i>Levene test</i>	78
Tabel 5.4. Hasil Nilai SD dan uji <i>One way</i> ANOVA.....	79
Tabel 5.5 Hasil uji Tukey.....	80
Tabel 5.6 Notasi huruf dari hasil uji <i>Tukey</i>	80



DAFTAR SINGKATAN

Ad lib	: Ad libitum
ANOVA	: Analysis of Variance
BHA	: Butil Hidroksi Anisol
BHT	: Butil Hidroksi Toluen
BTP	: Bahan Tambahan Pangan
C3R	: Cyanidin-3-O-Rutinoside
Cat	: Catalase
CES	: Cairan Ekstrasel
CYP450	: Cytochrome P450
DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
ED ₅₀	: Effective Dose 50%
ED ₉₉	: Effective Dose 99%
<i>F. carica</i> L.	: <i>Ficus carica</i> Linn.
GPx	: Glutathione proxidase
GR	: Glutathione Reducrase
GSH	: Glutathione
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
LDL	: Low Density Lipoprotein
NADH	: Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen
NADPH	: Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Phospat
PG	: Propil Galat
RNS	: Reactive Nitrogen Species
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOD	: Superoksida Dismutase
SPSS	: Statistical Product and Service Solution
TBHQ	: Tert-butil Hidrokuinon
UV Cabinet	: Ultraviolet Cabinet

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan dosis	99
Lampiran 2 Skema kerja pembuatan larutan uji	100
Lampiran 3 Rata-rata lebar ruang bowman	102
Lampiran 4 Analisa statistik lebar ruang bowman	103
Lampiran 5 Determinasi buah tin	108
Lampiran 6 <i>Ethical clearance</i>	109
Lampiran 7 Dokumentasi pribadi	110



ABSTRAK

Sukmadewi, E. 2019. “Pengaruh Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.) sebagai Antioksidan Terhadap Gambaran Histopatologi Glomerulus Mencit yang Dipapar Rhodamin B”. Pembimbing 1: Dr. Roihatul Muti’ah M.Kes., Apt. Pembimbing 2: Meilina Ratna Dianti S.Kep., Ns., M.Kep.

Rhodamin B sebagai pewarna tekstil, apabila dikonsumsi secara terus menerus akan menjadi radikal bebas yang dapat merusak organ tubuh, salah satunya adalah ginjal. Radikal bebas dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid membran sel. Peroksidasi lipid yang terjadi secara terus-menerus akan menyebabkan rusaknya struktur membran sel dan hilangnya fungsi seluler secara total. Salah satu kerusakan ginjal ditandai dengan penyempitan pada ruang bowman. Buah tin (*F. carica*) mengandung senyawa katekin yang dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Antioksidan merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh ekstrak buah tin dan mengetahui *effective dose* 50% ekstrak buah tin sebagai antioksidan terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B. Metode penelitian adalah *true experimental* dengan rancangan *post test only control group design* yang dibagi dalam 5 (lima) kelompok yaitu K(-) diinduksi rhodamin B sebanyak 0,08mg/25gBB, K(+) diinduksi rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan vitamin C 1,3mg/25gBB, kelompok P1, P2, dan P3 masing-masing diinduksi rhodamin B sebanyak 0,08 mg/25gBB dan dosis bertingkat ekstrak buah tin sebanyak 1,75 mg/25gBB; 3,5 mg/25gBB; dan 7 mg/gBB selama 15 hari. Analisis data statistik menggunakan *One way ANOVA* dengan $p < 0,05$ dan didapatkan nilai signifikansi adalah 0,000. Hasil dari penelitian adalah ekstrak buah tin (*F. carica*) mempunyai pengaruh pada lebar ruang bowman yang dipapar rhodamin B. Pengukuran lebar ruang bowman paling tinggi terdapat pada kelompok P3 dosis 7,00 mg dengan rata-rata 27,44 μm . *Effective dose* 50% ekstrak buah tin sebagai antioksidan adalah 4,617 mg.

Kata kunci: Buah Tin (*Ficus carica* L.), Rhodamin B, Ruang Bowman, Glomerulus

ABSTRACT

Sukmadewi, E. 2019. "The Effect of Fig (*Ficus carica* L.) as an Antioxidant on the Glomerular Histopathology of Mice Exposed to Rhodamine B".
Advisor 1: Dr. Roihatul Muti'ah M.Kes., Apt. Advisor 2: Meilina Ratna Dianti S.Kep., Ns., M.Kep.

Rhodamine B is one of fabric dyes misused as food coloring. It can acts as a free radical affecting human organs, one of which is kidney. Free radical can trigger oxidative stress. Conditions of oxidative stress can cause lipid peroxidation of cell membranes. Lipid peroxidation that occurs continuously will cause damage to the structure of the cell membrane and total loss of cellular function. One indication of kidney failure is Bowman's space narrowing. Fig (*F. carica*) contains cathecin compounds that can be used as natural antioxidant. Antioxidant has an ability to neutralize free radicals by donating one of its electrons in order to be a more stable compound. The study aims to find out the effect of fig nad know the effective dose 50% extract of figs as an antioxidant against on the width of Bowman's space female mice exposed to rhodamine B. The researcher employs true experimental method using post-test only control group design divided into five groups, there are K(-) was induced with 0.08mg rhodamine B, K(+) was induced with 0.08mg rhodamine B and 1.3mg vitamin C, P1, P2, and P3 were induced with 0.08mg rhodamine B and they were given fig extract of 1.75 mg; 3.5 mg; and 7 mg respectively. To analyze the statistical data, the researcher employed One-way ANOVA with $p < 0,05$ and the significance value is 0,000. The result of the study shows that the extract of fig (*F. carica*) has an effect on the Bowman's space width exposed to rhodamine B. The measurement of Bowman's space shows that the highest result is found on P3 group with the dose of 7.00 mg and mean 27.44 μm . Effective dose 50% of figs extract as an antioxidant is 4,617 mg.

Keywords: Fig (*Ficus carica* L.), Rhodamine B, Bowman's space, Glomerulus

مستخلص البحث

سوكماديوي، إ. 2009. أثر مستخرجة فاكهة التين (*Ficus carica* L.) كمضاد للأكسدة على صورة مرضيات أنسجة كيبية الفئران التي تم التهابها 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 ديانتي، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: فاكهة التين (*Ficus carica* L.)، رودامين ب، كبسولة بومان، الكيبية.

رودامين ب هو من إحدى صبغات النسيج التي ما يساء استخدامها غالباً في مادة لون الغذاء. يمكن أن يكون رودامين ب جذوراً حرة تضر أعضاء الجسم، منها الكلي. ويتميز تلف الكلي عن طريق تضيق كبسولة بومان. فاكهة التين (*F. carica*) يحتوي على مركبة كاتشين (*Katekin*) التي يمكن استخدامها كمضاد للأكسدة الطبيعية. مضاد للأكسدة هو المواد التي يمكن تحييد الجذور الحرة عن طريق إعطاء إحدى إلكتروناتها بحيث يصبح المركبة أكثر استقراراً. والهدف من هذا البحث هو معرفة أثر مستخرجة فاكهة التين على عرض كبسولة بومان من الفئران الإناث الآئي تم التهابها برودامين ب. منهج هذا البحث هو البحث التجريبي الحقيقي (*true experimental*) بتصميم مجموعة التحكم الواحدة بالاختبار البعدي مما يقسم إلى خمس مجموعات هي ك -، ك +، ف 1، ف 2 وف 3 مع فترة العلاج لمدة 15 يوماً. ك - تم التهابه برودامين ب بمقدار 0.08 ملغ، ك + تم التهابه برودامين ب بمقدار 0.008 ملغ مع فيتامين ج بمقدار 1.3 ملغ. مجموعة ف 1، ف 2 وف 3 كل منها تم التهابها برودامين ب بمقدار 0.008 ملغ وجرعة مترتبة من مستخرجة فاكهة التين بمقدار متسلسل 1.75 ملغ؛ 3.5 ملغ و 7 ملغ. تحليل البيانات الاحصائية باستخدام تحليل التباين الأحادي (*One way ANOVA*). ونتيجة من هذا البحث هي مستخرجة فاكهة التين لها أثر على عرض كبسولة بومان التي تم التهابها برودامين ب. يكون قياس عرض غرفة بومان الأكثر ارتفاعاً في مجموعة ف 3 بمقدار جرعة 7.00 ملغ مع معدل تراكمي $27.44 \mu\text{m}$. جرعة فعالة من 50 % من مستخلص فاكهة القصدير كمضاد للأكسدة هو 4617 ملغ.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Makanan merupakan kebutuhan dasar manusia untuk dapat melanjutkan kehidupan. Untuk itu makanan yang diberikan harus sehat, disamping harus mempunyai nilai gizi yang optimal juga tidak mengandung bahan berbahaya (Fatmawati, 2013). Makanan yang kaya akan zat gizi dapat membawa dampak yang besar bagi kesehatan tubuh. Hal ini dikarenakan makanan memberikan energi dan tenaga untuk bekerja. Mengonsumsi makanan yang sehat merupakan keinginan setiap manusia karena jika asupan gizi dalam tubuh cukup, memberikan energi yang maksimal bagi tubuh (Surati, 2013).

Saat ini banyak dijumpai pilihan makanan dengan berbagai bentuk dan tampilan yang beragam. Tampilan dan warna dari makanan tersebut tentu tidak lepas dari zat pewarna. Penggunaan pewarna makanan memiliki beberapa keuntungan diantaranya adalah memperbaiki penampilan dari makanan yang dibuat, memperoleh warna yang seragam, untuk mengidentifikasi produk, dan juga sebagai indikator visual untuk kualitas (Teknologi Pangan, 2006). Pewarna makanan dibedakan menjadi dua, yaitu pewarna makanan alami dan pewarna makanan sintesis. Pewarna makanan alami diperoleh dari tumbuhan, hewan atau sumber mineral lainnya. Sedangkan pewarna sintetis adalah pewarna yang diperoleh secara sintesis kimiawi (Depkes RI, 2012). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 033 tahun 2012, pewarna sintetis yang diperbolehkan diantaranya adalah tartazin dan kuinolin.

Diantara banyaknya zat warna sintesis makanan yang boleh digunakan, terdapat rhodamin B yang merupakan pewarna lazim digunakan dalam industri tekstil dan berbahaya bila digunakan sebagai pewarna makanan (Mayori, 2013). Seringkali terjadi penyalahgunaan pemakaian zat pewarna rhodamin B untuk sembarang bahan pangan. Timbulnya penyalahgunaan tersebut antara lain disebabkan oleh ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk pangan (Aryani, 2015). Melihat dari harganya yang lebih murah dibandingkan pewarna makanan, masyarakat beranggapan bahwa penggunaan rhodamin B dapat menekan biaya produksi, sehingga keuntungan yang diperoleh menjadi lebih banyak. Rhodamin B bersifat karsinogenik dan apabila dikonsumsi secara terus menerus dapat menjadi penyebab kanker hati dan rusaknya ginjal (Mayori, 2013).

Rhodamin B terdapat pada jajanan seperti geplak di Yogyakarta (Rahayu, 2016), sampel kerupuk di wilayah Jakarta, Ciputat (Sumarlin, 2010) dan di dua pasar tradisional pada kota Bandar Lampung (Permatasari, 2013), kue bolu kukus di kota Manado (Yamlean, 2011), saus yang beredar di pasar tradisional dan pasar modern di daerah Denpasar (Laksmi, 2018), dan jajanan anak-anak seperti telatela; kue lapis; dan agar-agar di SDN 3 kota Pekanbaru (Devitria, 2017).

Rhodamin B berbahaya bagi kesehatan manusia karena sifat kimia dan kandungan beratnya. Rhodamin B mengandung senyawa klorin yang merupakan senyawa halogen berbahaya dan sangat reaktif. Rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi ($\text{CH}_3\text{-CH}_3$) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak dan DNA di dalam tubuh (Anjasmara, 2017).

Sel di dalam tubuh secara rutin menghasilkan radikal bebas dan kelompok oksigen reaktif (ROS) yang merupakan bagian dari proses metabolisme (Sinaga, 2016). Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya dan sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi, dapat menimbulkan kerusakan dalam tubuh. Tubuh dapat menangkal radikal bebas dengan sistem pertahanan endogen, tetapi jumlahnya tidak memadai jika ditambah dengan polusi lingkungan, merokok, asap kendaraan, makanan yang tidak sehat dan berbagai faktor lainnya. Untuk itu, diperlukan antioksidan untuk membantu menangkal radikal bebas (Wahdaningsih, 2011).

Tubuh manusia selalu memerlukan persediaan oksigen, air serta berbagai bahan makanan. Dengan segera tubuh akan menggunakan zat makanan sebagai tenaga dan untuk memperbaiki jaringan-jaringan yang rusak. Disaat yang sama, tubuh mengeluarkan zat yang tidak diperlukan oleh tubuh, salah satunya melalui *urine* (Chalik, 2016). 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 salah satu organ sasaran utama dari efek toksik. *Urine* 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, 2006).

Bahan-bahan yang bersifat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan jaringan ginjal dalam bentuk perubahan struktur dan fungsi ginjal. Apabila

paparan terjadi terus menerus, maka sel akan mencapai suatu titik hingga sel tidak dapat lagi mengkompensasi dan tidak dapat melanjutkan metabolisme. Filtrasi glomerulus adalah inti yang paling penting dari fungsi ginjal. Bahan toksik, dalam hal ini rhodamin B, akan mempengaruhi daya filtrasi glomerulus sehingga daya saring menjadi berkurang. Kerusakan dapat terlihat dari penyempitan ruang bowman. Penyempitan ruang bowman disebabkan terjadinya peradangan glomerulus ataupun proliferasi dari epitel kapsula bowman (Mayori, 2013).

Berbagai macam tumbuhan dapat tumbuh di Indonesia yang merupakan negara tropis. Salah satunya adalah buah tin, yang merupakan salah satu buah yang diminati oleh masyarakat. Buah, akar dan daun dari buah tin (*F. carica*) dapat digunakan untuk pengobatan tradisional, misalnya untuk pencernaan, pernapasan, bengkak, kanker dan penyakit jantung. Kandungan komponen yang berkhasiat terhadap kesehatan pada buah tin telah lama diketahui dari berabad-abad dan manusia menggunakan buah ini sebagai sumber obat-obatan. Buah tin (*F. carica*) digunakan sebagai pengobatan tradisional yang bermanfaat untuk antipiretik, diuretik, bengkak, sakit kepala, sakit ginjal dan limfa, mimisan, serta digunakan untuk menumbuhkan rambut (Bouyahya, 2016).

Antioksidan atau senyawa penangkap radikal bebas merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan (Rosahdi, 2013). Mekanisme hambatan dari antioksidan ini dilakukan dengan cara menyerap dan menetralkan radikal bebas atau mendekomposisi peroksida. Netralisir ini dilakukan dengan

cara memberikan satu elektronnya sehingga menjadi senyawa yang lebih stabil atau terjadi reaksi terminasi dan reaksi-reaksi radikal berakhir atau stres oksidatif tidak terjadi pada sel (Parwata, 2016).

Antioksidan terdapat pada berbagai tumbuhan, salah satunya adalah buah tin (*F. carica*). Buah tin memiliki polifenol tertinggi, yaitu sebesar 1,090-1,110mg/100 gram buah segar dibandingkan dengan buah *Citrus aurentifolia* yaitu 0,089 mg/g (Mahyuni, 2016) dan buah juwet hitam sebesar 0,56 mg/100g (Lestario, 2017) . Kandungan fenol pada buah dapat meningkatkan lipoprotein plasma dan memproteksi terhadap oksidasi. Ekstrak basah dari buah tin dapat digunakan sebagai penghambat radikal bebas dan sebagai antioksidan yang utama (Lukitasari, 2014).

Buah tin terdapat di dalam ayat Al-Qur'an, yaitu dalam surat At-Tin ayat 1:

وَالَّتَيْنِ وَالزَّيْتُونَ (1) وَطُورِ سِينِينَ (2) وَهَذَا الْبَلَدِ الْأَمِينِ (3)

Artinya : “Demi (buah) tin dan (buah) zaitun, dan demi bukit Sinai, dan demi kota (Mekah) ini yang aman” (Q.S. At-Tiin: 1-3)

Surat At-tin menguraikan keadaan jenis manusia dengan baik buruknya, dan bahwa bila mereka ingin mengembangkan perilaku baiknya, maka wajar bila mereka ingin mengembangkan perilaku baiknya, serta mengikuti wahyu Allah SWT. Ayat-ayat diatas menyatakan bahwa; Aku Allah bersumpah demi buah atau tempat tumbuhnya Tin dan Zaitun dan demi bukit Sinai tempat nabi Musa AS memperoleh wahyu dan demi kota Mekah yang aman yaitu tempat Nabi Muhammad SAW pertama kali menerima wahyu. Pada ayat 1-3 ini memiliki pengertian bahwa Allah bersumpah dengan nama tempat-tempat para nabi

menerima wahyu, yakni para nabi yang hingga kini mempunyai pengaruh dan pengikut terbesar dalam masyarakat di dunia (Rakhman, 2010).

Menurut Mujahid dan Hasan, buah tin dan buah zaitun diambil menjadi sumpah oleh Allah SWT karena kedua buah tersebut terkenal untuk dimakan. Qatadah berkata “Tiin adalah nama sebuah bukit di Damaskus dan Zaitun nama pula dari sebuah bukit di Baitul-Maqdis”. Tandanya kedua negeri itu penting untuk diperhatikan dan menurut sebuah riwayat yang diterima oleh Ibnu Abbas, “Tiin adalah masjid yang mula didirikan oleh Nuh diatas gunung Al-Judi, dan zaitun adalah Baitul-Maqdis” (Rakhman, 2010).

Nabi Muhammad SAW bersabda :

لَوْ قُلْتُ إِنَّ فَاكِهَةً نَزَلَتْ مِنَ الْجَنَّةِ قُلْتُ التَّيْنُ

Artinya : “Seandainya saya boleh berkata tentang buah yang turun dari surga, maka saya akan mengatakan (itu adalah) buah tin” (H.R. Abu Darda)

Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin melakukan penelitian tentang pengaruh antioksidan ekstrak buah tin (*F. carica*) dengan dosis berbeda. Diharapkan ekstrak dari buah tin (*F. carica*) dapat menanggulangi radikal bebas dilihat dari struktur histologi glomerulus mencit betina.

1.2.Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak buah tin (*F. carica*) berpengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B?
2. Berapakah *effective dose* 50% dari ekstrak buah tin sebagai antioksidan terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B?

1.3.Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak buah tin (*F. carica*) terhadap lebar ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B.
2. Mengetahui *effective dose* 50% dari ekstrak buah tin yang berpengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.

1.4.Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Secara teoritis, dapat menambah ilmu pengetahuan, khususnya di dalam bidang farmasi tentang pengaruh ekstrak buah tin sebagai antioksidan dan dapat menanggulangi radikal bebas. Radikal bebas dalam hal ini adalah dari pewarna sintesis rhodamin B.
2. Secara praktis, dapat digunakan sebagai pertimbangan pemilihan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan, dalam hal ini adalah buah tin (*F. carica*) untuk mengurangi dampak dari radikal bebas.

1.5.Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Ekstraksi buah tin (*F. carica*) menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 96%.
2. Mencit yang digunakan merupakan mencit BALB/c berjenis kelamin betina.
3. Pengaruh antioksidan dari ekstrak buah tin (*F. carica*) yang diamati adalah diameter kapsula bowman.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Buah Tin (*Ficus carica* Linn)

2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi Buah Tin (*Ficus carica* L.)



Gambar 2.1 *Ficus carica* L. (Joseph, 2011)

Indonesia memiliki peluang yang potensial dalam pencarian sumber obat baru dari bahan alam. Negara tropis yang kaya akan sumber daya hayati ini memiliki sekitar 30.000 spesies tumbuhan dan kurang dari 7.000 spesies lainnya baru diketahui khasiatnya (Sie, 2013). Diantara banyaknya buah dengan potensinya masing-masing, salah satu buah yang memiliki potensi sebagai antioksidan alami yang tinggi adalah buah tin (*F. carica*).

Tanaman tin yang memiliki nama ilmiah *Ficus carica* Linn. merupakan keluarga Moraceae yang banyak tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Pohon tin sudah banyak dibudidayakan karena dipercaya banyak mengobati berbagai penyakit. Di Indonesia sendiri budidaya pohon tin ada di daerah Gresik, Jawa Timur, dimana daun pohon tin dimanfaatkan sebagai teh untuk mengobati penyakit diabetes. Dengan perkembangan ilmu pengetahuan banyak penelitian tentang kandungan dan manfaat pohon tin baik daun, buah maupun akarnya (Agustina, 2017).

Menurut Materia Medica (2018), determinasi tanaman tin adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Super divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Sub Kelas : Dilleniidae

Ordo : Urticales

Famili : Moraceae

Genus : Ficus

Spesies : *Ficus carica* L.

Tin atau bahasa latinnya *Ficus carica* L. adalah sejenis tumbuhan penghasil buah yang dapat dimakan yang berasal dari Asia Barat. Buah tin berbunga dimulai dari bulan Maret dan berlanjut sampai akhir April. Musim berbuah dimulai dari dua minggu kedua Juni dan berlanjut sampai waktu pertama bulan Juli. Buah tin dapat dikonsumsi secara keseluruhan bersama dengan bijinya. Sumber utama buah tin adalah wilayah Mediterania, tetapi tumbuh sebagian besar di wilayah dunia. Di Iran telah tersebar di sebagian besar hutan utara dan pantai laut Kaspia, Mazandaran, Azerbaijan, Isfahan, Fars, Khuzestan dan Khorasan. Buah tin juga dikenal dengan nama Ara dalam bahasa Arab, figue (Perancis), feige (Jerman), higo (Spanyol), anjir (Persia, India, Urdu, Punjab, Bengali), aeemai atti (Tamil), dumur (Bengali), kakundumberika (sansekerta), anjur (Kasmir). *Ficus carica* L.

adalah buah tin yang sangat bervariasi dan biasa tumbuh di bukit North West, lereng kering, dan tanah liat Uttarakhand, Punjab dan Kasmir di India, Nepal, Pakistan, Afganistan, Iran, Semenanjung Arab, Somalia, Sudan, Ethiopia, dan Mesir Selatan (Roswita, 2017).

Buah tin tumbuh baik di wilayah mediteranian dan iklim dengan suhu yang hangat-kering. Tin menggugurkan daunnya, dan dapat tumbuh hingga 50 kaki, tetapi biasa ditemukan tumbuh dengan tinggi 10-30 kaki. Daun berbentuk gelombang dengan tepi yang lebar, dapat ditemukan dengan 5 cuping tetapi biasanya terdiri dari 3-4 cuping dan urat daunnya jelas. Cabangnya besar dan memutar serta meluas. Batangnya besar, dengan ranting berbentuk silinder dan lebih kecil dibandingkan dengan batang. Pohon tin banyak mengandung getah berwarna putih susu. Buah yang matang memiliki kulit yang keras (berwarna hijau, hijau-kecoklatan, coklat atau ungu), bagian dalamnya berwarna putih berisi biji dan daging buah. Biji buah tin (*F. carica*) dapat berukuran besar, sedang, atau kecil dengan kisaran jumlah 30 sampai 1.600 biji per buah (Joseph, 2011).

2.1.2. Keistimewaan Buah Tin dalam Al-Qur'an dan Hadist

Al-Qur'an merupakan kitab suci umat Islam. Sebagai kitab suci umat Islam, Al-Qur'an diyaini sebagai kalam Tuhan sehingga disebut kalam ilahi (kalam Allah). Al-Qur'an diwahyukan oleh Allah SWT kepada nabi Muhammad SAW melalui wahyu yang jelas yaitu dengan turunnya malaikat utusan Allah SWT untuk menyampaikan wahyu-Nya kepada Rasulullah SAW. Sebagaimana Allah berfirman kepada Rasulullah SAW:

وَإِنَّكَ لَتُلَقَّى الْقُرْآنَ مِنْ لَدُنْ حَكِيمٍ عَلِيمٍ

Artinya: *“Dan sesungguhnya engkau (Muhammad) benar-benar telah diberi Al-Qur’an dari sisi (Allah) Yang Maha Bijaksana lagi Maha Mengetahui”* (Q.S An-Naml: 6)

Kalam ilahi yang diturunkan sebagai kitab petunjuk bagi manusia ini, diturunkan sesuai Bahasa kaumnya. Dalam konteks ini, Al-Qur’an diturunkan dalam bentuk bahasa Arab yang pada perkembangannya, kini umat Islam mengenalnya dalam bentuk *mushaf usmani*. Buah tin merupakan salah satu buah yang telah disebutkan di dalam Al Qur’an (Ni’mah, 2016).

Dalam tafsir Al-Maraghi dijelaskan bahwa “At-tiin” menurut Imam Muhammad Abduh merupakan pohon tempat Nabi Adam bernaung tatkala di surga. Al-Maraghi menjelaskan bahwa Allah bersumpah dengan masa Tin Nabi Adam-bapak manusia, yaitu zaman ketika Nabi Adam dan istrinya menutupi tubuhnya dengan pohon tin. Abu Dzar berkata, “Aku memberi hadiah kepada Nabi Muhammad SAW sekeranjang buah Tin, dan beliau berkata “Makanlah!” beliau pun ikut memakannya, kemudian beliau bersabda:

“Jika aku mengatakan sesungguhnya buah telah turun dari surga, maka aku katakan inilah ia karena buah di surga tidak berbiji, maka makanlah oleh kalian, karena buah itu mencegah penyakit bawasir, dan berguna bagi naqris (sejenis penyakit tulang)”

Buah tin juga disebut pada ayat Al-Qur’an, diantaranya adalah:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ
حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا
وَعَیْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

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 (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan 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” (QS. Al-An’am: 99).

وَهُوَ الَّذِي أَنْشَأَ جَنَّاتٍ مَّعْرُوشَاتٍ وَغَيْرَ مَعْرُوشَاتٍ وَالنَّخْلَ وَالزَّرْعَ مُخْتَلِفًا أَكْلُهُ وَالزَّيْتُونَ
وَالرُّمَّانَ مُتَشَابِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ كُلُوا مِنْ ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَآتُوا حَقَّهُ يَوْمَ حَصَادِهِ وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ
لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ

Artinya: “Dan Dialah yang menjadikan kebun-kebin yang berjunjung dan yang tidak berjunjung, pohon korma, tanam-tanaman yang bermacam-macam buahnya, zaitun dan delima yang serupa (bentuk dan warnanya) dan tidak sama (rasanya). Makanlah dari buahnya (yang bermacam-macam itu) bila dia berbuah, dan tunaikanlah haknya di hari memetik hasilnya (dengan disedekahkan kepada fakir miskin); dan janganlah kamu berlebih-lebihan” (QS. Al-An’am: 141)

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: “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” (QS. An-Nahl: 11)

Diriwayatkan dari Ibnu Abbas r.a bahwa Tin adalah masjidnya Nabi Nuh AS yang beliau bangun diatas bukit *Judiy*, dan Zaitun adalah masjid Baitul maqdis. Al-Dhahhak berkata, “Tin adalah Masjid Al-Haram, dan Zaitun adalah masjid Al-Aqsa”. Ada yang mengatakan, Allah SWT bersumpah dengannya untuk menerangkan sisi anugerah yang agung pada buah tersebut, karena ia indah dilihat, rasanya lezat, harum semerbak, mudah dipetik, dan mudah dikunyah (Ni'mah, 2016).

Surat At-Tin ini Allah memilih empat al, masing-masing al-Tin, al-Zaytun, Thur Sinin, al-Balad al-Amin untuk menjadi semacam bukti untuk kebenaran sumpah-Nya. Kata At-Tin dan al-Zaytun dipersiliskan maksudnya oleh para ulama. Sebagian menyatakan bahwa keduanya adalah nama pohon. Sebagian lagi menyatakan pandangan kepada makna ayat 2 dan 3 yang menunjuk kepada dua tempat dimana Nabi Musa AS dan Nabi Muhammad SAW menerima wahyu, berpendapat bahwa At-Tin dan Al-Zaytun juga merupakan nama-nama tempat (Zahid, 2011).

Kata al-Thur dipahami oleh sementara ulama dalam arti gunung, dimana Nabi Musa AS menerima wahyu ilahi, yaitu yang berlokasi di Sinai Mesir. Thahir ibn ‘Asyur berpendapat bahwa firman-firman Allah yang diturunkan kepada nabi Musa itu populer dengan nama temoat ia turun yakni Thur dan yang diucapkan dalam bahasa Aran dengan Taurat. Sedangkan kata Al-Balad Al-Amin (negeri yang aman) dapat dipahami dengan merujuk ke QS. Ali Imran: 97 dan QS. Balad:

1-2. Nabi bersabda, “Sesungguhnya kota ini telah diharamkan Allah sejak diciptakan langit dan bumi, karenanya ia haram (terhormat, suci) dengan ketetapan Allah sampai kiamat. Tidak dibenarkan bagi orang sebelumku untuk melakukan peperangan di sana, tidak dibenarkan bagiku kecuali beberapa saat pada suatu siang hari” (HR. Muslim dari Ibn Abbas RA) (Zahid, 2011).

2.1.3. Kandungan Buah Tin (*Ficus carica* L.)

Tin adalah buah-buahan yang mengandung zat sejenis alkalin yang mampu menghilangkan keasaman pada tubuh. Zat-zat aktif yang terdapat dalam buah tin adalah sejenis zat-zat pembersih yang bisa dipakai untuk mengobati luka luar dengan cara melumurnya. Bukan hanya buah tin yang memiliki banyak manfaat, tetapi berbagai bagian dari tanaman seperti akar dan daun juga memiliki banyak manfaat terapeutik dan digunakan dalam obat-obat tradisional (Roswita, 2017).

Buah tin (*F. carica*) merupakan salah satu pemeliharaan tanaman yang paling awal dan hasil panen yang penting baik untuk konsumsi langsung maupun dengan pengeringan. Buah, akar dan daunnya bisa digunakan untuk pengobatan tradisional, misalnya untuk pencernaan, pernapasan, bengkak, kanker dan penyakit jantung. Hasil infusa atau dekoksi dari daun pohon tin digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk tumor dan kecelakaan yang menyebabkan pembengkakan, nutrisi untuk anemia dan untuk anthelmintik. Menurut laporan, beberapa bagian tanaman dari *F. carica* menghasilkan antioksidan, antimikroba, inhibitor asetil kolinesterase, anti karsinogenik, anti inflamasi, inhibitor dari densitas rendah lipoprotein dan antidiabetes (Mahmoudi, 2016).

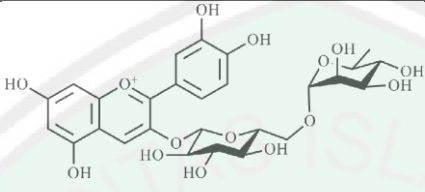
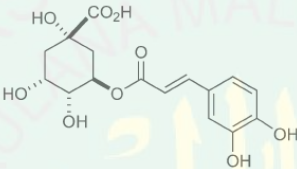
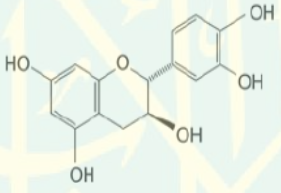
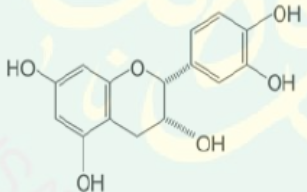
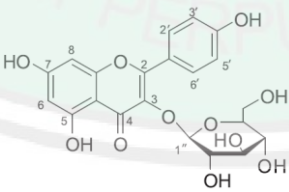
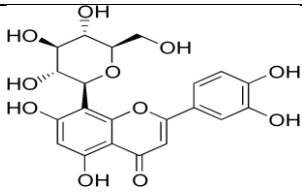
Penelitian sebelumnya tentang komposisi buah tin kering memiliki nutrisi paling baik dibandingkan buah kering yang lain, dan menjadi sumber mineral dan vitamin. Kadar *phytosterol* juga terkandung dalam buah tin (433 mg/100 g buah kering). Buah tin segar dan buah tin kering juga mengandung serat dan polifenol yang tinggi. Beberapa penelitian terbaru melaporkan bahwa antioksidan buah tin dapat melindungi lipoprotein dalam plasma dari oksidasi dan menghasilkan peningkatan kapasitas antioksidan plasma yang signifikan setelah pengonsumsian selama 4 jam (Duenas, 2008).

Kandungan gizi buah tin antara lain serat, vitamin A, C, kalsium, magnesium dan potasium yang sangat diperlukan oleh tubuh. Selain itu adanya kandungan flavonoid, fenolik dan beberapa senyawa bioaktif seperti arabinose, β -amirin, β -karoten, glikosida, β -setosterol dan xanthol yang merupakan senyawa antioksidan (Agustina, 2017). Buah tin juga memiliki konsentrasi polifenol tertinggi di antara makanan dan minuman yang biasa dikonsumsi (Kusuma, 2014). Konsentrasi polifenol dari buah tin segar yaitu sebesar 1,090-1,110 mg/100g buah segar (Lukitasari, 2014) dibandingkan dengan buah *Citrus aurentifolia* yaitu 0,089 mg/g (Mahyuni, 2016) dan buah juwet hitam sebesar 0,56 mg/100g (Lestario, 2017).

Kandungan senyawa golongan fenol pada buah tin antara lain: C3R (*cyanidin-3-O-rutinoside*), *Chlorogenic Acid*, *Catechin*, *Epicatechin*, *Kaempferol-3-O-glucoside*, dan *Luteolin-8-C-glucoside* (Slatnar, 2011). Selain itu, pada biji juga mengandung asam lemak, oleic, linoleic, palmitic, stearic, arachidic.

Komponen tersebut merupakan minyak yang dapat dikonsumsi dan dapat digunakan sebagai pelumas (Joseph, 2011).

Tabel 2.1 Struktur Kimia Senyawa Buah Tin (*F. carica*)

No.	Struktur Kimia	Nama Senyawa
1.		<i>Cyanidin-3-O-rutinoside</i> (C3R) (Sanchez, 2017)
2.		<i>Chlorogenic acid</i> (Izawa, 2010)
3.		<i>Catechin</i> (Leliqia, 2010)
4.		<i>Epicatechin</i> (Leliqia, 2010)
5.		<i>Kaempferol-3-O-glucoside</i> (Wang, 2015)
6.		<i>Luteolin-8-C-glucoside</i> (Vasilev, 2015)

2.2. Antioksidan

Antioksidan atau senyawa penangkap radikal bebas merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Rosahdi, 2013).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena dapat memutus reaksi berantai radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (Silvia, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/ spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan. Antioksidan sintetik contohnya adalah BHA, (butil hidroksi anisol), BHT (butil hidroksi toluen), PG (propil galat), dan TBHQ (tert-butil Hidrokuinon) (Rohman, 2005).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti: Superoksida Dismutase (SOD), katalase (Cat), dan glutathione peroksidase (Gpx); serta antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh/makanan. Berbagai bahan alam asli

Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, α -tocopherol, flavonoid, thymoquinone, statin, niasin, phycocyanin, dan lain-lain. Berbagai bahan alam, baik yang sudah lama digunakan sebagai makanan sehari-hari atau baru dikembangkan sebagai suplemen makanan, mengandung berbagai antioksidan tersebut (Wherdasari, 2014).

Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Stres 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 disekitarnya (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 (Wherdasari, 2014).

Antioksidan alami adalah senyawa antioksidan yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan (Silvia, 2016). Antioksidan alami didapatkan dari hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan yang memiliki kandungan antioksidan. Kandungan antioksidan berhubungan erat dengan komposisi senyawa kimia yang terdapat di dalamnya (Kulisic, 2006). Adanya antioksidan alami dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan komponen organik dalam bahan makanan sehingga dapat memperpanjang umur simpan (Dungir, 2012). Contoh antioksidan alami

antara lain tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, karoten, asam tanat, asam galik (senyawa fenolik), asam ferulik (senyawa fenolik), quercetin (flavonoid) dan sebagainya (Agustina, 2017).

Klasifikasi jenis antioksidan berdasarkan sifatnya antara lain: (Silvia, 2016)

a. Antioksidan Enzimatis

Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama terhadap kondisi stres oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat tergantung pada adanya ion logam dan bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru. Contoh antioksidan enzimatis yaitu *superoxide dismutase* (SOD), *catalase*, *glutathione peroxidase* (GPx), *glutathione reductase* (GR).

b. Antioksidan Non-Enzimatis

Antioksidan non-enzimatis disebut juga antioksidan sekunder karena dapat diperoleh melalui asupan bahan makanan. Antioksidan non-enzimatis dibagi menjadi dua bagian yaitu:

- Antioksidan metabolik, contohnya *reduced glutathione* (GSH), *uric acid*, *lipoic acid*, *bilirubin*, *albumin*, *L-arginine*, *melatonin*, *transferrin*, dan lain-lain.
- Antioksidan nutrisi, contohnya vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid, selenium mangan, zink, omega-3 dan lain-lain.

Sedangkan klasifikasi antioksidan berdasarkan sumbernya yaitu: (Silvia, 2016)

- *Endogeneous antioxidant*, contohnya *bilirubin*, *glutathione*, *lipoic acid*, NADH, NADPH, dan enzim-enzim (SOD, GR, GPx)

- *Dietary antioxidant*, contohnya vitamin E, vitamin C, beta-karoten, oksikarotenoid, polifenol
- *Metal Binding Protein* contohnya albumin, metalotionin, ferritin, transferrin.

Kemudian klasifikasi antioksidan berdasarkan mekanisme kerja, terdiri dari: (Silvia, 2016)

- Katalis untuk menetralkan ROS, contohnya SOD, CAT, GPx
- Pengikatan ion logam untuk mencegah produksi ROS dengan reaksi Haber-Weiss, contohnya ferritin, ceruloplasmin, *catechins*.
- Pemutusan rantai antioksidan, menghancurkan ROS, contohnya vitamin C, vitamin E, *glutathione*, flavonoid.

Antioksidan dalam pengertian kimia didefinisikan sebagai senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam arti biologis pengertian antioksidan lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredakan dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam (Pangkahila, 2007).

Menurut Gutteridge (1996), antioksidan dalam tubuh manusia bekerja melindungi sel dengan beberapa mekanisme yaitu :

- a. Menangkap spesies turunan oksigen, baik dengan menggunakan protein katalis (enzim) atau dengan reaksi kimia secara langsung (yang mana antioksidan akan digunakan sebagai penerus reaksi)
- b. Meminimalisir pembentukan spesies turunan oksigen
- c. Mengikat ion logam yang berperan dalam pengubahan spesies kurang reaktif (Seperti O_2^- dan H_2O_2) menjadi yang paling efektif (Seperti OH)
- d. Memperbaiki kerusakan sel

- e. Menghancurkan molekul target yang sangat rusak dan menggantikannya dengan baru

Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul lain dengan cara mengikat elektron tersebut dan mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru (Valko, 2007). Apabila tubuh terpapar oleh radikal bebas, maka radikal bebas tersebut akan mencari sel-sel atau senyawa-senyawa yang mudah untuk terikat sehingga akan membentuk senyawa yang lebih stabil. Jika tidak, radikal bebas tersebut akan mengikat sel-sel tubuh dan membentuk radikal baru sehingga ketika diakumulasikan akan mampu merusak jaringan tubuh dan menyebabkan penyakit. Oleh karena itu, antioksidan pada tubuh berperan sebagai senyawa pembentukan radikal bebas.

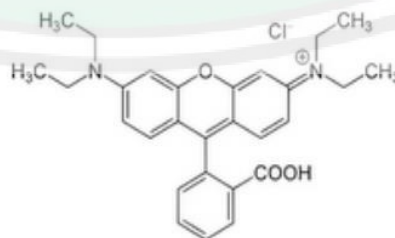
2.3. Rhodamin B

Penentuan mutu bahan makanan pada umumnya sangat bergantung pada beberapa faktor diantaranya cita rasa, warna tekstur, dan nilai gizinya; disamping itu ada faktor lain, misalnya sifat mikrobiologis. Tetapi sebelum faktor – faktor lain dipertimbangkan, secara visual faktor warna tampil lebih dahulu dan kadang-kadang sangat menentukan. (Cahyadi, 2009). Selain sebagai faktor yang ikut menentukan mutu, warna juga dapat digunakan sebagai indikator kesegaran atau kematangan. Baik tidaknya cara pencampuran atau cara pengolahan dapat ditandai dengan adanya warna yang seragam dan merata (Winarno, 1995). Warna makanan juga memegang peranan utama dalam penampilan makanan, karena meskipun makanan tersebut lezat, tetapi penampilannya tidak menarik waktu disajikan, akan

mengakibatkan selera orang yang akan memakannya menjadi hilang (Moehyi, 1992).

Jenis pewarna yang sering ditemukan dalam beberapa produk pangan diantaranya adalah Sunset Yellow dan Tartrazine. Tartrazine dan Sunset Yellow secara komersial digunakan sebagai zat aditif makanan, dalam pengobatan dan kosmetika yang sangat menguntungkan karena dapat dengan mudah dicampurkan untuk mendapatkan warna yang ideal dan juga biaya yang rendah dibandingkan dengan pewarna alami (Pedro, 1997).

Di samping itu terdapat pula pewarna sintetis Rhodamin B ditemukan dalam produk pangan yang seharusnya digunakan untuk pewarna tekstil. Walaupun memiliki toksisitas yang rendah, namun pengkonsumsian dalam jumlah yang besar maupun berulang-ulang menyebabkan sifat kumulatif yaitu iritasi saluran pernapasan, iritasi kulit, iritasi pada mata, iritasi pada saluran pencernaan, keracunan, dan gangguan hati (Trestianti, 2003). Pemakaian zat pewarna makanan yang berbahaya telah ditetapkan pada Peraturan Menteri Kesehatan No. 33 Tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan, bahwa rhodamin B merupakan bahan tambahan pangan (BTP) yang dilarang penggunaannya dalam makanan.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Rhodamin B (Wisnu, 2008)

Rhodamin B adalah bahan kimia yang digunakan untuk pewarna merah pada industri tekstil plastik dan kain. Kelebihan dosis rhodamin B bisa menyebabkan kanker, keracunan, iritasi paru-paru, mata, tenggorokan, hidung, dan usus. Masih adanya penggunaan zat berbahaya pada makanan karena efek yang ditimbulkan dari mengkonsumsi makanan tercemar tersebut tidak langsung seketika terasa. Penyakit akan timbul setelah beberapa tahun kemudian akibat residu yang mengendap dalam tubuh. Berbeda saat keracunan makanan karena kurang higienitas bisa terasa setelah mengkonsumsi suatu makanan (Surati, 2014).

Rhodamin B secara ekstensif diabsorpsi oleh traktus gastrointestinal dan dimetabolisme pada anjing, kucing, dan tikus dengan hanya 3-5% dari dosis rhodamin B yang dimasukkan dapat ditemukan dalam bentuk aslinya/tanpa perubahan di urin dan feces (Sylvia, 2005). Perjalanan metabolisme rhodamin B hingga bisa menjadi salah satu penyebab kerusakan organ secara sistemik disebabkan oleh sifatnya yang polar. Akibat sifat polarnya tersebut, rhodamin B yang tak termetabolisme oleh hepar akan menyebar mengikuti aliran darah dengan berinteraksi dengan asam amino dalam globin darah, menciptakan *globin adduct*. Pengertian *adduct* adalah suatu bentuk kompleks saat senyawa kimia berikatan dengan molekul biologi. Tujuan utama penentuan level *adduct* adalah sebagai salah satu parameter risiko paparan senyawa mutagenik dan karsinogenik

Hasil analisis berupa penelitian menyatakan bahwa rhodamin B dapat membahayakan kesehatan manusia yaitu tidak dapat dicerna oleh tubuh dan akan mengendap secara utuh dalam hati sehingga dapat menyebabkan keracunan hati.

Pengaruh toksisitas yang teramat biasanya bersifat akut saja yaitu yang pengaruhnya cepat terjadi, sedangkan pengaruh yang bersifat kronis tidak dapat diketahui secara cepat karena manusia yang normal memiliki toleransi yang tinggi terhadap racun dalam tubuh dengan adanya mekanisme detoksifikasi. Selain itu pembeli juga diduga tidak mengonsumsi menu yang sama setiap harinya. Efek toksik yang disebabkan oleh makanan yang mengandung pewarna sintetis yang tidak diizinkan dapat timbul pada manusia karena golongan pewarna sintetis tersebut memang bukan untuk dimakan manusia (Sumarlin, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Djarasmati (2004), menyatakan bahwa Uji toleransi zat warna rhodamin B terhadap hewan menunjukkan terjadinya perubahan bentuk dari organisme sel dalam jaringan hati dari normal ke patologis. Sel hati mengalami perubahan menjadi nekrosis dan jaringan disekitarnya mengalami disintegrasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya piknotik dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak, dan sitoklis dari sitoplasma. Degenerasi lemak terjadi akibat terhambatnya pasokan energi dalam hati yang digunakan untuk memelihara fungsi struktur endoplasmik sehingga mengakibatkan penurunan proses sintesa protein yang menyebabkan sel hati kehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida sehingga mengakibatkan nekrosis hati.

Metabolisme senyawa xenobiotik seperti rhodamin B dimetabolisme di dalam hati melalui dua tahapan yaitu tahap oksidasi yang dikatalis oleh sekelompok enzim monooksidase sitokrom P450 (CYP450) dan tahap berikutnya adalah hidrolisis produk tahap pertama menjadi senyawa polar yang spesifik.

Rhodamin B masuk ke dalam tubuh melalui proses ingesti, yang kemudian diserap oleh vena porta hepatica akan dimetabolisme di hepar. Proses metabolisme rhodamin B pada tahap 1 terjadi dietilasi yaitu rhodamin B (9-(*o*-carboxyphenyl)-6-(diethylamino)-3H-xanthen-3-ylidene) diethylamonium chloride menjadi 3',6'-diaminofluran dan N',N'-dietil -3',6' diaminofluran. Kedua senyawa produk tahap pertama merupakan senyawa radikal yang dapat beredar melalui pembuluh darah hingga merusak jaringan tubuh termasuk ginjal. Pada tahap 1, CYP mengaktivasi senyawa klorin menghasilkan radikal bebas yang sangat berbahaya karena memiliki reaktivitas yang tinggi untuk mencapai kestabilan (Roosdiana, 2017)

Tikus yang diinduksi dengan rhodamin B dosis 22,5 mg/kgBB selama 15 hari mempunyai aktivitas SOD yang menurun secara signifikan. Rhodamin B di dalam tubuh akan dimetabolisme menghasilkan senyawa klorin yang reaktif, senyawa klorin ini akan berusaha mencapai kestabilan dengan cara mengikat senyawa lain. Senyawa klorin dalam tubuh dapat menginduksi sistem sitokrom P450 (CYP450) dan menurunkan aktivitas enzim antioksidan dan endogen (Roosdiana, 2017).

Penelitian Mayori (2013), menyatakan bahwa dosis rhodamin B bertingkat yaitu 3,5 mg/gBB; 7 mg/gBB; dan 14 mg/gBB menyebabkan kerusakan pada histologi ginjal mencit. Dosis dan lama pemberian rhodamin B pada mencit memberikan pengaruh nyata terhadap persentase kerusakan ginjal.

2.4. Radikal Bebas

Oksigen merupakan unsur yang penting dalam kehidupan. Unsur ini sangat dibutuhkan oleh organisme aerob karena menghasilkan energi pada proses metabolisme dan respirasi, namun pada kondisi tertentu keberadaannya dapat berimplikasi pada berbagai penyakit dan kondisi degeneratif. Pembentukan radikal bebas dan reaksi oksidasi pada biomolekul akan berlangsung sepanjang hidup. Reaksi oksidasi ini dapat memicu terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif yang dapat merusak struktur dan fungsi sel. Namun, aktivitas radikal bebas tersebut dapat dihambat oleh antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh (Silvia, 2016).

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum digambarkan sebagai senyawa yang tidak memiliki elektron berpasangan. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh yang dapat dipicu oleh bermacam-macam faktor seperti hidrogen peroksida, ozon dan lain-lain. Senyawa-senyawa tersebut dapat dikelompokkan sebagai *Reactive Oxygen Species* (ROS). Spesies oksigen reaktif adalah istilah kolektif yang mencakup semua bentuk reaktif oksigen (Silvia, 2016).

Radikal bebas sering dijumpai pada berbagai proses dalam tubuh, seperti proses respirasi sel atau pembakaran pada waktu metabolisme sel. Radikal bebas sangat reaktif dan tidak stabil karena mengandung satu atau lebih pasangan elektron bebas pada orbital terluarnya, sehingga ada elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan senyawa harus mencapai bentuk kestabilan menjadi non-radikal yang tidak reaktif. Radikal bebas menstabilkan bentuknya dengan

cara bereaksi dengan senyawa di sekelilingnya sehingga mendapatkan pasangan elektron. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus. Jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang diakibatkan faktor stres, 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).

Suatu radikal bebas dapat bermuatan positif atau negatif, maka spesies semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron tidak berpasangan. Sumber radikal bebas dapat berasal dari dalam tubuh kita sendiri (endogen) yang terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran), protein, karbohidrat, dan lemak yang kita konsumsi. Radikal bebas dapat pula diperoleh luar tubuh (eksogen) yang berasal dari polusi udara, asap kendaraan, berbagai bahan kimia, makanan, yang telah hangus (*carbonated*) dan sinar ultra violet (Sari, 2015).

Banyak data ilmiah yang menyatakan bahwa penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, diabetes, tumor dan kanker akibat sumbangan dari radikal bebas yang bersumber terutama dari makanan dan minuman. Kerja radikal bebas pada molekul tubuh berlangsung lama dengan kata lain terakumulasi dalam tubuh dan baru menimbulkan gejala penyakit setelah tahunan (Chalid, 2008). Selain dari makanan, radikal bebas juga disebabkan oleh sinar UV. Sinar UV hanya merupakan sebagian kecil dari spektrum sinar matahari tetapi sinar ini

paling berbahaya bagi kulit karena reaksi-reaksi yang ditimbulkannya berpengaruh buruk terhadap kulit manusia. Dalam kondisi yang berlebih, sinar UV dapat menimbulkan beberapa masalah terhadap kulit, mulai dari kulit kemerahan, pigmentasi, bahkan dalam waktu lama menyebabkan resiko kanker. Radikal bebas yang dihasilkan akan menyebabkan kerusakan DNA, yang berdampak pada proliferasi sel secara terus menerus sehingga menjadi awal terbentuknya kanker. Efek buruk tersebut timbul karena adanya stress oksidatif yang terjadi setelah adanya paparan sinar UV (Sari, 2015).

Komponen terpenting membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Jika komponen ini sudah diserang oleh radikal bebas, maka struktur dan fungsi membran akan berubah yang dalam keadaan ekstrem akhirnya mematikan sel-sel pada jaringan tubuh. Pada sel kulit, radikal bebas akan merusak senyawa lemak pada membran sel sehingga kulit kehilangan ketegangannya dan muncul keriput. Terjadinya kerusakan protein akibat serangan radikal bebas ini termasuk oksidasi protein yang mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein berada. Contohnya kerusakan protein pada lensa mata yang mengakibatkan katarak. Radikal bebas juga pemicu kerusakan saraf dan otak. Selain itu radikal bebas juga terlibat dalam peradangan, pengapuran tulang, gangguan pencernaan, gangguan fungsi hati, meningkatkan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) yang kemudian menjadi penyebab penimbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah sehingga timbul aterosklerosis atau lebih dikenal dengan penyakit jantung koroner (Khaira, 2010).

Sumber radikal bebas ada yang bersifat internal yaitu berasal dari dalam tubuh dan ada yang bersifat eksternal yaitu berasal dari luar tubuh (Khaira, 2010).

1. Radikal Bebas Internal

Radikal bebas internal berasal dari oksigen yang kita hirup. Oksigen merupakan penopang utama kehidupan karena menghasilkan banyak energi namun hasil samping dari reaksi pembentukan energi tersebut akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Khaira, 2010).

Metabolisme aerobik yang merupakan proses penting dalam kehidupan organisme selalu diikuti oleh terbentuknya radikal bebas. Radikal bebas terbentuk saat proses detoksifikasi yang melibatkan enzim sitokrom P-450 di dalam hati. Seperti diketahui, proses metabolisme terjadi karena teroksidasinya zat-zat makanan yang dikonversi menjadi senyawa pengikat energi (adenosin triphospat) dengan bantuan oksigen. Dalam proses oksidasi itu terbentuk juga radikal bebas, yaitu anion superoksida dan hidroksil radikal (Khaira, 2010).

2. Radikal Bebas Eksternal

Sumber radikal bebas eksternal dapat berasal dari : polusi udara, alkohol, rokok, radiasi ultra violet, obat-obatan tertentu seperti anestesi, pestisida, sinar X dan kemoterapi. Radikal bebas juga dihasilkan dari proses pengolahan makanan yang berlebihan. Beberapa cara pengolahan makanan yang akrab dengan kehidupan sehari-hari adalah menggoreng, membakar, atau memanggang dengan suhu yang terlalu tinggi, terutama pada makanan hewani berkadar protein dan lemak tinggi sebaiknya tidak sering dilakukan karena akan menimbulkan dampak terbentuknya radikal bebas (Khaira, 2010).

Minyak goreng yang dipakai berkali-kali sampai berwarna coklat kehitaman dan berbau tengik dapat menjadi penyebab timbulnya radikal bebas pada makanan yang digoreng. Minyak goreng yang sudah rusak tersebut tidak layak dipakai lagi karena dapat melepaskan senyawa peroksida dan epoksida yang bersifat karsinogenik. Zat pengawet makanan seperti formaldehid/formalin pada bakso atau tahu, zat warna tekstil seperti *methanyl yellow* pada kerupuk, serta rhodamin pada sirup, ternyata dapat merangsang terbentuknya radikal bebas (Khaira, 2010).

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh. Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein serta DNA termasuk polisakaridanya. Sel dalam tubuh akan diserang oleh radikal bebas dengan merusak membran sel. Membran sel dirusak dengan cara radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak *plyunsaturated* dinding sel. Radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksida lipid terbentuk dalam rantai yang semakin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel. Apabila membran sel telah rusak maka mudah bagi radikal bebas untuk menyerang komponen sel, yaitu protein, asam nukleat, lipid, dan polisakarida. Basa DNA yang berada dalam sel juga akan dirusak radikal bebas sehingga mengacaukan sistem informasi genetika, mutasi sel, dan membentuk sel kanker (Bangun, 2005).

Tubuh manusia dapat menetralsir radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Setiap sel di dalam tubuh manusia dapat menahan 1.000-10.000 serangan radikal bebas yang menyerang DNA setiap hari. Apabila radikal bebas

tinggi, maka kandungan antioksidan menurun sehingga tubuh kekurangan antioksidan dalam sistem pertahanannya (Bangun, 2005).

2.5. Vitamin C

Vitamin C adalah makanan penting antioksidan dan secara signifikan menurunkan efek samping spesies reaktif seperti reaktif oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan dengan reaksi oksidatif pada makromolekul seperti lipid, DNA, dan protein, yang mana terlibat dalam penyakit kronis termasuk neurodegenerative penyakit. Apalagi menurut penelitian, stres telah terbukti menyebabkan penurunan tingkat GSH dan vitamin C, yang melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif. Selain polifenol, terutama vitamin E, karotenoid dan vitamin C telah dikaitkan dengan sifat antioksidan (Lung, 2012).

Vitamin C juga disebut sebagai elektron donor (pemberi elektron) sehingga termasuk dalam senyawa anti-oksidan. Vitamin C sebagai pemberi elektron, juga ini berarti sebagai agen reduktor, berasal dari sifat ikatan ganda antara C-2 dan C-3 dari cincin lakton 6-karbon tersebut. Vitamin C dapat mencegah senyawa-senyawa lain mengalami oksidasi. Secara alamiah vitamin C itu sendiri yang mengalami oksidasi (Febrianti, 2015).

Asam askorbat (Vitamin C) merupakan golongan antioksidan yang sering digunakan baik pada sediaan oral maupun sediaan topikal. Asam askorbat diketahui dapat menghalangi pembentukan radikal bebas dan menstimulasi sistem imunologi kulit (Sutarna, 2015).

Vitamin C (asam askorbat) terdiri dari suatu cincin carbon lakton-6 dengan 2, 3-enodiol moiety dan menunjukkan aktivitas antioksidan akibat kelompok

enodiol. Asam askorbat merupakan suatu antioksidan alamiah yang dapat menangkap ROS dan memiliki antikarsinogen. Perubahan pertamanya menjadi asam semi-dehidroaskorbat dengan memberikan satu hidrogen kedua dan elektron. Asam askorbat L dan L-asam askorbat mempertahankan aktivitas vitamin C (Syamsudin, 2013).

Mekanisme asam askorbat sebagai antioksidan didasarkan pada donor atom hidrogen pada radikal lipid, dan pelepasan molekul oksigen. Asam askorbat merupakan suatu penyumbang elektron yang sangat baik karena potensinya menurunkan satu elektron standar rendah, sehingga memungkinkan untuk menghasilkan asam askorbat semi-dehidro yang relatif stabil. Asam dehidroaskorbat juga mudah dikonversi menjadi asam askorbat (Syamsudin, 2013).

2.6. Organ Manusia

Tubuh kita merupakan suatu sistem yang terorganisir dan memiliki sistem pengaturan yang selalu saling berkoordinasi untuk mempertahankan kondisi tubuh agar selalu dalam keadaan stabil secara fisiologi. Jika terjadi gangguan secara fisiologi, maka tubuh akan selalu merespon dan berusaha untuk dapat mengembalikan ke keadaan normal melalui suatu mekanisme umpan balik negatif dan positif. Sebagai contoh jika tekanan darah turun, maka reseptor sensorik akan mengirimkan sinyal ke pusat kontrol otak. Pusat kontrol ini akan mengirimkan sinyal saraf ke dinding arteri untuk berkonstriksi. Ketika tekanan darah naik, sistem ini diaktivasi. Konsep ini dikenal dengan istilah homeostatis (Chalik, 2016).

Agar tubuh dapat berfungsi secara optimal, kondisi di dalam tubuh disebut sebagai lingkungan internal (CES; cairan ekstrasel) harus diatur dengan sangat hati-hati. Oleh karena itu beberapa variabel penting, seperti suhu tubuh, tekanan darah, kandungan oksigen dan karbon dioksida dari darah, juga keseimbangan elektrolit secara aktif dipertahankan dalam batas fisiologi yang sempit. Kemampuan sistem fisiologi tubuh untuk mempertahankan keadaan di dalam tubuh yang relatif konstan disebut homeostatis. Homeostatis (*homeo* artinya “yang sama”; *statis* artinya “berdiri atau diam”). Istilah homeostatis diperkenalkan pertama kali oleh W.B.Cannon untuk menjelaskan berbagai proses fisiologik yang berfungsi untuk memulihkan keadaan normal setelah terjadi gangguan. Homeostatis sangat penting karena sel dan jaringan tubuh hanya akan tetap hidup dan dapat berfungsi secara efisien ketika kondisi internal ini dipertahankan dengan baik (Chalik, 2016).

Tubuh terdiri dari beberapa sistem, salah satunya adalah sistem perkemihan. Sistem perkemihan adalah suatu sistem yang di dalamnya terjadi penyaringan darah sehingga darah bebas dari zat yang tidak digunakan oleh tubuh. Zat ini akan larut dalam air dan dikeluarkan berupa *urine*. Zat yang dibutuhkan tubuh akan beredar kembali dalam tubuh melalui pembuluh darah kapiler ginjal, masuk ke dalam pembuluh darah dan beredar ke seluruh tubuh. Sistem perkemihan merupakan sistem rangkaian organ yang terdiri atas ginjal, ureter, vesika urinaria, dan uretra (Syaifuddin, 2009).

2.6.1. Sistem Perkemihan

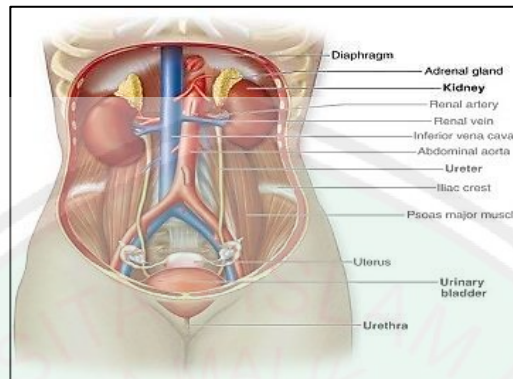
Sistem perkemihan merupakan organ vital yang berperan penting dalam melakukan ekskresi dan melakukan eliminasi sisa-sisa hasil metabolisme tubuh, dan dalam keseimbangan cairan dan elektrolit. Sistem ini secara kontinu membuang dan mereabsorpsi air dan substansi terlarut dalam darah, serta mengeliminasi setiap substansi yang tidak dibutuhkan dalam tubuh (Wylie, 2011).

Sistem perkemihan mempunyai fungsi sebagai berikut: (Muttaqin, 2014)

- a. Meregulasi volume darah dan tekanan darah dengan mengeluarkan sejumlah cairan ke dalam urin dan melepaskan eritropoetin, serta melepas rennin
- b. Melakukan kontribusi stabilisasi pH darah dengan mengontrol jumlah keluarnya ion hidrogen dan ion bikarbonat ke dalam urin
- c. Menghemat pengeluaran nutrisi dengan memelihara ekskresi pengeluaran nutrisi tersebut pada saat proses eliminasi produk sisa, terutama pada saat pembuangan nitrogen seperti urea dan asam urat.
- d. Membantu organ hati dalam mendetoksikasi racun selama kelaparan, deaminasi asam amino yang dapat merusak jaringan.

Sistem perkemihan terdiri atas ginjal, kandung kemih, dan uretra. Sistem perkemihan mempunyai dua ginjal untuk menjaga fungsi ekskresi. Organ ini memproduksi urin yang berisikan air, ion-ion, dan senyawa-senyawa *solute* yang kecil. Urin meninggalkan kedua ginjal dan melewati sepasang ureter menuju dan ditampung sementara pada kandung kemih, selanjutnya terjadi proses ekskresi urin yang dinamakan miksi, terjadi ketika adanya kontraksi otot-otot kandung

kemih menekan urin untuk keluar melewati uretra dan keluar dari tubuh (Muttaqin, 2014).



Gambar 2.2. Sistem Perkemihan (Syaifuddin, 2009)

2.7. Ginjal

Ginjal merupakan organ yang terpenting dalam mempertahankan homeostatis cairan tubuh. Berbagai fungsi ginjal untuk mempertahankan homeostatis dengan mengatur volume cairan, keseimbangan osmotik, asam-basa, ekskresi sisa metabolisme, dan sistem pengaturan hormonal dan metabolisme. Ginjal terletak dalam rongga abdomen retroperitoneal kiri dan kanan kolumna vertebralis, dikelilingi oleh lemak dan 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 (Syaifuddin, 2009).

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 vertebrata torakalis, sisi permukaannya cembung, dan di atas setiap ginjal terdapat sebuah kelenjar suprarenal (Syaifuddin, 2009).

Ginjal mempertahankan keseimbangan garam dan mengontrol osmolaritas cairan ekstrasel dengan mempertahankan keseimbangan cairan ini dengan mengatur keluaran garam dan urine sesuai kebutuhan untuk mengkompensasi asupan dan kehilangan abnormal dari air dan garam tersebut. Kebutuhan cairan yang adekuat penting bagi ginjal. Ginjal merupakan organ vital karena mempunyai fungsi yang tidak dapat digantikan oleh organ lain. Fungsinya antara lain: ekskresi produk sisa metabolik dan bahan asing, pengaturan keseimbangan cairan dan elektrolit, pengaturan osmolalitas cairan tubuh dan konsentrasi elektrolit, pengaturan tekanan arteri, pengaturan keseimbangan asam basa, sekresi-metabolisme-ekskresi hormon, glukoneogenesis (Guyton, 2006).

Ginjal merupakan organ yang berpengaruh terhadap farmakokinetika obat, karena sebagian besar darah melewati ginjal, hipertonisitas medulla ginjal sehingga obat dan metabolitnya mudah terkonsentrasi dalam ginjal dan obat terkonsentrasi dalam sel-sel tubulus ginjal sebelum diekskresikan kedalam urin (Sukandar, 1997).

Fungsi ginjal mencakup fungsi filtrasi yang terjadi di glomerulus termasuk kapsula bowman yang terletak di bagian korteks ginjal; fungsi sekresi yang terjadi di tubulus ginjal yang terletak sebagian di korteks ginjal dan sebagian di medula dan fungsi ekskresi yang terjadi di tubulus ginjal dan terkumpul di pelvis renis yang merupakan tendon utama *systema collectivus*. Zat-zat yang difiltrasi ginjal dibagi 3 kelompok, yaitu: elektrolit, non elektrolit dan air. Beberapa jenis elektrolit yang penting adalah: natrium, kalium, kalsium, magnesium, bikarbonat, klorida dan fosfat; non elektrolit yaitu: glukosa, asam amino dan metabolit yang

merupakan produk akhir dari proses metabolisme protein: urea, asam urat dan kreatinin (Majdawati,2009).

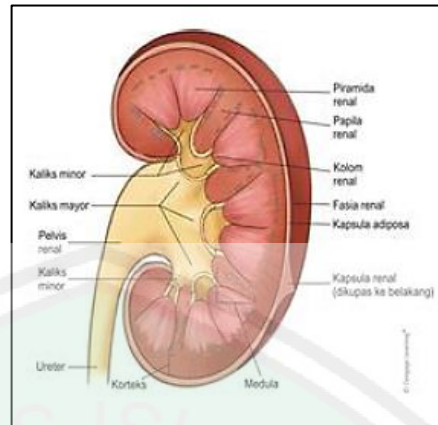
Gangguan fungsi ginjal adalah suatu keadaan yang mengakibatkan penurunan kemampuan ginjal untuk melakukan eliminasi zat-zat yang tidak diperlukan lagi di dalam tubuh (Warianto, 2011). Gangguan ginjal yang kronik akan menyebabkan penurunan laju filtrasi glomerulus (fungsi penyaringan ginjal) sehingga ureum, kreatinin dan asam urat yang seharusnya disaring oleh ginjal untuk kemudian dibuang melalui air seni menurun, akibatnya zat-zat tersebut akan meningkat di dalam darah (Majdawati,2009).

2.7.1. Struktur Ginjal

Ginjal ditutup oleh kapsula tunika fibrosa yang kuat. Apabila kapsula dibuka terlihat permukaan ginjal yang licin dengan warna merah tua. Dengan potongan melintang vertikal dari ginjal melalui *margo lateris* ke *margo medialis* akan terlihat hilus yang meluas ke ruangan sentral yang disebut *sinus renalis* yaitu bagian atas dari *pelvis renalis* (Syafuddin, 2009).

Ginjal terdiri atas: (Syafuddin, 2009)

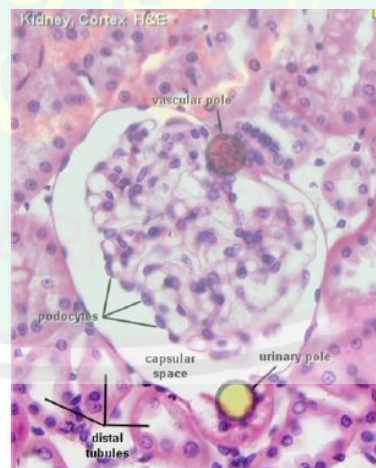
- a. Medula (bagian dalam) : substansi medularis terdiri atas *pyramid renalis*, jumlahnya antara 8-16 buah yang mempunyai basis sepanjang ginjal, sedangkan apeksnya menghadap sinus renalis
- b. Korteks (bagian luar) : substansi kortekalis berwarna coklat merah, konsistensi lunak, dan bergranula. Substansi tepat di bawah fibrosa, melengkung sepanjang basis piramid yang berdekatan dengan sinus renalis. Bagian dalam di antara piramid dinamakan *kolumna renalis*.



Gambar 2.3. Struktur Ginjal (Chalik, 2016)

2.7.2. Struktur Mikroskopis Ginjal

Satuan fungsional ginjal disebut juga *nefron*, mempunyai kurang lebih 1,3 juta. Selama 24 jam nefron dapat menyaring 170 liter darah. Arteri renalis membawa darah murni dari aorta ke ginjal. Lubang-lubang yang terdapat pada renal piramid masing-masing membentuk simpul yang terdiri dari satu badan malpigi disebut glomerulus (Syafuddin, 2009).



Gambar 2.4 Histologi Ginjal Manusia Normal (Slomianka, 2009)

2.7.3. Bagian-Bagian Ginjal

a. Glomerulus

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 (Syaifuddin, 2009).

b. Tubulus proksimal konvulta

Tubulus proksimal konvulta adalah tubulus ginjal yang langsung berhubungan dengan kapsula bowman dengan panjang 15 mm dan diameter 55 μm . Bentuknya berkelok-kelok berjalan dari korteks ke bagian medula lalu kembali ke korteks, sekitar 2/3 dari natrium yang terfiltrasi akan diabsorpsi secara isotonik bersama klorida. Proses ini melibatkan transpor aktif natrium. Peningkatan reabsorpsi natrium akan mengurangi pengeluaran air dan natrium. Hal ini dapat mengganggu pengenceran dan pemekatan *urine* yang normal. Lebih dari 70% kemungkinan kalium direabsorpsi dan dengan mekanisme transport aktif akan terpisah dari reabsorpsi natrium (Syaifuddin, 2009).

c. Gelung Henle (ansa Henle)

Gelung henle berbentuk lurus dan tebal diteruskan ke segmen tipis selanjutnya tebal, panjangnya 12 mm, total panjang ansa henle 2-14 mm. Klorida

secara aktif diserap kembali pada cabang asendens gelung henle dan natrium bergerak secara pasif untuk mempertahankan kenetralan listrik. Sekitar 25% natrium yang difiltrasi diserap kembali karena darah ginjal tidak permeable terhadap air. Kalium terfiltrasi 20-25% diabsorpsi pada pars asendens lengkung henle. Proses pasif terjadi karena gradien elektrokimia yang timbul sebagai akibat dari reabsorpsi aktif klorida pada gelung henle (Syiafuddin, 2009).

d. Tubulus distal konvulta

Bagian ini adalah bagian tubulus ginjal yang berkelok-kelok dan letaknya jauh dari kapsula bowman, panjangnya 5 mm. Tubulus distal dari masing-masing ginjal bermuara ke duktus koligentis yang panjangnya 20 mm. Panjang ginjal seluruhnya ditambah duktus koligentis adalah 45-65 mm (Syiafuddin, 2009).

e. Duktus koligentis medula

Duktus koligentis medula adalah saluran yang secara metabolik tidak aktif. Pengaturan secara halus dari ekskresi natrium *urine* terjadi di duktus koligentis medula dengan aldosteron yang paling berperan terhadap reabsorpsi natrium. Duktus ini memiliki kemampuan mereabsorpsi dan menyekresi kalium. Ekskresi aktif kalium dilakukan pada duktus koligen kortikal dan dikendalikan oleh aldosteron. Reabsorpsi aktif kalium murni terjadi dalam duktus koligen medula (Syiafuddin, 2009).

2.7.4. Glomerulus

Setiap korpuskel renalis terdiri atas seberkas kapiler, yaitu glomerulus yang dikelilingi oleh kapsul epitel beridinding ganda yang disebut kapsula bowman. Lapisan dalam kapsul ini (lapisan viseral) menyelubungi kapiler glomerulus.

Lapisan luar membentuk batas luar korpuskel renalis dan disebut lapisan parietal kapsula bowman. Lapisan parietal kapsula bowman terdiri atas epitel selapis gepeng yang menunjang lamina basalis dan selapis tipis serat retikulin (Junquiera, 2002).

Sel viseral membentuk tonjolan-tonjolan atau kaki-kaki yang dikenal sebagai podosit, yang bersinggungan dengan membran basalis pada jarak-jarak tertentu sehingga terdapat daerah-daerah yang bebas dari kontak antar sel epitel (Price, 2006). Sel endotel kapiler glomerulus merupakan jenis kapiler bertingkap namun tidak dilengkapi diafragma tipis yang terdapat pada kapiler bertingkap lain (Junquiera, 2002).

Glomerulus merupakan gulungan atau anyaman kapiler yang terletak di dalam kapsula bowman dan menerima darah dari *arteriol 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 (Syaifuddin, 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 (Syaifuddin, 2009).

2.8. Mencit (*Mus musculus*)

Penelitian kesehatan meliputi penelitian biomedik, epidemiologi, sosial, serta perilaku. Sebagian penelitian kesehatan dapat memakai model matematik atau simulasi komputer. Jika hasil penelitian akan dimanfaatkan untuk manusia, diperlukan peneltian lanjutan dengan menggunakan bahan hidup (*in vivo*) seperti galur sel dan biakan jaringan. Walaupun demikian, untuk mengamati, mempelajari dan menyimpulkan seluruh kejadian makhluk hidup secara utuh diperlukan gewan coba karena hewan percobaan mempunyai nilai pada setiap bagian tubuh dan terdapat interaksi antara bagian tubuh tersebut. Hewan percobaan dalam penelitian disebut sebagai *semifinal test tube* (Ridwan, 2013).

Hewan percobaan adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut. Dalam menggunakan hewan percobaan untuk penelitian, diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai

berbagai aspek tentang sarana biologis, dalam hal penggunaan hewan percobaan laboratorium. Pengelolaan dilanjutkan dengan perawatan dan pemeliharaan hewan selama penelitian berlangsung, pengumpulan data, sampai akhirnya dilakukan terminasi hewan percobaan dalam penelitian (Ridwan, 2013).

Hewan coba banyak digunakan sebagai penunjang dalam melakukan pengujian-pengujian terhadap obat, vaksin, atau dalam penelitian biologi. Hewan bisa digunakan sebagai hewan coba apabila bebas dari mikroorganisme patogen, mempunyai kemampuan dalam memberikan reaksi imunitas yang baik, kepekaan hewan terhadap suatu penyakit, dan performa atau anatomi tubuh hewan percobaan dikaitkan dengan sifat genetiknya. Hewan coba yang sering digunakan yakni mencit (*Mus musculus*), tikus putih (*Rattus norvegicus*), dan hamster (Tolistiawaty, 2014).

Menurut Kartika (2013), taksonomi mencit (*Mus musculus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mammalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Genus : *Mus*

Spesies : *Mus musculus*



Gambar 2.5 Mencit (*Mus musculus*) (Akbar, 2010)

Mencit (*Mus musculus*) memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih, memiliki siklus estrus teratur yaitu 4-5 hari. Kondisi ruang untuk pemeliharaan menci (*Mus musculus*) harus senantiasa bersih, kering dan jauh dari kebisingan. Suhu ruang pemeliharaan juga harus dijaga kisarannya antara 18-19°C serta kelembaban udara antara 30-70% (Akbar, 2010).

Mencit betina dewasa dengan umur 35-60 hari memiliki berat badan 18-35 g. Lama hidupnya 1-2 tahun, dapat mencapai 3 tahun. Masa reproduksi mencit betina berlangsung 1,5 tahun. Mencit betina maupun jantan dapat dikawinkan pada umur 8 minggu. Lama kebuntingan 19-20 hari. Jumlah anak mencit rata-rata 6-15 ekor dengan berat lahir antara 0,5-1,5 g. Mencit sering digunakan dalam penelitian dengan pertimbangan hewan tersebut memiliki beberapa keuntungan yaitu daur estrusnya teratur dan dapat dideteksi, periode kebuntingannya relatif singkat, dan mempunyai anak yang banyak serta terdapat keselarasan pertumbuhan dengan kondisi manusia (Akbar, 2010).

Sekitar 40-80% penggunaan mencit sebagai hewan model laboratorium karena siklus hidupnya relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi

sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani dan sifat anatomis dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik. Mencit dapat hidup sampai umur 1-3 tahun tetapi terdapat perbedaan usia dari berbagai galur terutama berdasarkan kepekaan terhadap lingkungan dan penyakit. Tingkat kesuburan menci sangat tinggi karena dapat menghasilkan kurang lebih satu juta keturunan dalam kurun waktu kurang lebih 1 tahun, dimana produktivitas seksualnya berlangsung selama 7-8 bulan dengan rata-rata anak yang dilahirkan sebanyak 6-10 anak/kelahiran (Tolistiawaty, 2014).

Mencit bila diperlakukan dengan baik akan memudahkan penanganan, sebaliknya perlakuan yang kasar akan menimbulkan sifat agresif bahkan dapat menggigit pada kondisi tertentu. Mencit betina yang sedang menyusui anak akan mempertahankan sarangnya dan bila anaknya dipegang dengan tangan kotor, induknya akan menggigit dan memakan anak tersebut (Tolistiawaty, 2014).

Pemeriksaan kesehatan dilakukan agar hewan laboratorium yang akan digunakan bebas dari penyakit sehingga penelitian yang dilakukan mendapatkan data yang valid. Pemeriksaan kesehatan pada hewan coba meliputi pemeriksaan kondisi mencit dan kandang (Tolistyawati, 2014).

2.9. Ekstraksi

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan hayati terbesar yang memiliki lebih dari 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi. Hingga saat ini tercatat 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya namun kurang dari 300 tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri farmasi secara reguler. WHO pada 2008 mencatat bahwa 68% penduduk dunia masih menggantungkan

sistem pengobatan tradisional yang mayoritas melibatkan tumbuhan untuk menyembuhkan penyakit dan lebih dari 80% penduduk dunia menggunakan obat herbal untuk mendukung kesehatan mereka. Untuk mendukung hal tersebut maka dilakukan pengembangan obat tradisional melalui penelitian-penelitian ilmiah terbaru dan diproduksi secara modern agar bisa dimanfaatkan sebagai obat untuk kepentingan kesehatan dan kesejahteraan masyarakat. Proses saintifikasi tersebut sangat penting agar penggunaan obat tradisional tidak berdasarkan pengalaman saja tetapi memiliki bukti ilmiah sehingga bisa digunakan dalam sistem pelayanan kesehatan formal dan modern (Mukhriani, 2014).

Salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi (Mukhriani, 2014). Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen aktif yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya (Silvia, 2016). Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Ada beberapa target ekstraksi, diantaranya adalah: (Mukhriani, 2014)

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut: (Mukhairani, 2014)

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya
4. Pelarut semipolar : etil asetat, diklorometan, dan sebagainya
5. Pelarut nonpolar : n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya.

Metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi bahan pangan antara lain ekstraksi menggunakan pelarut (*solvent extraction*), dan ekstraksi menggunakan mesin (*mechanical extraction*). Prinsip ekstraksi menggunakan pelarut (*solvent extraction*) yaitu melarutkan bahan pangan dalam pelarut yang mudah menguap seperti alkohol, heksana, benzena, metanol, etanol, dan lain-lain. Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan. Maserasi merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut tanpa proses pemanasan, yaitu merendam bahan menggunakan pelarut pada jangka waktu tertentu (Silvia, 2016).

Metode ekstraksi bahan alam, salah satunya dikenal dengan metode maserasi yaitu proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada suhu ruang. Ekstraksi maserasi memanfaatkan prinsip kelarutan “*like dissolve like*” dalam mengekstrak suatu senyawa dalam sampel, pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar. Terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel

tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Sehingga, pemecahan dinding dan membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Hal ini membuat ekstraksi senyawa berlangsung sempurna karena lama perendaman yang dilakukan (Baraja, 2008).

Proses ekstraksi maserasi sangat menguntungkan dalam ekstraksi senyawa bahan alam karena dengan perendaman dilakukan pada suhu ruang. Senyawa bahan alam yang akan diekstraksi kebanyakan merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Ekstraksi dengan menggunakan pemanasan dapat merusak struktur senyawa kimia yang terdapat pada senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid. Oleh karena itu, metode paling aman digunakan dalam proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder adalah dengan teknik maserasi (Baraja, 2008). Kelebihan ekstraksi maserasi dibandingkan ekstraksi yang lain yaitu peralatan yang digunakan tidak rumit, pengerjaannya sederhana, tidak menggunakan pemanasan sehingga zat aktif yang terkandung dalam bahan tidak rusak. Ekstraksi maserasi dilakukan di tempat terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi perubahan warna (Voight, 1995).

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel

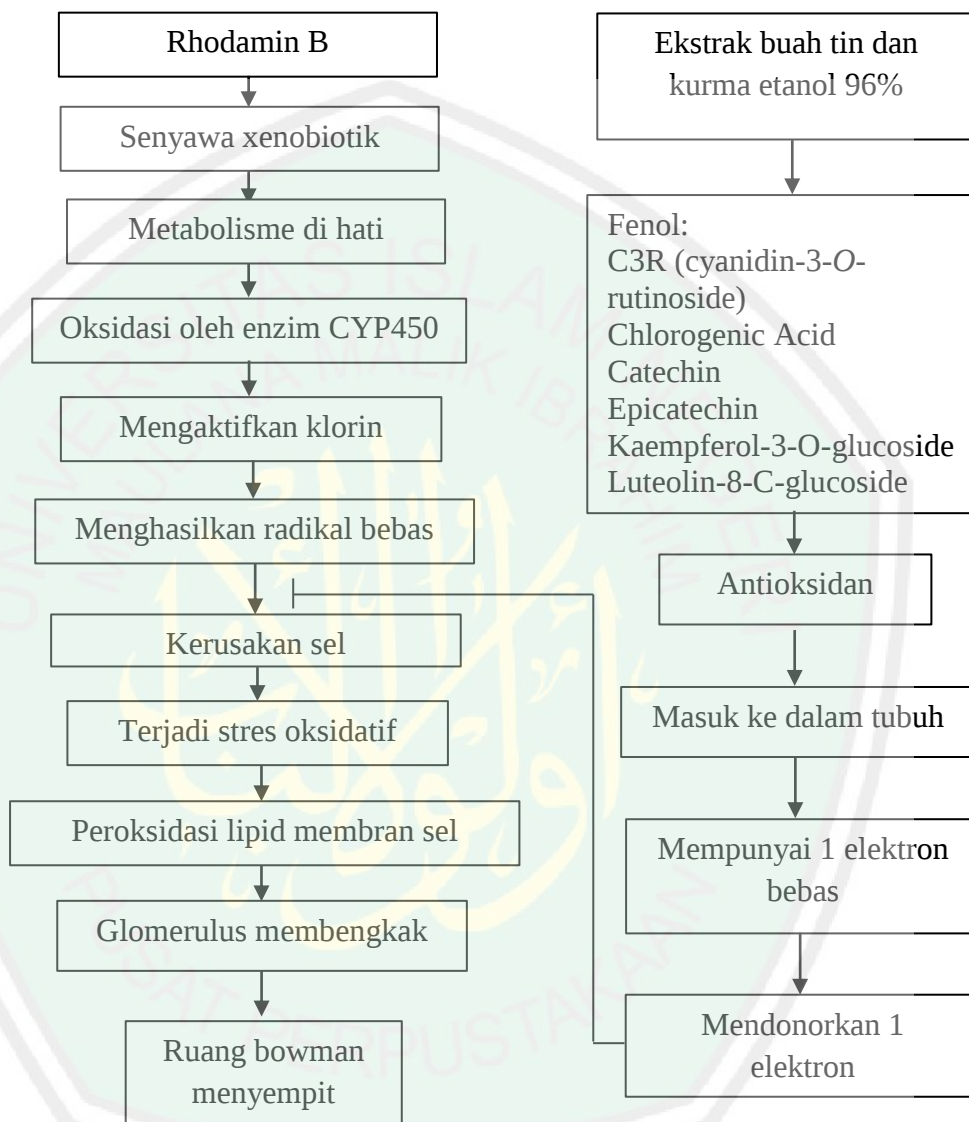
dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun disisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

Pemilihan pelarut harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah terbakar dan selektif. Selektif yaitu hanya menarik zat yang dikehendaki. Polaritas pelarut sangat berpengaruh terhadap daya larut. Indikator kelarutan pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik dan nilai polaritas pelarut (Wibudi, 2006).

Senyawa metabolit sekunder diekstrak menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol dipilih sebagai cairan penyari karena merupakan pelarut universal. Etanol dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder karena sifat kepolarannya yang tinggi, memiliki titik didih cukup rendah sehingga mudah diuapkan, inert dan memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan metanol (Patonah, 2014).

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan: = Diteliti $\longrightarrow$ = Berhubungan
 = Tidak diteliti $\longrightarrow$ | = Menghambat

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.2. Deskripsi Kerangka Konsep

Makanan yang beredar banyak mengandung pewarna, salah satunya adalah rhodamin B. Rhodamin B adalah bahan kimia yang digunakan untuk pewarna merah pada industri tekstil dan kain. Pemakaian rhodamin B secara terus menerus dapat menyebabkan kerusakan ginjal. Rhodamin B termasuk senyawa xenobiotik yang dimetabolisme di dalam hati oleh enzim monooksidase sitokrom P450 (CYP450). Enzim CYP450 mengaktivasi senyawa klorin dan menghasilkan radikal bebas yang sangat berbahaya karena memiliki reaktivitas yang tinggi untuk mencapai kestabilan tubuh. Radikal bebas dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen dapat menimbulkan stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid membran sel, yaitu elektron bebas senyawa radikal akan berikatan dengan elektron makromolekul yang berada di sekitar lipid membran sel. Peroksidasi lipid yang terjadi secara terus-menerus akan menyebabkan rusaknya struktur membran sel dan hilangnya fungsi seluler secara total.

Senyawa penangkap radikal bebas atau antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan. Flavonoid dapat mencegah terjadinya luka akibat radikal bebas dengan mekanisme berikut: penangkapan langsung dari spesies oksigen reaktif (ROS), aktivasi enzim antioksidan, aktivitas pengkelatan logam, reduksi radikal *alfa-thocoperol*, pengambahatan oksidasi, mitigasi stres oksidatif yang disebabkan oleh oksida

nitrat, peningkatan kadar asam urat, peningkatan sifat antioksidan dengan antioksidan molekul rendah . Antioksidan banyak terdapat di alam, salah satunya adalah di dalam buah tin (*F.carica*).

Komposisi kimia yang terdapat pada bagian buah tin adalah pada batangnya mengandung campasterol, hentriacontanol, stigmasterol, euphorbol, ingeol dan taraxerone. Pada daun terdapat 67,6% moisture, 4,3% protein, 1,7% lemak, carotene, bergaptene, stigmasterol, sisterol and tyrosine, ficusin, taraxasterol, betasitosterol, rutin, sapogenin, calotropenyl acetat, lepeolacetate and oleanolic. Getahnya mengandung 2,4% caoutchouc, resin, albumin, cerin, sugar andmaic acid, rennin, proteolytic enzymes, diastase, esterase, lipase, catalase, and peroxidase (Joseph, 2011).

Kandungan senyawa golongan fenol pada buah tin antara lain: C3R (cyanidin-3-O-rutinoside), Chlorogenic Acid, Catechin, Epicatechin, Kaempferol-3-O-glucoside, dan Luteolin-8-C-glucoside (Slatnar, 2011). Selain itu, pada biji juga mengandung asam lemak, oleic, linoleic, palmitic, stearic, arachidic. Komponen tersebut merupakan minyak yang dapat dikonsumsi dan dapat digunakan sebagai pelumasan (Joseph, 2011).

Ginjal terdiri dari lima bagian yaitu glomerulus, tubulus proksimal konvulta, gelung henle (ansa henle), tubulus distal konvulta, dan duktus koligentis medula. Glomerulus berfungsi sebagai filtrasi zat yang berfungsi untuk tubuh manusia, contohnya adalah natrium dan kalium. Glomerulus mempunyai lapisan luar yang disebut kapsula bowman. Penyempitan ruang bowman yang disebabkan oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerja ginjal yang kurang optimal, sehingga

diperlukan antioksidan untuk menanggulangi efek dari radikal bebas. Struktur histologi dari mencit diamati dengan mikroskop guna mengetahui penyempitan dari ruang bowman. Ruang bowman adalah ruang yang terletak diantara glomerulus dan kapsula bowman, berwarna putih dan terletak mengelilingi glomerulus. Preparat discan dengan menggunakan *scan dotslide microscope* dan aplikasi *Olivya*. Pengamatan dilakukan dengan 4 lapang pandang, dan masing-masing lapang pandang diambil 4 titik. Pemberian rhodamin B akan menyebabkan penyempitan pada lebar ruang bowman, sedangkan pemberian ekstrak buah tin (*F. carica*) akan menghambat penyempitan lebar ruang bowman.

3.3. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

H0 = Ekstrak buah tin (*F. carica*) tidak berpengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.

H1 = Ekstrak buah tin (*F. carica*) berpengaruh terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* dalam skala laboratorium dengan rancangan *post test only control group design* yang menggunakan hewan coba berupa mencit betina sebagai objek penelitian. Menurut Suryabrata (2011), tujuan dari *true experimental* adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab akibat dengan cara mengenakan perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan grup kontrol yang tidak diberi perlakuan. Dalam rancangan penelitian ini, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dipilih secara acak, sehingga keduanya dianggap setara. Selanjutnya dilakukan perlakuan pada kelompok perlakuan. Setelah perlakuan diberikan dalam jangka waktu tertentu, maka dilakukan pengukuran variabel terikat pada kedua kelompok tersebut dan hasilnya dibandingkan perbedaannya.

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 4 (empat) bulan yaitu antara bulan Maret 2019- Juni 2019. Tempat pelaksanaan penelitian yaitu:

1. Laboratorium Farmakokinetik, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Laboratorium Botani Farmasi, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Laboratorium Fitokimia, Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4. Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang.

4.3. Populasi dan Sampel

4.3.1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan subjek penelitian (Rutoto, 2007). Populasi dari penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*).

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel adalah sebagian dari subjek dalam populasi yang diteliti, yang sudah tentu mampu secara representatif dapat mewakili populasi (Rutoto, 2007). Sampel penelitian ini dibagi menjadi dua, yaitu sebagai berikut:

A. Kriteria Inklusi

- Mencit BALB/c berkelamin betina
- Berat badan 25-30 gram
- Usia 3-4 bulan
- Mencit dalam keadaan sehat

B. Kriteria Eksklusi

- Sedang bunting atau menyusui
- Mencit tidak aktif
- Cacat fisik

4.3.3. Cara Pengambilan Sampel

Sampel dipilih mencit (*Mus musculus*) 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 dimana kondisi tersebut dapat mempengaruhi psikologi mencit (Suhendi, 2011).

4.3.4. Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada setiap kelompok dihitung dengan rumus Federer (1991) yaitu:

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

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

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

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Nilai (n) adalah jumlah subjek untuk setiap perlakuan dan (t) adalah jumlah perlakuan. Berdasarkan perhitungan diatas, maka jumlah subjek pada setiap perlakuan adalah 5 ekor, dengan jumlah keseluruhan 25 ekor.

4.4. Variabel penelitian

A. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan (Sugiyono, 2017). Variabel bebas: dosis ekstrak buah tin (*F.carica*).

B. Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat (Sugiyono, 2017). Variabel terikat: lebar kapsula bowman.

C. Variabel kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan (Sugiyono, 2017). Variabel kontrol: dosis rhodamin B.



4.5. Definisi Operasional Variabel

Tabel 4.1 Definisi Operasional Variabel

Jenis variabel	Nama variabel	Definisi operasional	Skala
Bebas	Ekstrak buah tin (<i>F.carica</i>) dosis peroral bertingkat	Ekstrak buah tin (<i>F.carica</i>) diperoleh dengan cara ekstraksi metode maserasi pelarut etanol 96%. Berdasarkan rujukan, konsumsi fenol yang dianjurkan pada manusia adalah >500mg/hari (Lukitasari, 2014). Menurut Dewi, 2015 yang melakukan uji antioksidan pada tikus menggunakan dosis bertingkat 250, 500, 1000 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan dosis optimum antioksidan pada tikus adalah 1000mg/kgBB.	Rasio
Terikat	Lebar ruang bowman	Dilakukan pembedahan terhadap mencit betina dan diambil organ ginjal, kemudian diamati histologi dari glomerulus. Pengamatan diukur dengan membandingkan lebar ruang bowman. Ruang bowman adalah ruang yang terletak diantara glomerulus dan kapsula bowman, berwarna putih dan terletak mengelilingi glomerulus. Pengukuran lebar ruang bowman dilakukan pada 4 (empat) titik kemudian hasil akan dirata-rata	Rasio
Kontrol	Rhodamin B	Rhodamin B merek Solarbio diberikan peroral dengan dosis yang sama pada semua kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kontrol negatif, tin 1, tin 2, dan tin 3. Serbuk rhodamin B sebanyak 0,0032 gram dilarutkan dengan aquadest sebanyak 12,5 ml dan diberikan sebanyak 0,5 ml/ekor dilakukan selama 15 hari (Mayori,2013). Rhodamin B diberikan sebelum pemberian ekstrak dan vitamin C.	Rasio

4.6. Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1. Alat

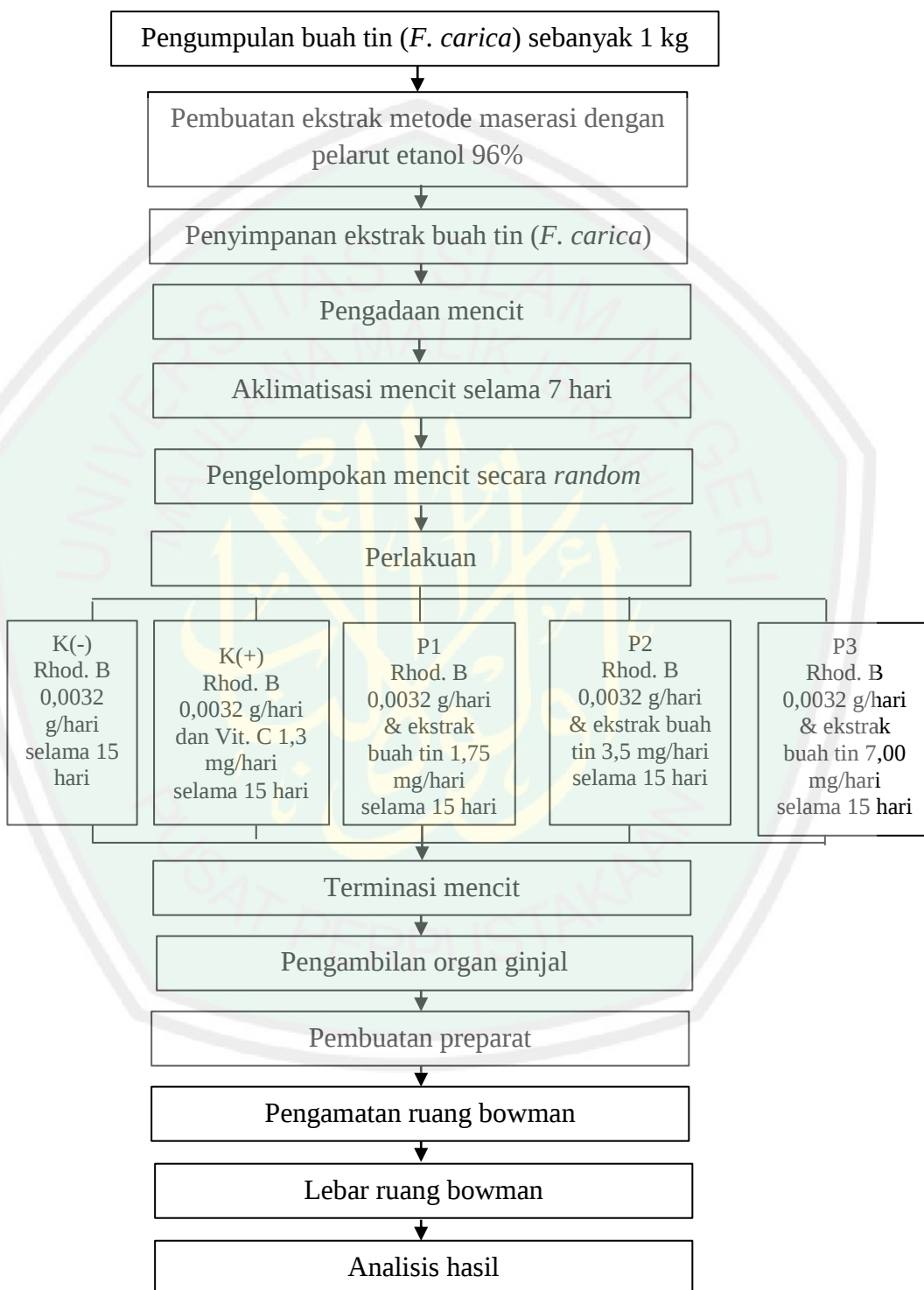
Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain kandang mencit, *sprit* 3 cc merek Terumo, pisau bedah, jarum pentul, gunting, pinset, botol kaca 60 ml, gelas ukur merek Iwaki, gelas beker 100 ml merek Duran, gelas beker 500 ml merek Iwaki, gelas ukur 50 ml merek Iwaki, pipet ukur 10 ml merek Iwaki, mikroskop, batang pengaduk, pipet volume 10 ml, *push ball*, neraca analitik merek Ohaus, spatula, label, sonde mencit, kaca arloji, kaki tiga, kasa, Bunsen, dan *scan dotslide microscope*.

4.6.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina galur BALB/c dibeli dari pedagang mencit, rhodamin B, buah tin (*F. carica*) dari petani buah tin di Malang, vitamin C, kloroform, etanol 96%, aquadest dari toko Sinar Gemilang Malang, CMC Na dari toko Avia Malang, pakan mencit jenis Br 1, air minum merek *Cleo*, formalin.

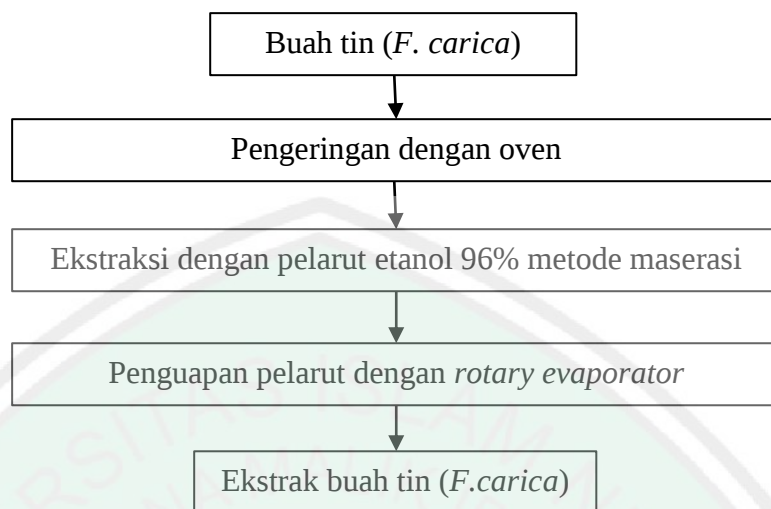
4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Alur Penelitian



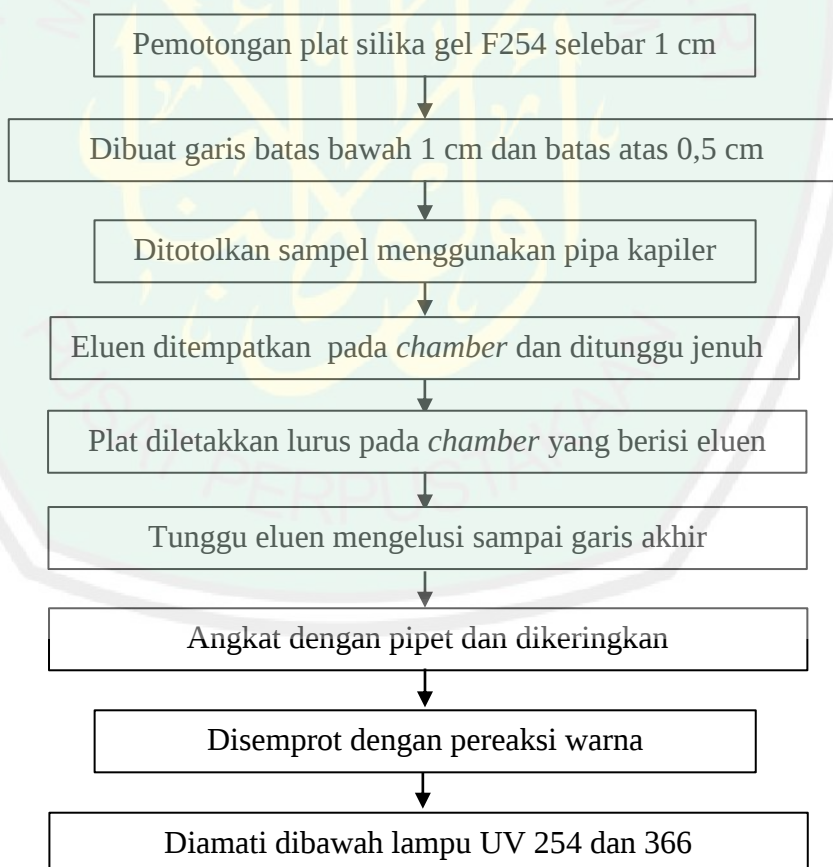
Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.7.2. Alur Proses Ekstraksi



Gambar 4.2 Alur Proses Ekstraksi

4.7.3. Proses KLT (Kromatografi Lapis Tipis)



Gambar 4.3 Alur Proses KLT

4.8. Analisis Data

Analisis data menggunakan uji statistika dengan menggunakan *Analisis of Variance* (ANOVA) dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS).

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 kurang dari 50 (25 sampel). Distribusi normal baku adalah data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk p dan diasumsikan normal. Jika nilainya diatas 0,05 maka distribusi data dinyatakan memenuhi asumsi normalitas, dan jika nilainya dibawah 0,05 maka diinterpretasikan sebagai tidak normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas berupa Levene untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak. Jika nilainya diatas 0,05 maka homogenitas data dinyatakan memenuhi asumsi homogen, dan jika nilainya dibawah 0,05 maka diinterpretasikan sebagai tidak homogen.

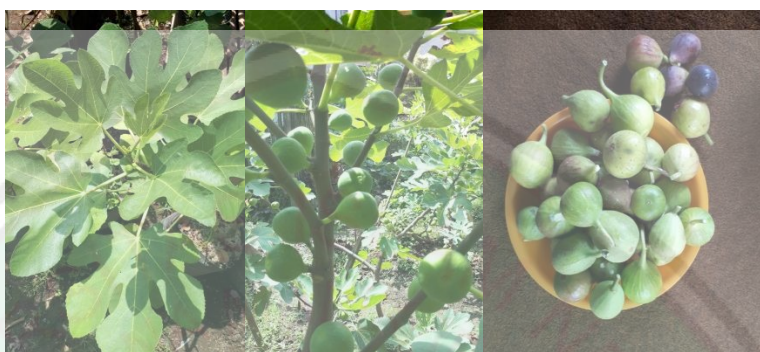
2. Uji Parametik

Uji parametik kini dilakukan untuk menguji perbedaan pengaruh terhadap kelompok yang telah dipapar rhodamin B dengan pemberian ekstrak buah tin (*F. carica*) terhadap histologi glomerulus. Uji *one way* ANOVA dilakukan karena penelitian ini berupa analisis komparatif numerik tidak berpasangan >2 kelompok. Bila tidak memenuhi syarat uji parametik (distribusi data tidak normal) maka dapat dilakukan dengan uji non parametrik dengan menggunakan *Kruskal-Wallis*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Determinasi Buah Tin (*F. carica*)



Gambar 5.1 Daun, batang, dan buah *Ficus carica* (Dokumentasi pribadi, 2019)

Buah tin (*F. carica*) diperoleh dari petani buah Tin yang berasal dari Poncokusumo, Malang, Jawa Timur. Buah tin (*F. carica*) yang didapat kemudian dilakukan determinasi di Materia Medica, Batu. Tujuan dari determinasi adalah untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Diniatik, 2015). Hasil dari determinasi dengan nomor surat 074/ 375A/ 102.7/ 2018 menyatakan bahwa spesimen tumbuhan tersebut adalah *Ficus carica*. Buah tin memiliki kulit yang keras (berwarna hijau, hijau-kecoklatan, coklat, atau ungu), bagian dalamnya berwarna putih berisi biji dan daging buah. Biji buah tin (*F. carica*) dapat berukuran besar, sedang, atau kecil dengan kisaran jumlah 30 sampai 1.600 biji per buah (Joseph, 2011).

5.2. Proses Ekstraksi

Buah tin (*F. carica*) sebanyak 2 kg yang didapat dari petani kemudian dibersihkan dari getah, dicuci bersih dengan air mengalir agar kotoran yang

menempel pada kulit buah dapat hilang. Selanjutnya, buah tin dipotong tipis memanjang untuk memudahkan dalam proses pengeringan di dalam oven. Pengeringan dilakukan menggunakan oven suhu 40°C selama 48 jam.

Pengeringan merupakan kegiatan yang sangat penting dalam pengolahan tanaman obat karena kualitas produk yang digunakan sangat dipengaruhi oleh proses pengeringan yang dilakukan. Tujuan pengeringan adalah mencegah pertumbuhan jamur atau mikroorganisme dan penguraian senyawa aktif oleh reaksi enzimatik dan proses hidrolisis karena kandungan air yang tinggi, agar simplisia yang dihasilkan tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang relatif lama (Diniatik, 2015). Proses pengeringan berpengaruh terhadap kandungan senyawa kimia maupun efek farmakologis yang terkandung dalam suatu tanaman obat terutama senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan. Kandungan fenolik dan flavonoid total dalam suatu simplisia yang mempunyai aktivitas antioksidan kestabilannya dapat dipengaruhi oleh proses pengeringan (Luliana, 2016). Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat (Winangsih, 2013).

Buah tin yang telah kering dikeluarkan dari oven untuk dilakukan proses selanjutnya, yaitu penyerbukan (*grinding*). Penyerbukan sangat penting karena dapat meningkatkan luas permukaan partikel yang kontak dengan pelarut sehingga pelarut dapat masuk ke dalam serbuk dan akan mengeluarkan zat kimia yang akan bercampur dengan zat penyari sehingga proses penyarian dapat berlangsung efektif (Andriyani, 2010). Proses *grinding* dilakukan di Materia

Medica, Batu. Serbuk buah tin (*F. carica*) yang didapat terasa halus dan berwarna coklat muda.

Proses ekstraksi buah tin (*F. carica*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi dengan teknik maserasi dilakukan dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang. Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan dalam keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Susanty, 2016).

Sebanyak 150 gram serbuk buah tin dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 ml, ditambahkan 200 ml etanol 96%. Pelarut etanol dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel simplisia sehingga proses ekstraksi menjadi lebih efisien dalam menarik komponen polar hingga semi polar (Simaremare, 2014). Direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk dengan batang pengaduk. Pengadukan diperlukan untuk melarutkan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia, hingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga oleh adanya derajat perbedaan konsentrasi sehingga yang sekecil-kecilnya antara larutan sek dengan larutan sel (Andriyani, 2010).

Larutan kemudian didiamkan selama 18 jam berikutnya. Hasil penyarian dengan cara maserasi perlu dibiarkan dalam waktu tertentu untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi ikut terlarut dalam cairan penyari (Andriyani,

2010). Disaring menggunakan kertas saring, dan ampas yang didapat kemudian diremaserasi dengan pelarut yang sama, yaitu etanol 96% sebanyak dua kali hingga diperoleh filtrat yang hampir jernih. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰C dengan kecepatan putaran 70 rpm dan tekanan 175 Psi. Menurut Nisa (2014), prinsip kerja *rotary evaporator* adalah pemisahan pelarut dengan ekstrak menggunakan penurunan tekanan dengan percepatan putaran labu bulat (pemanasan) sehingga pelarut segera menguap pada suhu dibawah titik didih pelarut sehingga senyawa tidak ikut rusak. Ekstrak yang diperoleh berupa ekstrak cair kental dan diletakkan di botol kaca coklat yang ditutup rapat.



Gambar 5.2 Ekstrak jadi buah Tin (*Ficus carica*)

5.3. Uji Warna dan Kromatografi Lapis Tipis

5.3.1. Uji Warna

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan memberi gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia yang dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Simaremare, 2014).

Ekstrak buah tin (*F.carica*) sebanyak 0,3 gram dilarutkan dengan aquadest panas, diaduk dan dibiarkan sampai temperatur kamar. Larutan kemudian ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk dan disaring. Filtrat yang didapat kemudian dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan dengan sedikit larutan gelatin dan 5 ml NaCl 10%. Jika terjadi endapan putih, menunjukkan adanya tannin. Tabung ketiga diberi beberapa tetes larutan FeCl_3 kemudian diamati terjadinya perubahan warna. Jika terjadi warna hijau kehitaman, menunjukkan adanya tannin, jika pada penambahan gelatin dan FeCl_3 terjadi perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam, menunjukkan adanya senyawa polifenol.

Pereaksi besi (III) klorida digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol/polifenol/tannin. Pengujian dilakukan dengan melakukan penambahan pada FeCl_3 10% diperkirakan akan menimbulkan warna biru tua atau hitam kehijauan. Perubahan warna tidak terjadi dengan penambahan FeCl_3 karena tidak adanya gugus hidroksil yang ada pada senyawa tannin (Simaremare, 2014).

Tabel 5.1 Hasil uji warna ekstrak buah tin (*F. carica*)

Pengujian	Hasil
Tanin	Negatif
Polifenol	Positif

Hasil pada tabel 5.1. dari pengujian warna menunjukkan bahwa ekstrak tidak mengandung tannin ditandai dengan tidak adanya perubahan warna dan juga tidak ada endapan putih. Pada uji ini, ekstrak positif mengandung polifenol, ditandai perubahan warna menjadi hijau kehitaman saat diberi beberapa tetes

FeCl_3 dan tidak menunjukkan adanya endapan putih. Gambar hasil uji warna dari ekstrak buah tin ditunjukkan pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil uji warna ekstrak buah tin (*F. carica*)

5.3.2. Kromatografi Lapis Tipis

Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan prinsip analit akan bergerak melintasi lapisan fase eluen. Eluen yang merupakan fase gerak akan membawa komponen kimia untuk melewati silika gel pada plat dan memberikan noda yang diukur R_f -nya. Semakin polar suatu senyawa fase diam, semakin besar partisi ke dalam fase diam silika gel, semakin sedikit waktu yang dibutuhkan fase gerak untuk menyusuri plat sehingga semakin pendek jarak tempuh senyawa tersebut (Syahmani, 2017).

Prosedur skrining fitokimia dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu optimasi eluen, skrining dengan eluen dan pengamatan pada *UV cabinet*. Pada optimasi eluen, hal pertama yang dilakukan adalah melarutkan 10 mg ekstrak buah tin kedalam 1 ml etanol 96%. Ekstrak yang telah larut kemudian ditotolkan dengan pipa kapiler 2 mm pada plat silika gel F_{254} yang memiliki sifat polar dengan ukuran 1 x 10 cm. Eluen yang digunakan yaitu berupa butanol : aquadest (6:1) dan metanol : aquadest (9:1) dan dimasukkan kedalam *chamber* hingga kondisi jenuh. Selanjutnya plat KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah

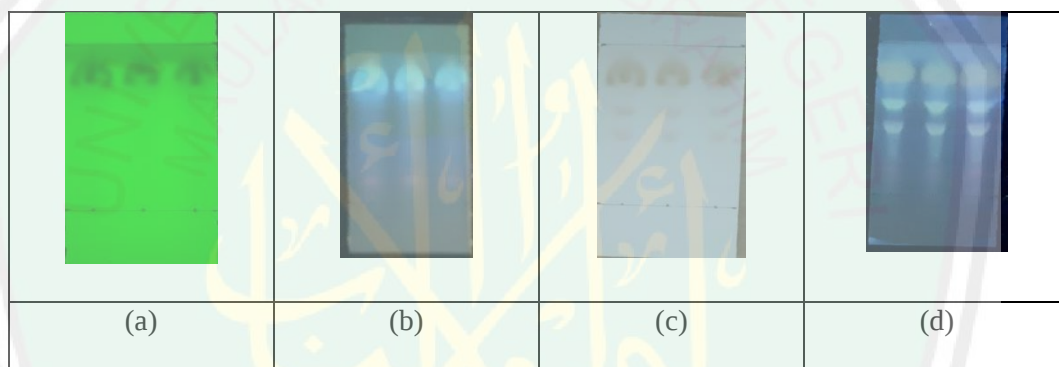
jenuh dan dibiarkan sampai fase gerak mencapai tanda batas yang ditentukan, dilakukan pengamatan dari masing-masing hasil hasil optimasi pada lampu UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm. Hasil yang baik adalah menggunakan metanol : aquadest (9:1) dengan dilihat dari hasil pemisahan golongan senyawa yang baik.

Setelah dilakukan optimasi, kemudian dilakukan skrining fitokimia dengan eluen campuran metanol : aquadest (9:1). Ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan 1 ml etanol 96. Ekstrak yang telah larut kemudian ditotolkan pada plat KLT. Selanjutnya, plat dimasukkan kedalam *chamber* yang berisi eluen yang telah jenuh dan ditunggu hingga eluen bergerak naik sampai tanda batas. Plat KLT yang telah mencapai batas kemudian diangkat guna mencegah rusaknya plot yang muncul, kemudian divisualisasi dengan *UV Cabinet* pada lampu cahaya putih dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Tujuan dari pengamatan adalah agar dapat mengetahui dan mengidentifikasi spot pemisahan dari golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak buah tin. Selanjutnya, plat disemprot dengan menggunakan penampak noda H_2SO_4 10% di lemari asam dan dipanaskan pada pemanas TLC dengan suhu 105°C selama 5 menit.

Tujuan penggunaan penampak noda H_2SO_4 adalah karena bersifat reduktor yang dapat memutuskan ikatan rangkap hingga panjang gelombangnya bertambah dan warna noda dapat dilihat. Mekanisme penampak noda ini dapat disebabkan juga karena gugus OH yang dimiliki H_2SO_4 sehingga berfungsi sebagai ausokrom, dimana ausokrom ini dapat menyebabkan pergeseran batokromik, yaitu pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih panjang pada cahaya tampak

(Gandjar, 2007). Setelah dilakukan pengamatan visualisasi kembali dengan UV *Cabinet* dengan penggunaan lampu cahaya putih dan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm.

Hasil pengamatan pada visualisasi plat KLT dengan UV *Cabinet* terdapat noda tampak yang dapat diamati, yaitu diperoleh 2 titik spot warna yang muncul. Golongan senyawa yang muncul pada KLT menandakan bahwa senyawa polifenol dan flavonoid pada ekstrak buah tin kemungkinan memiliki aktivitas antioksidan yang akan dibuktikan pada uji *in vivo* pada mencit.



Gambar 5.4 Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis dengan fase diam plat KLT F_{254} dan fase gerak methanol:air (9:1). (a) Panjang gelombang 254 nm sebelum disemprot (b) Panjang gelombang 366 nm sebelum disemprot (c) Visible setelah disemprot (d) Panjang gelombang 366 nm setelah disemprot.

5.4. Penanganan Hewan Coba

5.4.1. Pemilihan Hewan Coba

Penggunaan hewan percobaan pada penelitian kesehatan banyak dilakukan untuk uji kelayakan atau keamanan suatu bahan obat dan juga untuk penelitian yang berkaitan dengan suatu penyakit. Berdasarkan itu, maka hewan coba yang digunakan harus sehat atau bebas dari mikroorganisme patogen sehingga hasil penelitian dapat dipertanggungjawabkan (Tolistyawayaty, 2014). Penelitian ini

merupakan penelitian *in vivo* pada hewan coba berupa mencit betina, dengan pembagian sebanyak 5 kelompok. Pemilihan mencit betina didasarkan pada mudahnya terpapar zat toksik, dikarenakan mencit betina mudah mengalami perubahan hormonal dimana perubahan tersebut dapat mempengaruhi psikologi mencit (Suhendi, 2011).

Menurut Ridwan (2013), dalam menggunakan hewan percobaan untuk penelitian diperlukan pengetahuan yang cukup mengenai berbagai aspek tentang sarana biologis, dalam hal penggunaan hewan percobaan laboratorium. Pengelolaan hewan percobaan diawali dengan pengadaan hewan, meliputi pemilihan seleksi jenis hewan yang cocok terhadap materi penelitian. Hewan coba diperoleh Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Mencit yang dipilih memiliki keseragaman berat badan, kesamaan jenis kelamin, dan harus dalam keadaan sehat.

Penelitian yang memanfaatkan hewan coba, harus menggunakan hewan percobaan yang sehat dan berkualitas sesuai dengan materi penelitian. Hewan tersebut dipelihara secara khusus dalam lingkungan yang diawasi dan dikontrol dengan ketat. Hal itu diperlukan agar penelitian bersifat *reproducible*, yaitu memberikan hasil yang sama apabila diulangi pada waktu lain, bahkan oleh peneliti lain. Penggunaan hewan berkualitas dapat mencegah pemborosan waktu, kesempatan dan biaya (Ridwan, 2013).

5.4.2. Aklimatisasi Hewan Coba

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian akan mengalami penderitaan, yaitu: ketidaknyamanan, ketidaksenangan, kesusahan, rasa nyeri dan

terkadang berakhir dengan kematian. Berdasarkan hal tersebut, hewan yang dikorbankan dalam penelitian yang hasilnya dapat dimanfaatkan oleh manusia patut dihormati, mendapat perlakuan yang manusiawi, dipelihara dengan baik, dan diusahakan agar bisa disesuaikan pola kehidupannya seperti di alam (Ridwan, 2013).

Aklimatisasi adalah pemeliharaan hewan coba dengan tujuan adaptasi terhadap lingkungan baru (Hasanah, 2015). Mencit yang diperoleh kemudian diaklimatisasi selama 7 hari. Aklimatisasi hewan coba dilakukan di Laboratorium Farmakokinetik Universitas Islam Negeri Malang.

Selama aklimatisasi, dilakukan pengamatan tentang perubahan fisiologi mencit. Alas tidur harus dapat menyerap kebasahan dan bau dengan baik, serta bebas dari bahan kimia pencemar. Meskipun alas tidur bersifat higroskopis, tetapi tidak boleh sampai menimbulkan dehidrasi. Alas tidur harus lunak, tidak tajam, murah, mudah diganti, dan dapat digunakan untuk sarang (Agustina, 2015). Bahan untuk alas tidur yang dipakai pada penelitian ini adalah sekam. Penggantian sekam dilakukan setiap 3 hari sekali, dan penimbangan berat badan secara berkala setiap satu minggu sekali.

Pemberian minum secara *ad libitum* dengan air minum merk Cleo. Air minum tersedia tanpa dibatasi dan dapat diberikan dalam botol dengan pipa yang dilengkapi “klep” peluru bulat yang terletak di ujung pipa. Menurut Tolistyawati (2014), konsumsi pakan mencit berkisar 3-4 gram perhari dari pakan yang kering atau sekitar 20% dari berat bobot tubuhnya dan kebutuhan air sebanyak 3 ml perhari.

Lingkungan tempat hidupnya juga selalu diperhatikan dan dibersihkan sehingga tidak ada parasit yang menginfeksi. Kandang, botol minum, dan juga alat lainnya yang digunakan dibersihkan minimal seminggu sekali (Tolistiawaty, 2014). Suhu, kelembaban relatif, kualitas udara harus dipertahankan stabil. Harus diperhitungkan daya tampung maksimal ruangan. Pada mencit, suhu yang diperlukan antara 18-26⁰C dengan kelembaban relatif 40-70% (Agustina, 2015).

Mencit sebanyak 25 ekor yang telah diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dibagi secara acak (randomisasi) ke dalam 5 kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Kelima kelompok tersebut yaitu K-, K+, P1, P2, dan P3. Kelompok K- adalah kelompok kontrol yang diberikan rhodamin B sebanyak 0,08 mg/25gBB perhari. Kelompok K+ adalah kelompok kontrol yang diberi rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan vitamin C 1,3 mg/25gBB perhari. Kelompok P1 perhari diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan ekstrak 1,75 mg/25gBB. Kelompok P2 perhari diberikan rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan ekstrak 3,5 mg/ekor. Kelompok P3 perhari diberi rhodamin B 0,08 mg/25gBB dan ekstrak 7,00 mg/25gBB.

5.4.3. Perlakuan pada Hewan Coba

Perlakuan dimulai setelah 1 minggu aklimatisasi. Alat dan bahan perlu dipersiapkan sebelum perlakuan. Alat yang diperlukan meliputi masker, sarung tangan, dan jas lab untuk alat pelindung diri dan sonde untuk memudahkan larutan masuk dalam tubuh mencit. Bahan yang harus disiapkan yaitu bahan yang akan dimasukkan secara peroral ke dalam mencit. Dalam sehari, dibutuhkan sebanyak 2 mg rhodamin B yang dilarutkan dalam 12,5 ml aquadest dan dicampur *ad*

homogen. Setelah itu, vitamin C yang dibutuhkan dalam sehari sebanyak 6,5 mg dilarutkan dalam aquadest sebanyak 2,5 ml. Ekstrak dilarutkan dengan CMC Na 0,1% agar mudah terdispersi dalam larutan. Ekstrak yang perlu ditimbang dalam sehari sebanyak 8,75 mg; 17,5 mg; dan 35 mg kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dengan 2,5 ml larutan CMC Na 0,1%. Setelah larutan siap, kemudian dilakukan induksi per-oral pada setiap kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan, dilakukan pengamatan pada mencit berupa keaktifan dan pengukuran berat badan. Induksi dimulai dari kelompok K-, dilanjutkan kelompok K+, P1, P2, dan P3. Sediaan yang telah dilarutkan kemudian diambil sebanyak 0,5 ml dengan spuit ukuran 3 ml yang jarumnya telah diganti dengan sonde mencit. Pemberian rhodamin B dilakukan bersamaan dengan pemberian vitamin C dan ekstrak. Hal ini diharapkan dapat mengurangi kerusakan organ yang diakibatkan oleh radikal bebas dari rhodamin B.

Mencit dapat dipegang dengan cara memasukkan tangan dengan hati-hati pada kandang, kemudian angkat mencit dengan cara memegang ekor (3-4 cm dari ujung), biarkan mencengkeram kawat atau alas yang kasar. Dengan tangan kiri, jepit tengkuk diantara telunjuk dan ibu jari. Pindahkan ekor dari tangan kanan ke antara jari manis dan jari kelingking kiri. Mencit siap untuk mendapat perlakuan (Eff, 2016). Penelitian ini dilakukan selama 15 hari berturut-turut dengan induksi yang dilakukan pada waktu yang sama.

5.4.4. Pengamatan pada Ruang Bowman

Mencit yang telah diinduksi akan dilakukan terminasi dan pembedahan pada hari ke-16. Terminasi dilakukan dengan cara pemberian zat anestetik berupa

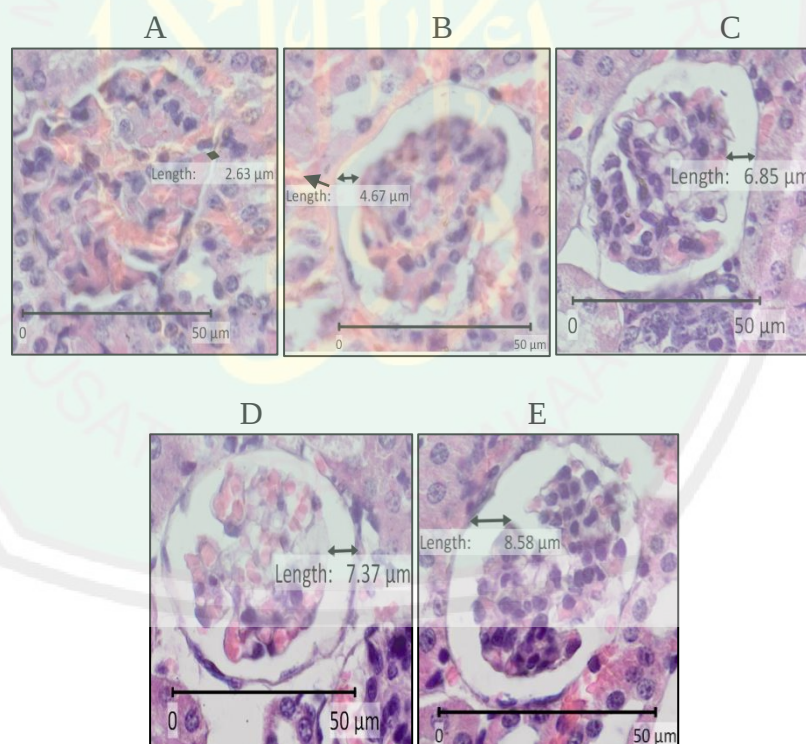
kloroform secara inhalasi. Kloroform berfungsi sebagai anestesi umum yang diperlukan untuk pembedahan karena dapat menyebabkan penderita mengalami analgesia, amnesia, dan tidak sadar sedangkan otot-otot mengalami relaksasi dan suatu penekanan refleks yang dikehendaki (Joyce, 1996). Beberapa kapas yang telah diletakkan dalam wadah berpenutup rapat ditetesi dengan kloroform. Selanjutnya, mencit dimasukkan ke dalam wadah dan ditutup kembali secara rapat. Ditunggu hingga mencit sudah tidak bergerak di dalam wadah, kemudian diambil dan dilakukan pembedahan. Menurut Agustina (2015), pembunuhan hewan harus dilakukan dengan sebaik-baiknya sehingga hewan bebas dari rasa takut dan tertekan serta bebas dari penganiayaan.

Pembedahan dimulai dengan meletakkan tubuh mencit ke papan styrofoam menghadap ke atas, kemudian tangan dan kaki mencit ditusuk menggunakan jarum pentul. Mencit mulai dibedah pada bagian perut ataupun uterus menggunakan gunting bengkok. Diambil dan dipisahkan organ ginjal, dipisahkan organ dari lemak-lemak yang masih menempel. Organ dicuci dengan NaCl 0,9% dan dimasukkan pot berisi formalin 10%. Pembuatan preparat dilakukan di laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya, Malang.

Preparat diberi warna dengan menggunakan Hematoksilin-Eosin (HE). Hematoksilin-Eosin bersifat basa yang khusus mewarnai unsur asam pada sel sehingga tampak kebiruan, karena unsur yang paling asam ialah asam deoksiribonukleat (DNA) dan asam ribonukleat (RNA), maka inti dan lingkungan sitoplasma yang banyak terdapat ribosom akan tampak berwarna biru tua, sehingga disebut basofilik. Eosin bersifat asam yang mewarnai unsur basa dari sel

sehingga tampak merah muda, karena banyak bagian sitoplasma yang bersifat basa, pada daerah tertentu sitoplasma berwarna merah muda. Unsur-unsur ini disebut asidofilik (Ellyawati, 2018).

Preparat yang telah diwarnai dengan Hematoksin-Eosin (HE) diamati dibawah mikroskop. Mikroskop yang digunakan adalah *Scan dotslide Microscope* di Patologi Anatomi Universitas Brawijaya. Preparat diamati menggunakan perbesaran 40 kali dan diukur lebar ruang bowman menggunakan *Image Raster 3.0*. pengukuran diamati pada 4 lapang pandang yang berbeda, dipilih bagian atas, bawah, tepi kanan, dan tepi kiri. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui perbedaan lebar ruang bowman pada glomerulus mencit secara mikroskopis.



Gambar 5.5 Gambaran histopatologi ruang bowman mencit dengan pewarnaan HE perbesaran 400X. A: kelompok negatif, B: kelompok positif, C: kelompok perlakuan dosis 1.75 mg, D: kelompok perlakuan dosis 3.5 mg, E: kelompok perlakuan dosis 7 mg.

5.5. Analisis Data

Analisis data pengaruh ekstrak buah tin (*F. carica*) terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B dilakukan dengan IBM SPSS 24. Tahapan analisis data yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui apakah data telah menyebar normal atau tidak. Pengujian homogenitas digunakan untuk mengetahui apakah data memiliki keragaman yang identik sehingga dihatapkan hasil analisis dapat mewakili hasil yang sesungguhnya dalam proses penelitian (Dianti, 2018).

5.5.1. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji *Shapiro-Wilk* yang pada umumnya penggunaannya terbatas untuk sampel yang kurang dari 50 agar menghasilkan keputusan yang akurat (Oktaviani, 2014).

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Kelompok perlakuan	Statistik	Signifikansi	Keterangan
K-	0,981	0,938	Normal
K+	0,926	0,570	Normal
P1	0,904	0,431	Normal
P2	0,917	0,511	Normal
P3	0,956	0,778	Normal

Uji normalitas pada lebar ruang bowman dapat dilihat pada tabel 5.2.

Berdasarkan hasil analisis, dapat diperoleh bahwa nilai signifikansi $> 0,05$. Maka dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal, sehingga asumsi normalitas dapat dipenuhi.

5.5.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas adalah sebuah uji untuk melihat apakah variabel yang diteliti mempunyai ragam yang homogen atau tidak. Metode yang digunakan dalam pengujian ini yaitu metode Levene. Secara statistik, uji varian (*Levene test*) digunakan untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data mempunyai varian yang sama. Uji homogenitas diterima apabila nilai signifikansi $p > 0,005$ (Dahlan, 2014).

Tabel 5.3 Hasil Uji Homogenitas

<i>Levene Statistic</i>	Signifikansi
2,3999	0.084

Berdasarkan hasil uji homogenitas pada tabel 5.3, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,084. Hal ini menyatakan bahwa data terbukti homogen dengan signifikansi $>0,05$.

Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas diatas, diperoleh data yang normal dan homogen. Data dapat dikatakan terdistribusi normal dan homogen apabila $p > 0,05$. Kemudian dapat dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA*.

5.5.3. Pengaruh Ekstrak Buah Tin Terhadap Lebar Ruang Bowman

Berikut merupakan hasil pengujian pengaruh ekstrak buah tin sebagai antioksidan terhadap lebar ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B:

Tabel 5.4 Hasil nilai SD dan uji *One way* ANOVA

Kelompok	Mean $\pm$ SD	Signifikansi
K-	8,58 $\mu\text{m}\pm 1,27$	$p = 0.000$
K+	21,40 $\mu\text{m}\pm 2,79$	
P1	24,38 $\mu\text{m}\pm 2,66$	
P2	24,55 $\mu\text{m}\pm 2,04$	
P3	27,44 $\mu\text{m}\pm 1,50$	

Standar deviasi (SD) merupakan ukuran sebaran yang paling banyak digunakan. Apabila penyebaran sangat besar terhadap nilai rata-rata, maka nilai SD akan besar, akan tetapi jika penyebaran data sangat kecil terhadap nilai rata-rata maka nilai SD akan kecil pula (Soewarno, 1995). Nilai SD pada K- adalah 1,27; nilai SD pada K+ adalah 2,79; nilai SD pada P1 adalah 2,66; nilai SD pada P2 adalah 2,04; dan nilai SD pada P3 adalah 1,5. Persebaran data yang paling besar terdapat pada kelompok positif (K+) yaitu sebesar 2,79, sedangkan sebaran data terkecil didapat dari K- yaitu sebesar 1,27.

Uji ANOVA termasuk uji parametrik. Sama halnya dengan uji-uji parametrik lainnya, terlebih dahulu periksa apakah sampel itu telah memenuhi asumsi-asumsi dari uji tersebut. Uji ANOVA mempunyai asumsi seperti dibawah ini: (Sirait, 2001)

- Individu-individu dalam sampel harus diambil secara acak dan terpisah satu sama lain dari masing-masing populasinya (sampel bersifat independen)
- Distribusi gejala yang diselidiki dalam masing-masing populasi itu adalah normal. Jika belum diketahui, dilakukan uji normalitas (*test of normality*)
- Varian dari masing-masing populasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan satu sama lain. Apabila belum diketahui harus dihitung terlebih dahulu dengan uji homogenitas.

Hasil dari tabel 5.4, didapatkan nilai *p-value* sebesar 0,000. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan dari ekstrak buah tin (*F. carica*) terhadap lebar ruang bowman dari mencit betina yang dipapar rhodamin B. Untuk mengetahui beda signifikan dari tiap kelompok perlakuan, dilakukan uji lanjutan dengan fungsi *Tukey*. Berikut adalah hasil pengujian *Tukey*:

Tabel 5.5 Hasil Uji *Tukey*

	K-	K+	P1	P2	P3
K-	-	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
K+	0.000*	-	0.260	0.213	0.003*
P1	0.000*	0.260	-	1.000	0.235
P2	0.000*	0.213	1.000	-	0.285
P3	0.000*	0.003*	0.235	0.285	-

Keterangan: (*) memiliki beda signifikan

Tabel 5.6 Notasi huruf dari hasil uji lanjut *Tukey*

Kelompok	Rerata	Notasi
K-	8,58 μm	A
K+	21,40 μm	B
P1	24,38 μm	BC
P2	24,55 μm	BC
P3	27,44 μm	C

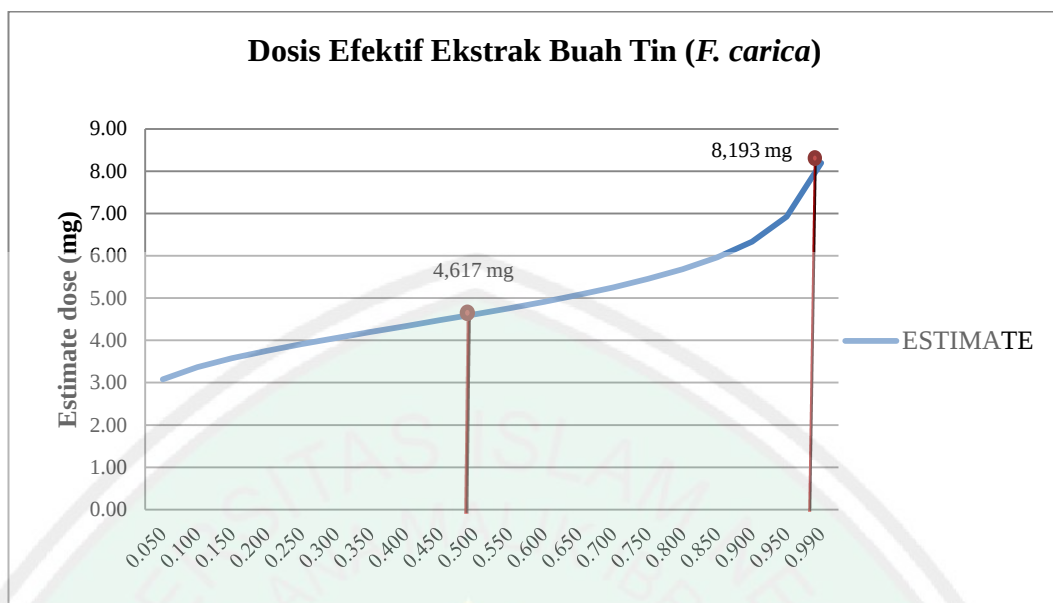
Keterangan: notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Uji *Tukey* (Beda Nyata Jujur) digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya (Firdaus, 2013). Uji beda nyata jujur mensyaratkan bahwa ragam masing-masing perlakuan memiliki ulangan yang sama, uji ini juga didasarkan pada asumsi bahwa ragam masing-masing perlakuan relatif seragam. Bila semua perlakuan

memiliki ulangan yang sama uji ini dapat digunakan untuk membandingkan pengaruh perlakuan secara serentak (Nainggolan, 2009).

Berdasarkan hasil dari uji Tukey diatas, dapat dijelaskan bahwa lebar ruang bowman ginjal mencit yang dipapar rhodamin B (K-) memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok yang diberi rhodamin B dengan vitamin C (K+), dosis buah tin 1,75 mg/25gBB (P1) , dosis buah tin 3,5 mg/25gBB, dan dosis buah tin 7 mg/25gBB. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian rhodamin B dapat menyebabkan penyempitan lebar ruang bowman pada ginjal mencit. Pada kelompok P1 memiliki nilai rerata yang sama dengan kelompok P2. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki aktivitas yang hampir sama dengan kelompok P2.

Perbandingan rerata lebar ruang bowman dapat dilihat pada tabel 5.4. Kelompok K- terbukti paling rendah yaitu sebesar 8,58 μm dibandingkan kelompok yang lain. Hasil paling tinggi yaitu pada kelompok P3 dengan nilai rata-rata 27,44 μm . Kelompok P3 adalah kelompok yang diinduksi ekstrak buah tin dosis paling tinggi yaitu 7,00 mg. Pada kelompok K+ rerata yang didapat adalah 21,40 μm . Kelompok P2 dan P3 memperoleh hasil rerata yang hampir sama yaitu sebesar 24,38 μm dan 24,55 μm .



Gambar 5.6 Hasil ED₅₀ dan ED₉₉ dari Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica* L.)

Pada dasarnya efek farmakologi suatu obat tergantung pada besarnya dosis yang diberikan. Sebelum suatu obat baru diberikan pada manusia, harus dilakukan uji efektivitas dosis obat pada hewan percobaan dengan menentukan nilai ED₅₀. ED₅₀ merupakan dosis yang dapat menimbulkan efek terapi pada 50% subyek percobaan (Wulandari, 2011). Perhitungan ED (*Effective Dose*) 50% dilakukan dengan SPSS menggunakan analisis probit. Hasil dari ED₅₀ pada penelitian tentang antioksidan ekstrak buah tin (*F. carica*) adalah sebesar 4,617 mg, dan hasil ED₉₉ adalah 8,193 mg. Indeks terapi merupakan perbandingan antara dua dosis, yang merupakan suatu ukuran untuk keamanan obat (Tjay, 2007). Indeks terapi diperoleh dari pembagian ED₉₉ dan ED₅₀ dan diperoleh hasil sebesar 1,775 mg.

Penelitian dari Calado (2015), diketahui bahwa ED₅₀ dari buah coklat diperoleh sebesar 7,9 mg; ED₅₀ pada ceremai belanda sebesar 9,72 mg; dan ED₅₀ pada kale didapat 5,52 mg, sehingga ED₅₀ dari buah tin lebih rendah daripada

buah coklat, ceremai belanda dan kale. Pada buah kakao diperoleh ED_{50} sebesar 4,52 mg dan pada buah tomat ED_{50} sebesar 3,675 mg; . Dari hasil tersebut dapat diketahui ED_{50} dari buah tin lebih tinggi daripada buah kakao yaitu 4,617 mg.

Penelitian ini membahas tentang efek radikal bebas dari rhodamin B pada ruang bowman ginjal. Rhodamin B adalah bahan kimia yang digunakan untuk pewarna merah pada industri tekstil plastik dan kain tetapi sering disalahgunakan untuk pewarna pada makanan. Masih adanya penggunaan zat berbahaya pada makanan tersebut tidak langsung seketika terasa. Penyakit akan timbul setelah beberapa tahun kemudian akibat residu yang mengendap pada tubuh (Surati, 2014).

Rhodamin B masuk ke dalam tubuh secara *oral* melalui makanan yang dikonsumsi. Paparan dosis rhodamin B yang bersifat toksik dalam jangka waktu yang cukup lama dapat mempengaruhi fungsi organ ginjal, salah satunya adalah penyempitan ruang bowman yang disebabkan peradangan pada glomerulus. Perjalanan rhodamin B hingga bisa menjadi salah satu penyebab kerusakan organ secara sistemik disebabkan oleh sifatnya yang polar. Akibat sifat polarnya tersebut, rhodamin B yang tak termetabolisme oleh hepar akan menyebar mengikuti aliran darah. Metabolisme rhodamin B didalam hati melalui dua tahapan yaitu tahap oksidasi yang dikatalis oleh sekelompok enzim monooksidase sitokrom P450 (CYP450) dan tahap berikutnya adalah hidrolisis produk tahap pertama menjadi senyawa polar yang spesifik. Senyawa radikal tersebut beredar melalui pembuluh darah hingga merusak jaringan tubuh termasuk ginjal. Enzim CYP450 mengaktivasi senyawa klorin menghasilkan radikal bebas yang sangat

berbahaya karena memiliki reaktivitas yang tinggi untuk mencapai kestabilan (Roosdiana, 2017).

Radikal bebas dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan endogen dapat menimbulkan stres oksidatif. Kondisi stres oksidatif dapat menyebabkan peroksidasi lipid membran sel, yaitu elektron bebas senyawa radikal akan berikatan dengan elektron makromolekul yang berada di sekitar lipid membran sel. Peroksidasi lipid yang terjadi secara terus-menerus akan menyebabkan rusaknya struktur membran sel dan hilangnya fungsi seluler secara total. Perubahan yang terjadi pada glomerulus dan kapsula akan mengakibatkan terganggunya fungsi produksi filtrat dan kontrol komposisi filtrat. Filtrasi glomerulus adalah inti yang paling penting dari fungsi ginjal. Bahan toksik dalam hal ini rhodamin B akan mempengaruhi daya filtrasi glomerulus sehingga daya saring menjadi berkurang (Mayori, 2013).

Fungsi dari ruang bowman sangat penting dalam proses ekskresi dalam tubuh. Ruang bowman mempunyai fungsi untuk menampung urin primer (*ultra filtrat*) yang selanjutnya akan mengalir menuju tubulus kontortus proksimal (Junquiera, 1980). Akibat dari penyempitan ruang bowman adalah cairan yang dapat ditampung akan mengalami penurunan, sehingga mengurangi reabsorpsi zat-zat yang masih bisa digunakan oleh tubuh. Untuk itu, diperlukan senyawa penangkap radikal bebas atau antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas, atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi berlebihan. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan menjadi dua jenis,

yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami (Hani, 2017). Antioksidan sintetis salah satunya adalah vitamin C.

Vitamin C terdiri dari suatu cincin carbon lacton-6 dengan 2,3-enodiol moiety dan menunjukkan aktivitas antioksidan akibat kelompok enodiol. Mekanisme vitamin C sebagai antioksidan didasarkan pada donor atom hidrogen pada radikal lipid dan pelepasan molekul oksigen (Syamsudin, 2013). Vitamin C dapat menurunkan kadar MDA (Malondialdehid) dalam tubuh yang terbentuk sebagai akibat dari kondisi stres oksidatif (Ramatina, 2014). Pada penelitian Sinaga (2017), vitamin C dapat meningkatkan kadar haemoglobin dan menurunkan kadar MDA pada atlet yang mendapat latihan fisik maksimal. Menurut Lung (2012), penelitian menggunakan metode DPPH diperoleh hasil vitamin C mempunyai aktivitas antioksidan yang paling kuat dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin E. Pada penelitian ini, terbukti bahwa vitamin C dapat mengurangi kerusakan radikal bebas dilihat pada rata-rata lebar ruang bowman kelompok kontrol positif yaitu sebesar 21,40 μm . Hasil tersebut lebih tinggi dibandingkan kelompok negatif, yaitu kelompok yang dipapar rhodamin B yang mempunyai hasil rata-rata lebar ruang bowman sebesar 8,58 μm .

Antioksidan alami salah satunya terdapat pada buah tin (*F. carica*). Ekstrak basah buah tin dapat digunakan sebagai penghambat radikal bebas dan sebagai antioksidan yang utama. Menurut Dianti (2018), ekstrak buah tin dapat meningkatkan FSH yang berfungsi merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium, tetapi tidak menyebabkan ovulasi. Pada penelitian lain diungkapkan bahwa buah tin memiliki kemampuan antioksidan primer ketika dibandingkan

dengan bawang, labu, dan timun (Dianti, 2018). Antioksidan primer merupakan zat atau senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal bebas yang melepaskan hidrogen, dengan pemutusan rantai radikal bebas yang sangat reaktif, kemudian diubah menjadi senyawa stabil atau tidak reaktif (Winarsi, 2007).

Buah tin merupakan salah satu buah yang istimewa karena disebutkan dalam Al-Qur'an. Surat At-tin terdiri dari 8 ayat, termasuk golongan surat Makkiyah. Nama "At-tin" diambil dari kata "At-tin" yang terdapat pada ayat pertama surat ini yang artinya "buah tin". Dalam banyak kajian tafsir Al-Qur'an dikatakan bahwa sesuatu yang dipergunakan oleh Allah SWT, pasti ada keistimewaan didalamnya. Menurut tafsir Al-Munir menjelaskan bahwa Allah SWT mengkhususkan buah tersebut diantara buah-buah yang lain karena tin adalah buah yang baik yang dapat dimakan tanpa sisa. Buah tin juga merupakan nutrisi yang lembut, yang cepat dicerna. Buah tin juga merupakan obat yang banyak mengandung khasiat (Roswita, 2017).

Buah tin yang dipakai pada penelitian ini terbukti memiliki kandungan polifenol melalui uji warna dan KLT. Pada uji warna, ekstrak positif mengandung polifenol ditandai perubahan warna menjadi hijau kehitaman saat diberi beberapa tetes FeCl_3 dan tidak menunjukkan adanya endapan putih. Hasil uji KLT dengan eluen metanol:aquadest perbandingan 9:1 diperoleh hasil berupa 2 spot titik warna yang muncul dan menandakan terdapat senyawa polifenol dan flavonoid.

Buah tin pada penelitian ini memiliki nilai ED_{50} sebesar 4,617 mg. Nilai ED_{50} digunakan untuk mengetahui dosis yang dapat menimbulkan efek pada 50%

populasi. Sebelum obat baru diberikan kepada manusia, harus dilakukan uji efektivitas dosis obat pada hewan coba dengan menentukan nilai ED₅₀. Hasil rata-rata lebar ruang ruang bowman pada kelompok perlakuan dosis 1 sebesar 24,38 µm. Pada kelompok perlakuan dosis 2, didapatkan nilai sebesar 24,55 µm. Dan hasil rata-rata lebar ruang bowman yang paling tinggi didapat pada kelompok perlakuan dosis 3, yaitu sebesar 27,44 µm. Kandungan polifenol yang terdapat pada buah tin dapat meningkatkan lipoprotein di plasma dan memproteksi terhadap oksidasi (Lukitasari, 2014). Senyawa fenol pada buah tin antara lain: C3R (*Cyanidin-3-O-rutinoside*), *chlorogenic acid*, *cathecin*, *epicatechin*, *kaempferol-3-O-glucoside*, dan *luteolin-8-C-glucoside* (Slatnar, 2011). Katekin merupakan turunan dari polifenol yang memiliki khasiat antioksidan yang tinggi (Anjarsari, 2016).

Senyawa antioksidan dapat berupa senyawa alami maupun sintetis. Pada saat ini senyawa antioksidan sintetis sudah mulai ditinggalkan dan antioksidan yang berasal dari alam mulai memegang peranan penting dalam bidang kesehatan. Penggunaan antioksidan alami diyakini lebih aman bagi kesehatan manusia (Firdiyani, 2015). Selain itu, adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetis menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Setiyaningrum, 2013). Antioksidan alami telah terbukti ada pada buah tin (*F. carica*). Ekstrak buah tin (*F. carica*) mampu menangkal radikal bebas yang dapat dilihat dari pengaruh lebar pada ruang bowman.

BAB VI

PENUTUP

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak buah tin (*F. carica*) terbukti berpengaruh signifikan terhadap lebar ruang bowman mencit betina yang dipapar rhodamin B.
2. Dosis efektif 50% yang didapat dari ekstrak buah tin (*F. carica*) sebagai antioksidan terhadap ruang bowman mencit yang dipapar rhodamin B sebesar 4,617 mg.

6.2. Saran

Saran yang dapat diberikan oleh peneliti adalah sebagai berikut:

1. Penelitian lebih lanjut tentang buah tin (*F. carica*) dapat dikembangkan sebagai terapi khususnya yang diakibatkan oleh radikal bebas.
2. Penelitian tentang antioksidan buah tin (*F. carica*) dapat dikembangkan pada organ tubuh lain.
3. Penggunaan antioksidan dan radikal bebas pada ginjal dapat dikembangkan menggunakan bahan yang berbeda, dengan metode pengujian antioksidan yang lebih lengkap menggunakan metode DPPH.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E. 2017. "Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Daun Tin (*Ficus carica* Linn.) dengan Pelarut Air, Metanol dan Campuran Metanol-Air". *KLOROFIL*. Vol. 1. No. 1.
- Agustina, K.K. 2015. *Kesejahteraan Hewan Laboratorium*. Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Udayana.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Andriyani, D., Utami, P.I., Dhiani, B.A. 2010. "Penetapan Kadar Tanin Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) secara Spektrofotometri Ultraviolet Visibel. *PHARMACY*. Vol. 7. No. 2.
- Anjarsari, I.R.D. 2016. "Katekin the Indonesia : Prospek dan Manfaatnya". *Jurnal Kultivasi*. Vol. 15. No. 2.
- Anjasmara, P.A., Rhomdoni, F.M. dan Ratnaningsih, M. 2017. "Pengaruh Pemberian Rhodamin B Peroral Subakut Terhadap Perubahan Ketinggian Mukosa Gaster Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus* Strain Wistar)". Purwokerto: Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Vol 13. No 2.
- Arifin, B., dan Sanusi, I. 2018. "Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid". *Jurnal Zarah*. Vol. 6. No. 1.
- Aryani, N. 2015. "Efek Paparan Rhodamin B Terhadap Perubahan Makroskopis dan Histopatologi Mukosa Kolon Mencit Jantan (*Mus musculus* L.)". *Jurnal Pendidikan Kimia*. Vol. 7. No. 02.
- Bangun, A. P. 2005. *Jus Buah dan Sayuran Untuk Mengatasi Kanker*. Jakarta: Agromedi.
- Baraja, M. 2008. "Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastic* nois ex lume Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bouyahya, A., Bensaid, M., Bakri, Y., dan Dakka, N. 2016. "Phytochemistry and Ethnopharmacology of *Ficus carica*". *International Journal of Biochemistry Research and Review*. Vol. 14. No. 1.

- Calado, J.C.P., Albertao, P.A., Olievera, E.A., Letra, M.H.S., Sawaya, A.C.H.F., dan Marcucci, M.C. 2015. "Flavonoid Contents and Antioxidant Activity in Fruit. Vegetables, and Other Types of Food". *Natural Science*. Vol. 6. Hal. 426-235.
- Cahyadi, W. 2009. *Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Chalik, R. 2016. *Anatomi Fisiologi Manusia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Depkes RI. 2012. *Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Departmen Kesehatan Republik Indonesia.
- Devitria, R., dan Sepryani, H. 2017. "Analisis Rhodamin B pada Makanan Jajanan Anak di Sekitar SDN 2 dan SDN 3 Kota Pekanbaru". Pekanbaru: Akademi Analisis Kesehatan Yayasan Fajar Pekanbaru.
- Dewi, N.F.O. 2015. "Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Kurma Sukkari (*Phoenix dactylifera*) pada Tikus Jantan yang Diinduksi Parasetamol". *Naskah Publikasi*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Djarismawati, 2004. "Pengetahuan dan Perilaku Pedagang Cabe Merah Giling dalam Penggunaan Rhodamin B di Pasar Tradisional di DKI Jakarta". *Jurnal Ekologi Kesehatan*. Vol. 3. No. 1.
- Dianti, M.R. 2018. "Efektifitas Ekstrak Buah Tin (*Ficus carica*) dan Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) sebagai Antioksidan dalam Menanggulangi Radikal Bebas terhadap Kadar Ekstradiol dan FSH Mencit (*Mus musculus*) Betina yang Dipapar Rhodamin B". Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Diniatik. 2015. "Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI.) Hook f. & Th.) dengan Metode Spektrofotometri". *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 3. No. 1.
- Duenas, M., Alonso, J. J. P., Buelga, C. S., dan Bailon, T. E. 2008. "Anthocyanin Composition in Fig (*Ficus carica* L.)". *Journal of Food Composition and Analysis*. Spain: University of Salamanca.
- Dungir, G.S., Katja, G.D., dan Kamu, S. 2012. "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (*Garciana mangostana* L.)". *Jurnal MIPA UNSRAT*. Vol. 1. No. 1.
- Eff, A.P.R.Y., Rakhmawati, I., dan Fentami, N.A. 2015. *Petunjuk Praktikum Farmakologi*. Jakarta : Universitas Esa Unggul.

- Ellyawati. 2018. "Penentuan Waktu yang Tepat pada Proses *Staining* dalam Pembuatan Preparat Histologis Hati". Sumatera Barat: Universitas Andalas. Vol. 1. No. 1.
- Fatmawati, S., Rosidi, A., dan Handarasari, E. 2013. "Perilaku Higiene Pengolah Makanan Berdasarkan Pengetahuan Tentang Higiene Mengolah Makanan Dalam Penyelenggaraan Makanan Di Pusat Pendidikan Dan Latihan Olahraga Pelajar Jawa Tengah". *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vol. 04. No. 08.
- Febrianti, N., Irfan, Y., dan Risanti, D. 2015. "Kandungan Antioksidan Asam Askorbat Pada Jus Buah-Buahan Tropis". *Bioedukatika*. Vol. 3. No. 1.
- Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation*. New York : Marcel Dekker.
- Firdaus, M.F.P., Madyawati, S.P., Widjaja, N.S., Lamid, M., Rachmawati, K., dan Warsito, S.H. 2013. "Efektivitas Penambahan Kombinasi Tujuh Enzim Terhadap Estimasi Pertambahan Berat Badan Sapi Potong Peranakan Simental". *AGROVETERINER*. Vol. 2. No. 1.
- Firdiyani, F., Agustini, T.W., dan Ma'aruf, W.F. 2015. "Ekstraksi Senyawa Bioaktif Sebagai Antioksidan Alami *Spirulina platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda". *JPHPI*. Vol. 18. No. 1.
- Gutteridge, J.M.C., dan Halliwell, B. 1996. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Guyton, A.C. 2006. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Hani, R.C., dan Milanda, T. 2017. "Review : Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Tin di Indonesia". *Farmaka*. Vol. 14. No. 1.
- Hasanah, A. 2015. "Efek Jus Bawang Bombay (*Allium Cepa* Linn.) Terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ)". Malang: Fakultas Kedokteran UMM. Vol. 11. No. 2.
- Inggrid, M., dan Santoso, H. 2014. "Ekstraksi Antioksidan dan Senyawa Aktif dari Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*)". Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Universitas Katolik Parahyangan.
- Izawa, K., Amino, Y., Kohmura, M., Ueda, Y., dan Kuroda, M. 2010. *Human Environment Interactions-Taste*. Elsevier Ltd. Japan: Ajinomoto Co.,Inc.

- Joseph, B., dan Raj, S. J. 2011. "Pharmacognostic and Phytochemical Properties of *Ficus carica* Linn—An Overview". *International Journal of PharmTech Research*. Vol. 3. No. 1.
- Joyce, L., Evelyn, K.R., dan Hayes. 1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. Jakarta: EGC.
- Junqueira, L.C., dan Carneiro, J. 1980. *Basic Histology*. California : Lange Medical Publications.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley R.O. 2002. *Histologi Dasar*. Edisi 5. Jakarta: EGC.
- Kartika, A.A., Siregar, H.C.H., dan Fuahl, A.M. 2013. "Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus norvegicus*) dan Mencit (*Mus musculus*) di Fakultas Peternakan IPB". *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. Vol. 1. No. 3.
- Khaira, K. 2010. "Menangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan". *Jurnal Sainstek*. Vol. 11. No. 2.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalitic, V., dan Milos, M. 2006. "Use of Different Method for Testing Antioxidative Activity of Oregano Essensial Oil". *Food Chemistry*. Croatia: University of Split.
- Kusuma, D.P., Ratnawati, R., dan Sujuti, H. 2014. "Pengaruh Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn.) terhadap Pembentukan *Foam Cell* pada Aorta Tikus (*Rattus norvegicus* L.) dengan Diet Aterogenik". Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Laksmi, A.S., Widayanti, N.P., dan Refi, M.A.F. 2018. "Identifikasi Rhodamin B dalam Saus Sambal yang Beredar di Pasar Tradisional dan Modern Kota Denpasar". *Jurnal Media Sains*. Vol. 2. No. 1.
- Leliqia, N.P.E., dan Warditiani, N.K. 2010. "Pengaruh Variasi Tinggi Kolom, Fase Gerak, dan Tekanan Terhadap Optimasi Pemisahan Katekin dari Gambir dengan Metode Kromatografi Vakum Cair". *Laporan Penelitian*. Bali : Universitas Udayana.
- Lestario, L.N. 2017. *Antosianin: Sifat Kimia, Perannya dalam Kesehatan, dan Prospeknya sebagai Pewarna Makanan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Lukitasari, N., Ratnawati, R. dan Lyrawati, D. 2014. "Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* Linn) Menghambat Peningkatan Kadar MCP-1 pada Tikus dengan Diet Tinggi Lemak". Vol. 28. No. 1.

- Luliana, S., Purwanti, N.U., Manihuruk, N.K. 2016. "Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)". *Pharm Sci Res*. Vol. 3. No. 1.
- Lung, J.K.S., Destiani, D.K. 2012. "Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH". *Farmaka*. Vol. 15. No. 1.
- Mahmoudi, S., Khali, M., Benkhaled, A., Benamirouche, K., dan Baiti, I. 2016. "Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Leaf Extract from Ten Algerian *Ficus carica* L. Varieties". *Asian Pac J Trip Biomed*. Vol. 6. No. 3.
- Mahyuni, S. 2016. "Determinasi Kadar Total Polifenol Terlarut, Hesperetin dan Quercetin pada Daun, Kulit dan Isi Buah *Citrus aurantifolia* (Christm&Panzer) Swingle". *Fitofarmaka*. Vol. 6. No. 1.
- Majdawati, A. 2009. "Hubungan Gambaran Ultrasonografi Ginjal dengan Laju Filtrasi Glomerulus (GFR) pada Penderita Gangguan Ginjal". *Jurnal Kedokteran Yarsi*. Vol. 17. No. 1.
- Malole, M.M.B., Pramono, C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor : PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Maryati, Y., Susilowati, A., dan Lotulung, P.D. 2018. "Perbandingan Karakteristik Kimiawi Ekstrak Brokoli Terfermentasi dengan Variasi Konsentrasi Kultur Kambucha sebagai Minuman Fungsional". *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol. 1. No. 10.
- Materia Medica. 2018. *Determinasi Tanaman Tin*. Batu: UPT Materia Medica Batu.
- Mawa, S., Husain, K., dan Jantan, I. 2013. "*Ficus carica* L (Moraceae.) : Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities". *Review Article*. Malaysia : University Kebangsaan Malaysia.
- Mayori, R., Marusin, N. dan Tjong, D. H. 2013. "Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Struktur Histologis Ginjal Mencit Putih (*Mus musculus* L.)". *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. Vol. 2. No. 1.
- Moehyi, S. 1992. *Penyelenggaraan Makanan Institusi dan Jasa Boga*. Jakarta: Bhatara.
- Mukhairani. 2014. "Ekstraksi , Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif". *Jurnal Kesehatan*. Vol. 7. No. 2.

- Muttaqin, A., dan Sari, K. 2014. *Gangguan Gastrointestinal: Aplikasi Asuhan. Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: EGC.
- Nainggolan, B.M.H. 2009. “Perbandingan Uji Tukey (Uji Beda Nyata Jujur (BNJ)) dengan Uji Ffisher (Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)) dalam Uji Lanjut Data Rancangan Percobaan”. *Majalah Ilmiah Panorama Nusantara*. Edisi VII.
- Oktaviani, M.A., dan Notobroto, H.B. 2014. “Perbandingan Tingkat Konsistensi Normalitas Distribusi Metode Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors, Shapiro-Wilk, dan Skewness-Kurtosis”. *Jurnal Biometrika dan Kependudukan*. Vol. 3. No. 2.
- Pangkahila, W. 2007. *Anti Aging Medicine : Memperlambat Penuaan dan Meningkatkan Kualitas Hidup*. Jakarta: PT. Kompas Media Nusantara.
- Patonah, A.Y., dan Cica, N. 2014. “Aktivitas Antihipertriglisieridemia Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa* L.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) serta Kombinasinya pada Hewan Hipertriglisieridemia”. *Jurnal Farmasi Galenika*. Vol. 1. No. 2.
- Pedro, L.L., Leticia, L.M., Luis, I.M.R., Katarzyna, W., dan Judith, A.H. 1997. “Extraction of Sunset Yellow and Tartazine by Ion-pair Formation With Adogen-464 and Their Simultaneous Determination by Bivariate Calibration and Derivative Spectrophotometry”. *Analyst*. Vol. 122.
- Peraturan Menteri Kesehatan RI. No. 033. Menkes/Per/XI/2012 Tentang Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Departmen Kesehatan Republik Indonesia.
- Permatasari, A., Susantiningsih, T., dan Kurniawaty, E. 2013. “Identification of The Substance Dye Rhodamine B in The Snacks That is Marketed in Traditional Market in Bandar Lampung”. Lampung : Medical Faculty of Lampung University.
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. 2002. *Phatophysiology: Clinical Concept Disease Processes*. Edisi 3. Jakarta: EGC.
- Rahayu, M., dan Wahyuningsih, A. 2016. “Identifikasi Zat Pewarna Rhodamin B dan Methanyl Yellow dalam Geplak yang Beredar di Beberapa Toko Oleh-Oleh di Kota Yogyakarta tahun 2016”. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. Vol. 5. No. 1.
- Rakhman, A.S., Junaedi, D., dan Umayah. 2010. “Hubungan Sumpah Allah dengan Eksistensi Manusia dalam Surah At-Tiin”. Ilmu Al-Qur'an san Tafsir. Cirebon: IAIN Syekh Nurjati.

- Ramatina., Amalia, L., dan Ekayanti, I. 2014. "Pengaruh Suplemen Antioksidan Terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mahasiswi ITB". *Jurnal Gizi dan Pangan*. Vol. 9. No. 1.
- Ridwan, E. 2013. "Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan". *J Indon Med Assoc*. Vol. 63.
- Rohman, A., Sugeng, R., dan Utari. 2006. "Antioxidant Activities Total Phenolic and Flavonoid Contents of Ethyl Acetate Extract of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Fruit and Its Fractions". *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 17. No. 3.
- Roosdiana, A., Oktaviannie, D.A., dan Lestari, Y.P. 2017. "Pengaruh rhodamin B dan Sakarin Terhadap Aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) Ginjal Tikus Putih". *Prosiding Seminar Nasional Kimia UNY 2017*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Rosahdi, T.D., Kusmiyati, M., dan Wijayanti, R.F. 2013. "Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih Dengan Metode DPPH". Vol. 7. No. 01.
- Roswita, F. 2017. "Keistimewaan Buah Tin dalam Al-Quran". *Prosiding Seminar Nasional MIPA III*. Aceh: SMA Negeri 1 Bireuen.
- Rutoto, S. 2007. *Pengantar Metodologi Penelitian*. FKIP : Universitas Muara Kudus.
- Sanchez, N.F.S., Blanco, R.V., Coronado, R.S., dan Carlos, B.H. 2017. "Natural Antioxidant Extracts as Food Preservative". *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*. Vol. 16. No. 4.
- Sari, A.N. 2015. "Antioksidan Alternatif untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas pada Kulit". *Journal of Islamic Science and Technology*. Vol. 1. No.1.
- Setyawan, E.I., Samirana, P.O., Dewi, P.E.M.U., dan Putra, I.G.N.A.D. 2017. "Studi Pelempasan Senyawa Polifenol Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Matrik *Patch Mukoadesif Methocel A15*". *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 13. No. 1.
- Setiyaningrum, Z. 2013. "Aktivitas Antiradikal DPPH dan Kadar Fenolik dari Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Menggunakan Metode Maserasi dan Soxhlet". *Naskah Publikasi Skripsi*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sie, J. O. 2013. "Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux". *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol. 2. No.1.

- Silvia, D., Katharina, K., Hartono, S.A., Anastasia, V., Susanto, Y. 2016. "Pengumpulan Data Base Sumber Antioksidan Alami Alternatif Berbasis Pangan Lokal di Indonesia". *Surya Octagon Interdisciplinary Journal of Technology*. Vol. 1. No. 2.
- Simaremare, E.S. 2014. "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd)" Vol. 11. No. 01.
- Sinaga, R.N. dan Sinaga, F.A. 2017. "Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehid dan Haemoglobin Atlet pada Aktivitas Fisik Maksimal". *Generasi Kampus*. Vol. 8. No. 2.
- Sirait, A.M. 2001. "Analisis Varians (ANOVA) dalam Penelitian Kesehatan". *Media Litbang Kesehatan*. Vol. 11. No. 2.
- Slatnar, A., Klancar, U., Stampar, F., dan Veberic, R. 2011. "Effect Drying Figs (*Ficus carica* L.) on the Contents Organic Acids, and Phenolic Compounds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Slovenia: University of Ljubljana.
- Slomianka, L. 2009. *Blue-histologi Urinary System*. Australia: The University of Western Australia.
- Soewarno. 1995. *Hidrologi Aplikasi Metode Statistik untuk Analisa*. Jilid I. Bandung: Penerbit Nova.
- Sugiyono. 2017. *Statistika untuk Penelitian*. Bandung : Penerbit Alfabeta.
- Suhendi, Nurcahyanti, Muhtadi, dan Sutrisna. 2011. "Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Air Jinten Hitam (*Colous ambonicus* Lor) pada Mencit Jantam Galur BALB/c dan Standarisasinya". *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 22. No. 2.
- Sukandar, E. 1997. *Nefrologi Klinik*. Edisi Kedua. Bandung : Penerbit ITB.
- Sumarlin, L.O. 2010. "Identifikasi Pewarna Sintetis pada Produk Pangan yang Beredar di Jakarta dan Ciputat". Jakarta: Program Studi Kimia FST UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Surati. 2014. "Bahaya Zat Rhodamin B pada Makanan". *Jurnal Biology Science and Education*. Vol. 3. No. 2.
- Suryabrata, S. 2011. *Metode Penelitian*. Jakarta : PT. Raja Grafindo Persada.

- Susanty., dan Bachmid, F. 2016. "Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.)". *KONVERSI*. Vol. 5. No. 2.
- Sutarna, T.H., Alatas, F., Ratih, H., Anggraeni, W., dan Purnamasari, N. 2015. "Pengaruh Penambahan Vitamin C Sebagai Antioksidan Terhadap Nilai *Sun Protective Factor* (SPF) dari Oktil Metoksisinamat". Cimahi : Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Ahmad Yani.
- Syaifuddin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia untuk Mahasiswa Keperawatan*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Syamsudin. 2013. *Nutrasetikal*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sylvia, A.P. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Teknologi Pangan. 2006. *Pewarna Pangan*. Diakses 11 Januari 2019. <http://tekpan.unimus.ac.id/wp-content/uploads/2013/07/PEWARNA-PANGAN.pdf>
- Tjay, T.H., dan Rahardja, K. 2007. *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Jakarta: Gramedia.
- Tolistyawati, I., Widjaja, J., Pamela, P., Sumolang, F., dan Octaviani. 2014. "Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba". *Jurnal Vektor Penyakit*. Vol. 8. No. 1.
- Trestianti, M. 2003. "Analisis Rhodamin B pada Makanan dan Minuman Jajanan Anak SD". *Thesis*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J. 2007. "Review : Free Radicals and Antioxidant in Normal Physiological Functions and Human Disease". *International Journal of Biochemistry Cell Biology*. Vol. 3. No. 9.
- Vasilev, H.N., Ivanova, O.D., dan Ionkova, I.I. 2015. "In Vitro Cultures from *Astragalus thracicus* and Their Radical-Scavenging Activity". *PHARMACIA*. Vol. 62. No. 4.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E.P. dan Wahyuono, S. 2011. "Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm)". *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 16. No. 3. *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol. 23.

- Wang, Y., Tang, C., dan Zhang, H. 2015. "Hepatoprotective Effects of Kaempferol 3-O-rutinoside and Kaempferol 3-O-glucoside from *Carthamus tinctorius* L. on CCl₄ induced Oxidative Liver Injury in Mice".
- Warianto. 2011. *Keterampilan Proses Sains*. Jakarta : Kencana Prenada Media Grup.
- Wherdasari, A. 2014. "Peran Antioksidan Bagi Kesehatan". *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Vol. 3. No. 2.
- Wibudi, A. 2006. "Mekanisme Kerja Sambiloto (*Androgaphis paniculata*) sebagai Antidiabetes Mellitus". *Disertasi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Winangsih., Prihastanti, E., dan Parman, S. 2013. "Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.)". *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Vol. 21. No. 1.
- Winarno, F.G. 1995. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wisnu, C. 2008. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Wulandari, D., dan Hendra, P. 2011. "Efek Analgesik Infusa Daun *Macaranga tanarius* L. pada Mencit Betina Galur Swiss". *New Bionatura*. Vol. 13. No. 2.
- Wylie, L. 2011. *Esensial Anatomi dan Fisiologi dalam Asuhan Maternitas*. Jakarta: EGC.
- Yamlean, P.V.Y. 2011. "Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Jajanan Kue Berwarna Merah Muda yang Beredar di Kota Manado". *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 11. No. 2.

Lampiran 1 Perhitungan dosis

1. Rhodamin B

Dosis yang digunakan untuk tikus putih adalah 22,5 mg/kgBB (Roosdiana, 2017) jika dikonversikan ke mencit adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\text{Dosis mencit} &: 22,5 \times 0,14 = 3,15 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,003 \text{ mg/gBB} \\ &= 0,08 \text{ mg/25gBB}\end{aligned}$$

$$\text{Kebutuhan untuk 25 ekor} = 0,08 \times 25 = 2 \text{ mg}$$

2. Vitamin C

Kebutuhan manusia untuk antioksidan dalam sehari adalah 500 mg/hari (Lukitasari, 2017). Jika dikonversikan ke mencit :

$$\begin{aligned}\text{Dosis mencit} &: 500 \times 0,026 = 1,3 \text{ mg} \\ \text{Kebutuhan untuk 5 ekor mencit} &: 1,3 \times 5 = 6,5 \text{ mg}\end{aligned}$$

3. Ekstrak buah Tin (*F. carica*)

Menurut Dewi (2014), yang melakukan uji antioksidan pada tikus menggunakan dosis bertingkat 250, 500, dan 100 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan dosis optimum antioksidan pada tikus adalah 1000 mg/kgBB. Konversi dosis pada mencit yaitu :

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

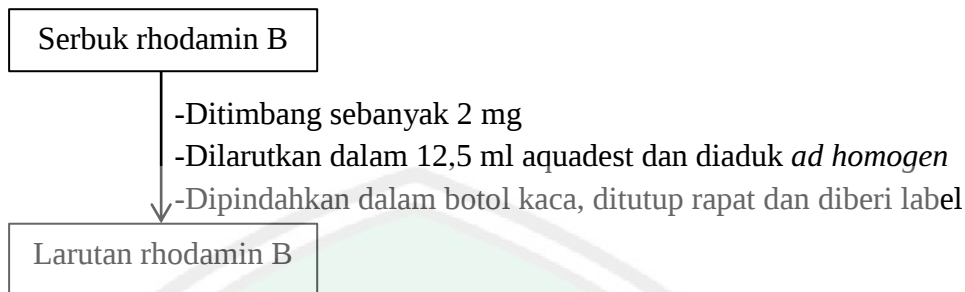
Penelitian ini menggunakan tiga dosis ekstrak buah tin (*F. carica*) sebagai berikut :

$$\begin{aligned}\text{Dosis } \frac{1}{2} \text{ n} &: 1,75 \text{ mg/25gBB} \\ \text{Dosis n} &: 3,5 \text{ mg/25gBB} \\ \text{Dosis 2n} &: 7,00 \text{ mg/25gBB}\end{aligned}$$

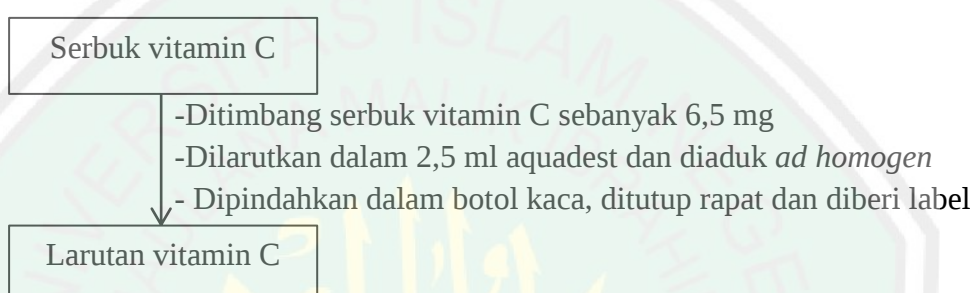
Ekstrak buah tin diberikan setiap hari selama 15 hari dengan cara peroral disertai penimbangan berat badan. Setiap ekstrak kemudian dibuat larutan dengan pendispersi CMC-Na 0,1%.

Lampiran 2 Skema Kerja Pembuatan Larutan Uji

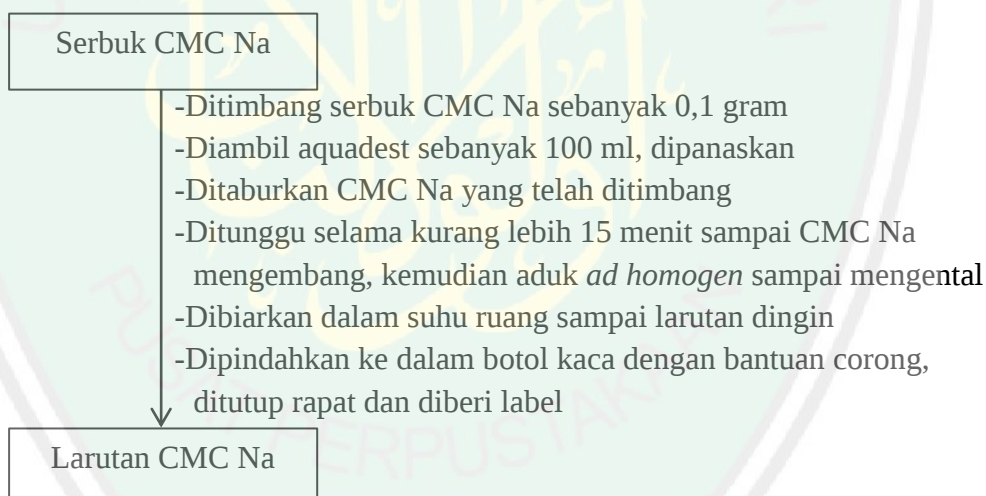
2.1. Pembuatan Larutan Rhodamin B



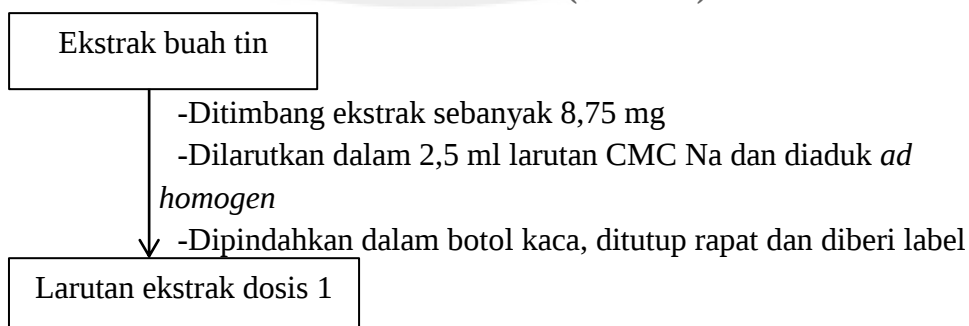
2.2. Pembuatan Larutan Vitamin C



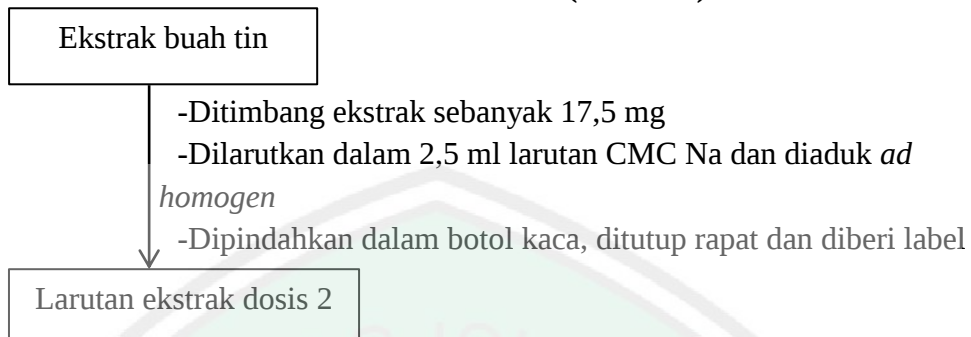
2.3. Pembuatan Larutan CMC Na



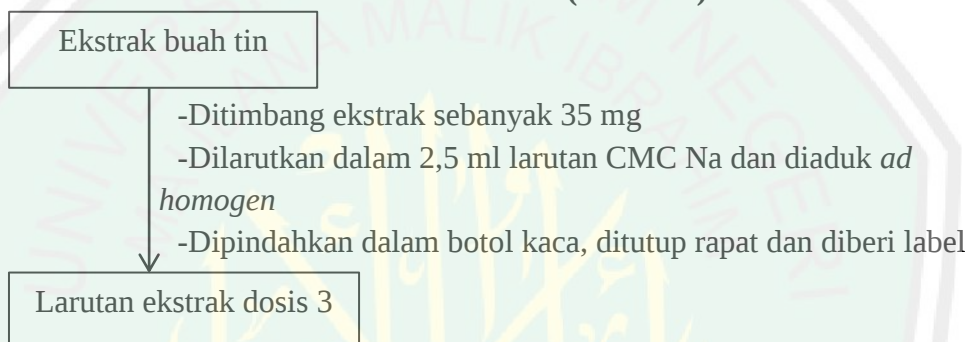
2.4. Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Tin (*F. carica*) dosis 1



2.5. Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Tin (*F. carica*) dosis 2



2.6. Pembuatan Larutan Ekstrak Buah Tin (*F. carica*) dosis 3



Lampiran 3 Rata-rata Lebar Ruang Bowman

Replikasi	Lapang Pandang				Rata-rata
	1	2	3	4	
Kelompok Kontrol Negatif					
1	9.43	11.12	9.74	7.46	9.44
2	11.63	9.07	9.40	10.28	10.10
3	8.10	7.85	7.40	7.81	7.79
4	7.33	6.47	6.26	7.66	6.93
5	8.59	9.88	7.53	8.57	8.64
Kelompok Kontrol Positif					
1	16.56	18.67	20.59	22.60	19.60
2	17.15	22.04	24.77	19.43	20.85
3	22.17	24.31	23.75	25.48	23.93
4	26.81	26.83	21.80	22.83	24.57
5	18.29	19.40	16.87	17.70	18.07
Kelompok Perlakuan 1					
1	22.48	21.60	20.70	18.00	20.69
2	27.33	24.09	23.14	30.59	26.29
3	20.55	24.11	24.21	21.35	22.55
4	26.01	22.69	26.79	26.22	25.43
5	25.68	24.23	31.14	26.68	26.93
Kelompok Perlakuan 2					
1	18.81	24.12	21.89	26.19	22.75
2	18.31	22.76	23.52	22.73	21.83
3	24.83	25.71	24.48	20.08	23.78
4	23.53	28.47	26.48	28.20	26.67
5	31.01	28.41	27.16	24.35	27.73
Kelompok Perlakuan 3					
1	29.20	31.30	26.04	23.67	27.55
2	29.05	30.88	29.55	28.02	29.37
3	29.48	29.04	25.53	20.76	26.20
4	25.16	25.59	33.14	29.50	28.35
5	26.13	26.89	25.41	24.54	25.74

Lampiran 4 Analisa Statistik Lebar Ruang Bowman

4.1. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
lebar	negatif	.152	5	.200*	.981	5	.938
	positif	.218	5	.200*	.926	5	.570
	dosis 1.75mg	.254	5	.200*	.904	5	.431
	dosis 3.5mg	.219	5	.200*	.917	5	.511
	dosis 7mg	.196	5	.200*	.956	5	.778

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

a. Lilliefors Significance Correction

4.2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances				
lebar	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
	2.399	4	20	.084

4.3. One Way ANOVA

ANOVA					
lebar	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1097.894	4	274.474	54.605	.000
Within Groups	100.530	20	5.027		
Total	1198.424	24			

4.4. Descriptive Statistics

Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Sum	Mean	Std.	Std.	Deviation	Varian
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Error	Statistic	Statistic	ce
Negatif	5	3.17	6.93	10.10	42.90	8.5800	.56569	1.26493	1.600	
Valid N (listwise)	5									

Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Sum	Mean	Std.	Std.	Deviation	Varian
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Error	Statistic	Statistic	ce
Positif	5	6.50	18.07	24.57	107.02	21.404	1.24662	2.78752	7.770	
Valid N (listwise)	5									

Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Sum	Mean	Std.	Std.	Deviation	Varian
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Error	Statistic	Statistic	ce
P1	5	6.24	20.69	26.93	121.89	24.3780	1.18781	2.65603	7.055	
Valid N (listwise)	5									

Descriptive Statistics

	N	Range	Minimum	Maximum	Sum	Mean	Std.	Std.	Deviation	Varian
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Error	Statistic	Statistic	ce
P2	5	5.90	21.83	27.73	122.76	24.5520	1.13662	2.54156	6.460	
Valid N (listwise)	5									

Descriptive Statistics

	N	Range	Minim um	Maxim um	Sum	Mean	Std. Deviation	Varian ce
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic
P3	5	3.63	25.74	29.37	137.21	27.4420	.67055	1.49939
Valid N (listwise)	5							

4.5. Post Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable: lebar

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference			Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound
		(I-J)	Std. Error			
negatif	positif	-12.82400*	1.41796	.000		-17.0671
	dosis 1.75mg	-15.79800*	1.41796	.000		-20.0411
	dosis 3.5mg	-15.97200*	1.41796	.000		-20.2151
	dosis 7mg	-18.86200*	1.41796	.000		-23.1051
positif	negatif	12.82400*	1.41796	.000		8.5809
	dosis 1.75mg	-2.97400	1.41796	.260		-7.2171
	dosis 3.5mg	-3.14800	1.41796	.213		-7.3911
	dosis 7mg	-6.03800*	1.41796	.003		-10.2811
dosis 1.75mg	negatif	15.79800*	1.41796	.000		11.5549
	positif	2.97400	1.41796	.260		-1.2691
	dosis 3.5mg	-.17400	1.41796	1.000		-4.4171
	dosis 7mg	-3.06400	1.41796	.235		-7.3071
dosis 3.5mg	negatif	15.97200*	1.41796	.000		11.7289
	positif	3.14800	1.41796	.213		-1.0951
	dosis 1.75mg	.17400	1.41796	1.000		-4.0691
	dosis 7mg	-2.89000	1.41796	.285		-7.1331
dosis 7mg	negatif	18.86200*	1.41796	.000		14.6189
	positif	6.03800*	1.41796	.003		1.7949
	dosis 1.75mg	3.06400	1.41796	.235		-1.1791
	dosis 3.5mg	2.89000	1.41796	.285		-1.3531

4.6. Analisis Probit

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	2.602	.	.	.415	.	.
	.020	2.782	.	.	.444	.	.
	.030	2.904	.	.	.463	.	.
	.040	2.998	.	.	.477	.	.
	.050	3.078	.	.	.488	.	.
	.060	3.147	.	.	.498	.	.
	.070	3.209	.	.	.506	.	.
	.080	3.265	.	.	.514	.	.
	.090	3.317	.	.	.521	.	.
	.100	3.366	.	.	.527	.	.
	.150	3.576	.	.	.553	.	.
	.200	3.752	.	.	.574	.	.
	.250	3.910	.	.	.592	.	.
	.300	4.057	.	.	.608	.	.
	.350	4.198	.	.	.623	.	.
	.400	4.337	.	.	.637	.	.
	.450	4.476	.	.	.651	.	.
	.500	4.617	.	.	.664	.	.
	.550	4.762	.	.	.678	.	.
	.600	4.914	.	.	.691	.	.
	.650	5.077	.	.	.706	.	.
	.700	5.254	.	.	.721	.	.
	.750	5.452	.	.	.737	.	.
	.800	5.682	.	.	.754	.	.
	.850	5.961	.	.	.775	.	.
	.900	6.333	.	.	.802	.	.
	.910	6.426	.	.	.808	.	.
	.920	6.528	.	.	.815	.	.
	.930	6.643	.	.	.822	.	.
	.940	6.774	.	.	.831	.	.
	.950	6.926	.	.	.840	.	.
	.960	7.109	.	.	.852	.	.

.970	7.341	.	.	.866	.	.
.980	7.661	.	.	.884	.	.
.990	8.193	.	.	.913	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



Lampiran 5. Determinasi Buah Tin (*F. carica*)



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

Nomor : 074/375A/102.7/2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : Determinasi Tanaman Tin

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ELVIRA SUKMADEWI
 NIM : 15670044
 Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman tin
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 - Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 - Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 - Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 - Sub Kelas : Dilleniidae
 - Ordo : Urticales
 - Famili : Moraceae (suku nangka-nangkaan)
 - Genus : Ficus
 - Spesies : *Ficus carica* L.
 - Nama Umum : Buah tin, ara, loh mekah, fig (common fig).
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15a-109b-119b-120a-121b-124a-1a-1a.
2. Morfologi : Habitus: pohon besar dan dapat tumbuh hingga 10 meter. Batang: batang lunak berwarna abu-abu. Daun: berukuran cukup besar dan berlekuk dalam, 3 atau 5 cuping. Bunga: bunga tidak tampak karena terlindung oleh dasar bunga yang menutup sehingga dikira buah. Buah: buah semu, yang disebut buah sebetulnya adalah dasar bunga yang membentuk bulatan, berukuran 3 – 5 cm, berwarna hijau, beberapa kultivar berubah warna menjadi ungu jika masak.
3. Nama Simplisia : Fici caricae folium/ daun tin.
4. Kandungan : Daun tin mengandung flavonoid, terpenoid dan tanin. Daun juga mengandung α -tocopherol, flavonoid, dan senyawa fenolik yang mempunyai efek sebagai antioksidan.
5. Penggunaan : Penelitian.
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. 2012. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=1590>.
 - Sibel Konyahoglu, Hüsnüye Sağlam & Bijen Kıvçak. 2005. α -Tocopherol, Flavonoid, and Phenol Contents and Antioxidant Activity of *Ficus carica* Leaves. *Pharm. Biology* Vol. 43 (8): 683 – 688.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Bat, 24 November 2018
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 M. Dr. A. M. Kes.
 NIP. 19611102 199103 1 003

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 <i>The research protocol proposed by</i>	Meilina Ratna Dianti S.Kep.,NS.,M.Kep
Peneliti Utama <i>Principal In Investigator</i>	Meilina Ratna Dianti S.Kep.,NS.,M.Kep
Nama Institusi <i>Name of the Institution</i>	UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Dengan Judul Pengaruh Ekstrak Buah Tin (<i>Ficus carica</i> L.) dan Buah Kurma (<i>Phoenix dactilyfera</i>) Sebagai Antioksidan Terhadap Ginjal Mencit yang Dipapar Rhodamin B <i>Study of Effect Tin (Ficus carica) and Dates (Phoenix dactilyfera) Extract as Antioxidant to Miceâ€™s Kidney which Exposed by Rhodamin B</i>	

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

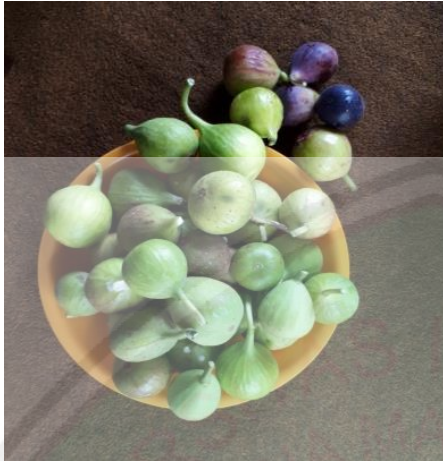
This declaration of ethics applies during the period August 1, 2019 until August 1, 2020

Malang, 01 Agustus 2019
 Head of Committee

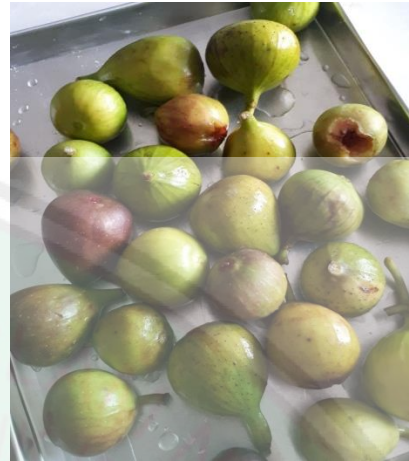
Dr. SUSI MILWATI, S.Kp, M.Pd
NIP. 196312011987032002

Lampiran 7 : Dokumentasi Penelitian

7.1 Pengumpulan Bahan



Buah tin yang telah dipanen



Pencucian buah tin



Pemotongan buah tin

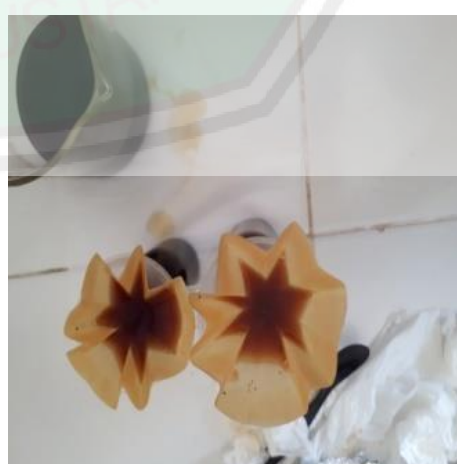


Hasil kering dari oven

7.2 Ekstraksi



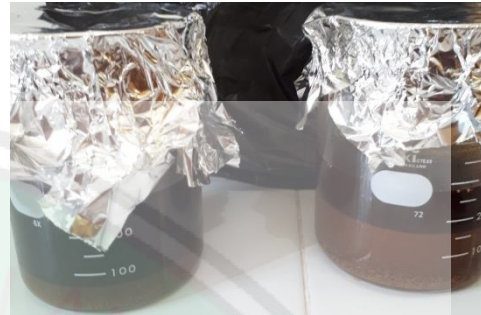
Serbuk buah tin (*F. carica*)



Proses Penyaringan

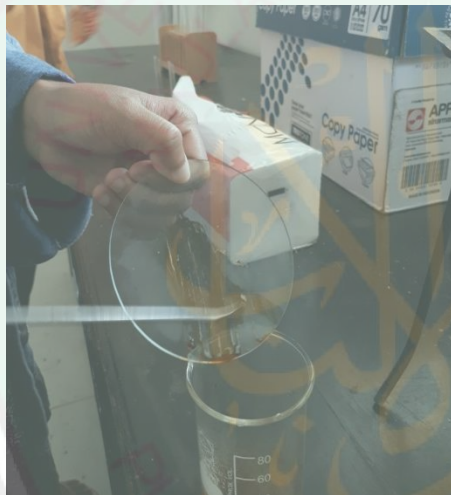


Penambahan pelarut dan pengadukan



Proses maserasi

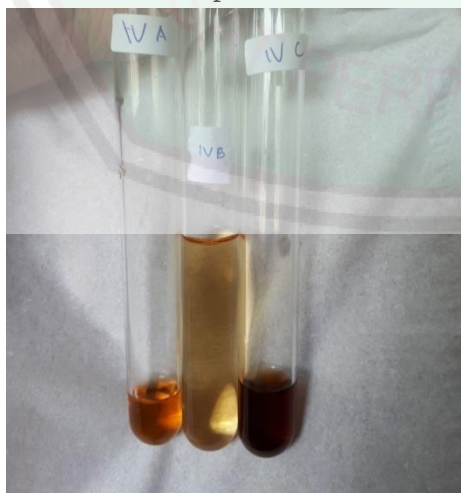
7.3 Uji Warna dan KLT



Pembuatan Sampel



Pengambilan sampel



Hasil Uji Warna



Penjenuhan pelarut dengan *chamber*



Penyemprotan pada lemari asam

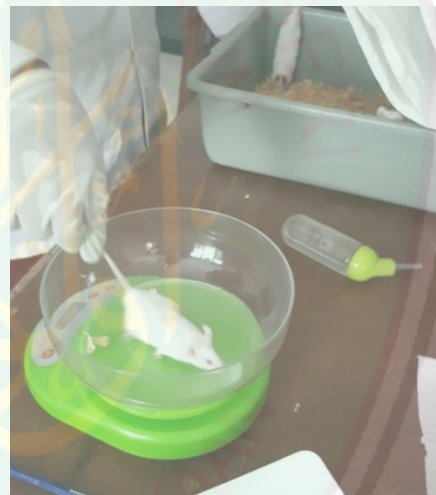


Proses pembakaran plat KLT

7.4 Perlakuan pada Hewan Coba



Aklimatisasi mencit (minum ad lib)



Proses penimbangan berat badan



Pemberian peroral pada mencit



Mencit direntangkan pada papan



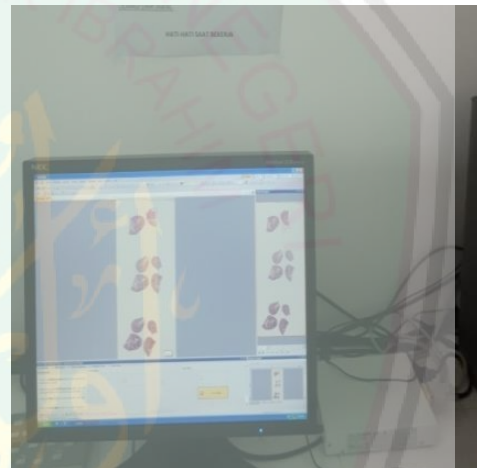
Proses pembedahan



Pengambilan organ ginjal



Preparat dilihat dengan mikroskop



Proses scanning preparat