

**PENGARUH HEPATOPROTEKTOR MADU TERHADAP
KERUSAKAN HISTOLOGIS SEL HEPAR MENCIT (*Mus
musculus*) YANG DIBERI PERLAKUAN NATRIUM
SIKLAMAT**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Marisa Rizqiana Dewi

G0006202

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2010

PENGESAHAN SKRIPSI

**Skripsi dengan judul : Pengaruh Hepatoprotektor Madu terhadap
Kerusakan Histologis Sel Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi
Perlakuan Natrium Siklamat**

Marisa Rizqiana Dewi, NIM: G.0006202, Tahun: 2010

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan Dewan Penguji Skripsi

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Pada Hari , Tanggal Juni 2010

Pembimbing Utama

Nama : Suyatmi, dr., M Biomed Sci

NIP : 19720105 200112 2 001

Pembimbing Pendamping

Nama : Kusmadewi Eka, dr

NIP : 19830509 200801 2 005

Penguji Utama

Nama : Muthmainah, dr.,M. Kes

NIP : 19660702 199802 2 001

Anggota Penguji

Nama : Anik Lestari, dr .,M.Kes

NIP : 19680805 200112 2 001

Surakarta,20.....

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Sri Wahjono, dr.,M Kes.

NIP : 19450824 197310 1 001

Prof. Dr. A. A. Subijanto, dr., MS.

NIP : 19481107 197310 1 003

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka

Surakarta, 7 Juni 2010

Marisa Rizqiana Dewi
NIM.G0006202

ABSTRAK

Marisa Rizqiana Dewi., G0006202, 2010, Pengaruh Hepatoprotektor Madu terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Perlakuan Natrium Siklamat. Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Tujuan penelitian : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian madu secara peroral dalam mengurangi derajat kerusakan sel hepar mencit yang terpapar natrium siklamat, dan untuk mengetahui pengaruh peningkatan dosis madu dalam meningkatkan efek proteksinya.

Metode Penelitian : penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only controlled group design*. Sampel berupa hewan mencit berjenis kelamin jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan \pm 20 gram. Sampel sebanyak 28 ekor dibagi dalam 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor mencit. Teknik sampling yang digunakan adalah *accidental sampling*. Hari ke-15, mencit dikorbankan dengan cara *dislokasi vertebra cervikalis* kemudian organ *hepar dextra* diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok parafin dan pengecatan Hematoksin Eosin (HE). Gambaran histologis hepar diamati dan dinilai berdasarkan kerusakan histologis yang berupa inti *pyknosis*, *karyorrhexis* dan *karyolysis*. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis* ($\alpha = 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* ($\alpha = 0,05$).

Hasil Penelitian : Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan yang bermakna antara KK dan KP1, KK dan KP2, KK dan KP3, KP1 dan KP3 serta KP2 dan KP3. Sedangkan perbedaan yang tidak bermakna antara KP1 dan KP2.

Simpulan Penelitian : Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terbukti adanya efek proteksi dari madu terhadap hepar yang berupa pengurangan derajat kerusakan sel hepar mencit yang diinduksi oleh natrium siklamat. Efek proteksi madu terhadap kerusakan sel hepar yang ditimbulkan oleh natrium siklamat dapat diamati secara jelas pada dosis II yaitu 0,4 mL/20 gram BB mencit yang terdapat pada kelompok perlakuan III.

Kata kunci : madu, natrium siklamat, kerusakan histologis hepar

ABSTRACT

Marisa Rizqiana Dewi., G0006202, 2010, The Effect of Honey on Histological appearance of Liver Damage Induced by Cyclamate on mice. Script, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

Objective: The objectives are to know about the influence of honey in reducing the liver cell damage of mice which is induced by cyclamate and also to know about the connection within the increase of honey dose and its effect in the liver cell damage of mice which is induced by cyclamate.

Methods: this was a laboratory experimental research with *post test only controlled group design*. The sample in this research were 28 male mice, 2-3 months old and \pm 20 grams weight each of them. The sample were divided into 4 groups, each group has seven mice. All of them were treated in Histological Laboratory for about 14 days. On day 15th, all of them were sacrificed with neck dislocation method. After that, we made preparation from the liver that was stained with Hematoksilin Eosin (HE). The preparation was observed based on the liver histological damage (*Pyknosis, karyorrhexis and karyolysis*). The data were analyzed with *Kruskal Wallis Test* ($\alpha = 0,05$), and continued with *Mann Whitney* ($\alpha = 0,05$) statistic test.

Result : the result of *Kruskal Wallis* test showed that there was a significant difference between 4 groups. The result of *Mann Whitney* test showed that there was a significant difference between KK and KP1, KK and KP2, KK and KP3, KP1 and KP3 and also KP2 and KP3. And there was not a significant difference between group KP1 and KP2.

Conclusion : According to this research, we conclude that honey has ability in decreasing the liver cell damage of the mice which is induced by cyclamate. Its protection effect can be seen clearly at honey dose II (0,4 mL/20 gram weight of mice) in KP III.

Key words : honey, cyclamate, liver cell damage

PRAKATA

Puji dan syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa atas limpahan rizki-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Hepatoprotektor Madu terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Perlakuan Natrium Siklamat” yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar kesarjanaan di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis banyak menemui kendala dan hambatan, namun berkat bimbingan, arahan, dan bantuan berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikannya. Untuk itu perkenankanlah dengan setulus hati penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. A. A. Subijanto, dr., MS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
2. Sri Wahjono, dr., M.Kes, selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta
3. Suyatmi, dr., M Biomed Sci. selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan dan pengarahan yang berharga
4. Kusmadewi Eka, dr selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan metodologi penelitian, saran dan petunjuk cara penelitian yang baik dan benar.
5. Muthmainah, dr., M.Kes selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji dan menambah serta melengkapi hal-hal yang masih kurang sempurna
6. Anik Lestari, dr., M.Kes selaku Anggota Penguji yang telah berkenan memberikan masukan dan koreksi kepada penulis dalam penyusunan skripsi
7. Pak Sukidi, Bu Kus dan Mbak Dewi yang telah banyak membantu selama proses perlakuan, pembuatan preparat dan pengambilan data.
8. Keluarga yang tercinta Papa, Mama, Kakak dan Adikku atas dukungan, doa, semangat dan cinta kasih yang telah kalian berikan.
9. Mamaku, inspirasiku, the strong woman, sosok ibu masa kini yang wajib dicontoh oleh semua wanita di dunia.
10. Mas Dadang H. yang telah banyak membantu, mendukung dan memberi perhatian baik dalam penyusunan skripsi maupun dalam hal lainnya.
11. Bagian Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang telah berkenan memberikan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang berkepentingan khususnya dan bagi pembaca umumnya. Penulis menyadari masih banyak kekurangan, karenanya kritik dan saran sangat diharapkan. Semoga karya ini bermanfaat untuk semua.

Surakarta, 7 Juni 2010

Marisa Rizqiana Dewi

DAFTAR ISI

PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GRAFIK.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II LANDASAN TEORI.....	6
A. Tinjauan Pustaka.....	6
B. Kerangka Pemikiran.....	21
C. Hipotesis.....	22
BABIII METODE PENELITIAN.....	23
A. Jenis Penelitian.....	23
B. Lokasi Penelitian.....	23
C. Subjek Penelitian.....	23
D. Teknik Sampling.....	24
E. Desain Penelitian.....	24
F. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	26
G. Identifikasi Variabel penelitian.....	27
H. Operasional Variabel Penelitian.....	27
I. Cara Kerja.....	30
J. Teknik Analisis Data.....	38
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	39
A. Data Hasil Penelitian.....	39
B. Analisis Data.....	41

BAB V PEMBAHASAN.....	44
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Simpulan	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

- Tabel 1.** Komposisi Madu
- Tabel 2.** Kandungan Mineral dan Vitamin dalam Madu
- Tabel 3.** Derajat kerusakan histologis hepar pada setiap kelompok
- Tabel 4.** Ringkasan hasil perhitungan dengan uji Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) pada empat kelompok sampel
- Tabel 5.** Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok kontrol
- Tabel 6.** Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok Perlakuan 1
- Tabel 7.** Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok Perlakuan 2
- Tabel 8.** Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok Perlakuan 3
- Tabel 9.** Analisa uji statistik Kruskal – Wallis.
- Tabel 10.** Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1
- Tabel 11.** Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok kontrol dengan kelompok Perlakuan 2
- Tabel 12.** Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok kontrol dengan kelompok Perlakuan 3

Tabel 13. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok Perlakuan 2

Tabel 14. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok Perlakuan 3

Tabel 15. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok Perlakuan 3

Tabel 16. Tabel konversi dosis manusia dan hewan

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Derajat kerusakan histologis hepar pada setiap kelompok

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Lobulus Hepar

Gambar 2. Struktur Hepar

Gambar 3. Foto mikroskopis hepar mencit yang normal

Gambar 4. Foto mikroskopis hepar mencit yang rusak ringan

Gambar 5. Foto mikroskopis hepar mencit yang rusak sedang

Gambar 6. Foto mikroskopis hepar mencit yang rusak berat

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data hasil pengamatan mikroskopis

Lampiran 2. Hasil Uji Statistik *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*

Lampiran 3. Konversi Dosis untuk Manusia dan Hewan

Lampiran 4. Foto-foto Preparat

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kebutuhan akan pemanis yang rendah kalori atau pemanis non nutritif telah diakui untuk mengontrol diabetes ataupun untuk tujuan lain yang pada intinya adalah membatasi asupan gula. Sakarin ditemukan secara tidak sengaja pada 1879 dan telah digunakan selama bertahun-tahun oleh para penderita diabetes. Pemanis yang lain diperkenalkan oleh industri minuman kaleng, dengan zat yang paling sukses adalah natrium siklamat karena tidak meninggalkan rasa pahit seperti sakarin (Hodgson dan Levi, 2000). Deputi Bidang Pengawasan Keamanan Pangan dan Bahan Berbahaya Badan Pengawasan Obat dan Makanan (POM) RI Fardiaz (2009) mengungkapkan bahwa di Indonesia masih banyak permasalahan terkait dengan penggunaan pemanis buatan. Meski sudah ada ketentuan batas maksimum yang diizinkan, penggunaan pemanis buatan masih sering dilakukan semena-mena melebihi batas maksimum yang diperbolehkan. Produk-produk yang melanggar ketentuan ini umumnya dibuat oleh para perajin dan pedagang makanan jajanan serta industri rumah tangga yang belum mendapat pembinaan atau penyuluhan. Pemakaian pemanis buatan banyak dipakai pedagang kecil dan industri rumahan karena dapat menghemat biaya produksi. Harga pemanis buatan jauh lebih murah dibandingkan dengan gula asli. Pemanis buatan hanya

sedikit ditambahkan untuk memperoleh rasa manis yang kuat. Badan POM hanya melakukan kajian terhadap siklalat dan sakarin karena disinyalir pemanis buatan ini digunakan tanpa batas oleh pedagang jajanan anak sekolah. Sakarin dan siklalat harganya jauh lebih murah dibandingkan dengan pemanis lainnya, seperti aspartam, acesulfam, alitam, dan neotam (Fardiaz, 2009).

Siklalat atau asam siklalat atau *cyclohexylsulfamic acid* ($C_6H_{13}NO_3S$) sebagai pemanis buatan digunakan dalam bentuk garam kalsium, kalium, dan natrium siklalat. Secara umum, garam siklalat berbentuk kristal putih, tidak berbau, tidak berwarna, dan mudah larut dalam air dan etanol, serta berasa manis. Siklalat memiliki tingkat kemanisan relatif sebesar 30 kali tingkat kemanisan sukrosa dengan tanpa nilai kalori. Siklalat menimbulkan rasa manis tanpa rasa ikutan atau rasa *after taste*. Dalam perdagangan dikenal sebagai Assugrin dan Sucaryl. Penggunaannya penegas cita rasa (*flavor enhancer*) terutama cita rasa buah (Menkes RI, 1999).

Beberapa percobaan menunjukkan bahwa pemberian siklalat dengan dosis yang sangat tinggi pada tikus percobaan dapat menyebabkan nekrosis dan degenerasi hepar (Hanim dkk, 1998). Ada pula sumber yang menyebutkan bahwa Siklalat memunculkan banyak gangguan bagi kesehatan, di antaranya tremor, migrain dan sakit kepala, kehilangan daya ingat, bingung, insomnia, iritasi, asma, hipertensi, diare, sakit perut, alergi, impotensi dan gangguan seksual, kebutakan, dan kanker (Fardiaz, 2009).

Tetapi pada tahun 1984, FDA (*Food and Drug Administration*) menyatakan bahwa siklamat tidak bersifat karsinogenik. JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) juga menyatakan bahwa siklamat merupakan bahan tambahan pangan yang aman untuk dikonsumsi manusia asal sesuai dengan ADI (*Acceptable Daily Intake*) yaitu sebanyak 11,0 mg/kg berat badan. Tetapi berdasarkan penelitian *in vitro* dan *in vivo*, siklamat bukan merupakan penyebab kanker melainkan diperkirakan sebagai pendorong terjadinya kanker. Berdasarkan hal tersebut maka di beberapa negara seperti Kanada dan USA sudah tidak mengizinkan penggunaan siklamat sebagai bahan tambahan pangan (BPOM, 2004).

Tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tapi tidak cukup kuat untuk berkompetisi dengan radikal bebas. Kekurangan antioksidan dapat dihasilkan dari produk seperti rempah, herbal, sayuran dan buah (Hernani dan Raharjo, 2006).

Madu adalah cairan manis alami berasal dari nektar tumbuhan yang diproduksi oleh lebah madu. Lebah madu mengumpulkan nektar madu dari bunga mekar, cairan tumbuhan yang mengalir di dedaunan dan kulit pohon dan kadang-kadang dari madu embun (Suranto, 2007).

Madu kaya akan vitamin A, betakaroten, vitamin B kompleks (lengkap), vitamin C, D, E, dan K. Beberapa khasiat madu disamping sebagai sumber energi, bagi kesehatan antara lain bermanfaat sebagai antibakteri, mengobati sakit maag, diare, meredakan alergi, memelihara kulit, kosmetika dan memerangi kanker (Suranto, 2007). Madu dalam Al-

Qur'an banyak disebut sebagai cairan yang enak rasanya dan banyak manfaatnya untuk kesehatan. Sedangkan aplikasinya sebagai obat di Indonesia masih sangat terbatas pada kalangan tertentu.

Dengan besarnya potensi antioksidan yang terkandung dalam madu dan efek proteksi madu terhadap hepar belum banyak diteliti, maka peneliti bermaksud ingin mengetahui apakah madu dapat memberikan efek proteksi terhadap hepar mencit yang diinduksi natrium siklamat.

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah pemberian Madu dapat mengurangi derajat kerusakan sel hepar akibat pemberian pemanis buatan Natrium Siklamat pada mencit (*Mus musculus*) ?
2. Apakah peningkatan dosis madu dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan sel hepar mencit yang terpapar Natrium Siklamat?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui apakah pemberian madu secara per oral dapat mengurangi kerusakan sel hepar mencit yang terpapar Natrium Siklamat pada mencit (*Mus musculus*).

2. Mengetahui apakah peningkatan dosis madu dapat meningkatkan efek proteksinya terhadap paparan Natrium Siklamat.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis :

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang madu dalam mengurangi kerusakan sel hepar mencit akibat pemberian Natrium Siklamat
- b. Penelitian ini diharapkan dapat berguna menjadi bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut.

2. Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan madu sebagai obat alternatif untuk mencegah kerusakan hepar.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Hepar

a. Struktur Anatomi dan Fisiologi Hepar

Hepar yang terletak di antara persimpangan antara saluran cerna dan bagian tubuh lainnya, mengemban tugas yang sangat berat untuk mempertahankan homeostasis metabolik tubuh. Tugas tersebut mencakup mengolah asam amino, karbohidrat, lemak, dan vitamin dari makanan, membentuk protein serum, serta mendetoksifikasi dan mengeluarkan produk sisa endogen dan xenobiotik polutan ke dalam empedu (Robbin dkk, 2004). Hepar adalah organ yang sangat bertanggung jawab dalam melaksanakan proses metabolisme obat terutama obat-obatan yang diberikan melalui oral. Secara alami, tubuh mengeluarkan toksin-toksin melalui hepar dengan detoksifikasi. Hati yang sehat melakukan detoksifikasi dengan 2 mekanisme, disebut fase I dan fase II. Pada fase I, enzim-enzim dalam tubuh menggerakkan zat-zat racun agar lebih mudah diproses di fase II. Di fase II ini ada lagi enzim-enzim lain yang mengubah racun-racun menjadi bentuk yang lebih mudah larut oleh air. Tubuh kemudian akan membuangnya lewat urine atau feses (BPOM, 2004).

Sementara hati yang tidak sehat tidak bisa melakukan detoksifikasi secepat yang dilakukan oleh hati yang sehat, maka bila proses detoksifikasi lebih lambat dan hati yang belum selesai bekerja men-detoksifikasi itu sudah diberi serangan racun-racun yang harus didetoksifikasi, akibatnya akan lebih banyak racun yang beredar ke seluruh tubuh lewat darah (BPOM, 2004).

Sebagian racun yang tidak dapat diubah atau hanya sedikit berubah akan sulit dibuang dari tubuh karena lolos dari kerja hati. Akhirnya racun-racun itu bersembunyi di jaringan tubuh berlemak, di otak, dan sel sistem saraf. Racun-racun yang tersimpan itu pelan-pelan akan ikut aliran darah dan menyumbang penyakit-penyakit kronis. Misalnya, sakit liver yang bisa berujung pada hepatitis, dan semakin kronis menjadi sirosis. Salah satu cara mengenali gejala-gejala awal bahwa fungsi kerja detoksifikasi hati terganggu karena banyak toksin yang tak bisa diproses tubuh dan mengendap adalah mudah lelah, rasa letih, kulit kusam, dan mudah jatuh sakit. Beberapa contoh gejala yang penting karena bisa menjadi petunjuk penyakit hati yang lebih serius, yaitu (BPOM, 2004):

- 1) Perubahan warna kulit atau menjadi kuning
- 2) Perut bengkak atau nyeri hebat pada perut.
- 3) Gatal pada kulit yang berkepanjangan.
- 4) Warna urine sangat gelap atau feses berwarna pucat

- 5) Kelelahan kronis, mual atau kehilangan nafsu makan.

Unit fungsional dasar hati adalah *lobulus hati*, yang berbentuk silindris dengan panjang beberapa milimeter dan berdiameter 0,8 sampai 2 milimeter. Hati manusia berisi 50.000 sampai 100.000 lobulus. Lobulus hati terbentuk mengelilingi sebuah *vena sentralis* yang mengalir ke vena hepatica kemudian ke vena cava. Lobulus sendiri dibentuk terutama dari banyak *lempeng sel hepar* yang memancar secara sentrifugal dari vena sentralis seperti jeruji roda. Masing-masing lempeng hepar tebalnya satu sampai dua sel, dan di antara sel yang berdekatan terdapat *kanalikuli biliaris* kecil yang mengalir ke *duktus biliaris* di dalam septum fibrosa yang memisahkan lobulus hati yang berdekatan (Guyton dan Hall, 1997).

Pembagian lobulus hepar sebagai unit fungsional dibagi menjadi tiga zona (Leeson dkk, 1996):

Zona 1 : zona aktif, sel-selnya paling dekat dengan pembuluh darah, akibatnya zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk.

Zona 2 : zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah.

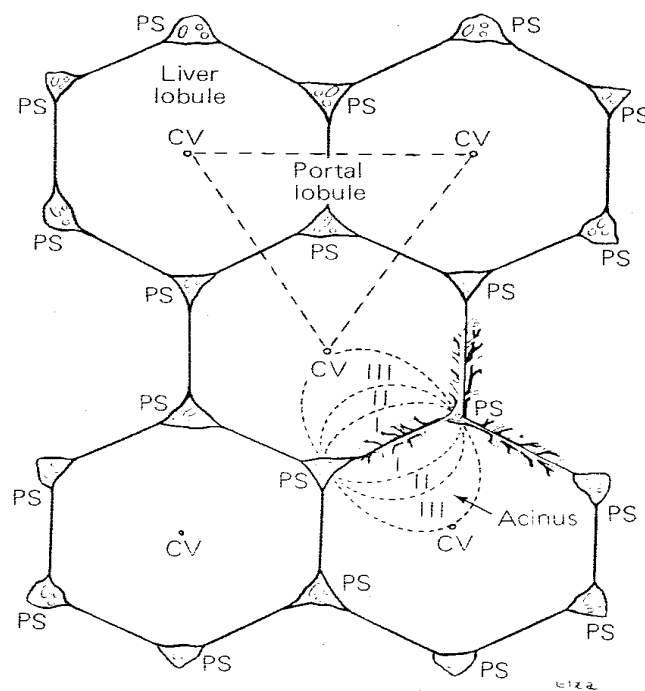
Zona 3 : zona pasif, aktifitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhan meningkat

Juga di dalam septum terdapat *venula porta* kecil yang menerima darah terutama dari vena saluran pencernaan melalui vena porta. Dari *venula* ini darah mengalir ke *sinusoid hepar* gepeng dan bercabang yang terletak di antara lempeng-lempeng hepar kemudian ke vena sentralis. Dengan demikian sel hepar terus menerus terpapar dengan darah vena porta. Selain vena porta juga ditemukan *arteriole hepar* di dalam septum interlobularis. Arteriole ini menyuplai darah arteri ke jaringan septum di antara lobulus yang berdekatan, dan banyak arteriol kecil juga yang mengalir langsung ke sinusoid hati, paling sering pada sepertiga jarak ke septum interlobularis (Guyton dan Hall, 1997).

Selain sel-sel hepar, sinusoid vena dilapisi oleh dua tipe sel yang lain : (1) *sel endotel* khusus dan (2) *sel Kupffer* besar, yang merupakan makrofag jaringan (juga disebut sel retikuloendotelial), yang mampu memfagositosis bakteri dan benda asing lain dalam darah sinus hepatikus. Lapisan endotel sinusoid vena mempunyai pori yang sangat besar, beberapa diantaranya berdiameter hampir 1 mikrometer. Di bawah lapisan ini, terletak di antara sel endotel dan sel hepar, terdapat ruang jaringan yang sangat sempit yang disebut *ruang Disse*. Jutaan ruang Disse kemudian menghubungkan pembuluh limfe di dalam septum interlobularis. Oleh karena itu,

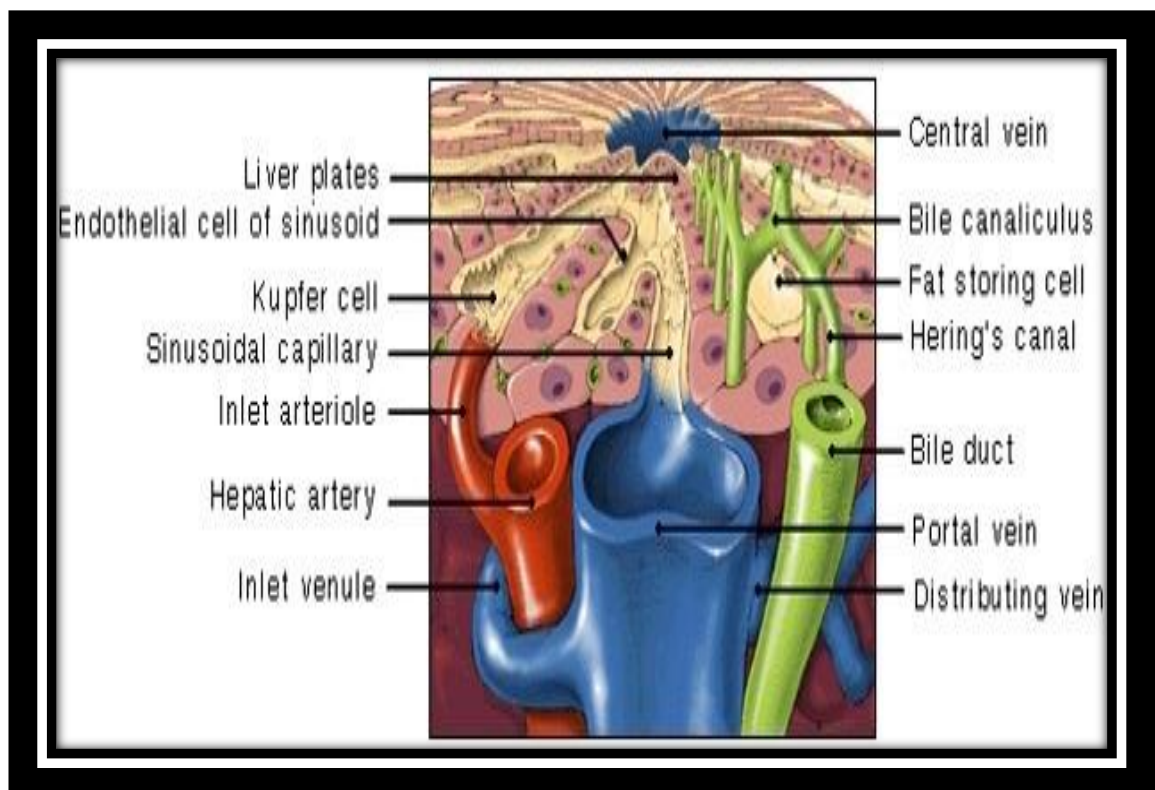
kelebihan cairan di dalam ruangan ini dikeluarkan melalui aliran limfatik. Karena besarnya pori di endotel, zat di dalam plasma bergerak bebas ke dalam ruang disse. Bahkan banyak protein plasma yang berdifusi dengan bebas ke ruangan ini (Guyton dan Hall, 1997).

Gambar 1. Lobulus Hepar



(Suselo, 2009)

Gambar 2. Struktur Hepar



(Suselo,2009)

b. Mikroskopis Kerusakan Hepar

Tipe kerusakan organ hepar tergantung pada tipe agen toksikannya, berat intoksikasi, dan lama menderita baik akut maupun kronis (Hodgson dan Levi, 2000).

Suatu proses degeneratif yang mengarah pada kematian sel disebut nekrosis. Nekrosis biasanya adalah kerusakan hepar yang bisa terjadi secara fokal maupun masif. Fokal nekrosis adalah

nekrosis yang terlokalisasi dan mempengaruhi hanya beberapa hepatosit. Sedangkan nekrosis masif atau nekrosis luas mengenai seluruh lobus. Kematian sel terjadi bersamaan dengan rupturnya membran plasma, dan didahului oleh beberapa perubahan morfologi seperti edema sitoplasma, dilatasi dari retikuloendoplasmik, akumulasi trigliserid, pembengkakan mitokondria dan kekacauan pada krista, juga terpisahnya organela dan nukleusnya. Peristiwa biokimiawi yang mungkin menyebabkan kerusakan hepar adalah ikatan antara metabolit reaktif dan protein juga lemak tak jenuh (menginduksi peroksidasi lemak dan selanjutnya pengrusakan membran), gangguan keseimbangan homeostasis Ca^{2+} seluler, gangguan pada jalur metabolik, perubahan keseimbangan Na^+ dan K^+ , dan hambatan pada sintesa protein. Karena hepar memiliki kemampuan untuk beregenerasi, lesi nekrotik bukan merupakan suatu keadaan yang genting. Tetapi nekrotik hepar yang luas bisa membawa pada kerusakan bahkan kegagalan hepar (Hodgson dan Levi, 2000). Hepar memiliki cadangan fungsional yang sangat besar, dan selain penyakit hepar fulminan, regenerasi terjadi pada semua penyakit (Robbin, dkk, 2004). Pada jejas ringan, hepar dapat segera beregenerasi kembali pada fungsinya semula. Namun, kapasitas cadangan hepar dapat habis apabila hepar terkena penyakit yang

menyerang seluruh parenkim hepar sehingga timbul kerusakan pada hepar (Robbin dkk, 2004).

2. Bahan Tambahan Kimia pada Makanan

Bahan-bahan kimia ditambahkan pada makanan untuk beberapa alasan, yaitu sebagai pengawet baik antibakteri, antijamur ataupun antioksidan dan merubah karakteristik fisik baik merubah rasa, warna maupun bau. Pada umumnya bahan tambahan makanan tersebut telah dibuktikan aman dan tidak menyebabkan kanker. Tetapi dari ratusan bahan tambahan yang tersebar di dunia, banyak di antaranya yang tidak dites dengan adekuat. Bahkan pertanyaan tentang interaksi sinergis antara komponen-komponennya tidak digali dengan adekuat (Hodgson dan Levi, 2000).

Siklamat atau asam siklamat atau *cyclohexylsulfamic acid* ($C_6H_{13}NO_3S$) memiliki nama dagang yang dikenal sebagai Assugrin, Sucaryl, *Sugar Twin* dan *Weight Watcher*. Siklamat sampai saat ini sudah dilarang penggunaannya di Amerika Serikat, Kanada dan Inggris dimana larangan ini sudah dimulai sejak tahun 1970 dikarenakan produk degradasinya (sikloheksil amina) bersifat karsinogenik. Meskipun demikian, penelitian yang mendasari pelarangan penggunaan siklamat banyak mendapat kritik karena siklamat baru menunjukkan efek karsinogeniknya jika digunakan pada tingkat yang sangat tinggi dan tidak mungkin terjadi dalam praktek sehari-hari.

Oleh karena itu FAO / WHO masih memasukkan siklamat sebagai bahan tambahan makanan yang diperbolehkan (Susalit, 2008).

Hasil metabolisme dari natrium siklamat yaitu sikloheksilamina mempunyai sifat karsinogenik (Lutfi, 2004). Kerusakan hati akut terjadi pada pemberian natrium siklamat dosis sedang dan tinggi, yaitu 12,5 gr/kg bb/hari dan 18,5 gr/kg bb/hari. Kerusakan yang timbul berupa atrofi lobulus dan atrofi sinusoid sel hati, sehingga vena sentralis menyempit karena adanya pembendungan sel-sel darah. Selain itu sel hati juga mengalami degenerasi dan nekrosis (Hanim dkk, 1998).

3. Madu

Sebagai produk alami, komposisi madu sangat bervariasi. Madu sebagai obat dengan berjuta khasiat sudah dikenal sejak jaman dahulu, bahkan Al-Quran pun menjelaskan manfaat lebah dan produknya sebagai penyembuh berbagai macam penyakit.

Madu merupakan salah satu nutrisi alami sumber energi. Satu kilogram madu mengandung 3.280 kalori atau setara dengan 50 butir telur ayam, 5,7 liter susu, 25 buah pisang, 40 buah jeruk, 4kg kentang dan 1,68 kg daging (Suranto, 2007).

Tabel 1. Komposisi Madu

Kandungan	Rata-rata	Kisaran	Deviasi Standar
Fruktosa / Glukosa	1,23	0,76-1,86	0,126
Fruktosa %	38,38	30,91-44,26	1,77
Glukosa %	30,31	22,89-44,26	3,04
Maltosa %	7,3	2,7-16,0	2,1
Sukrosa %	1,31	0,25-7,57	0,87
Gula %	83,72%		
Mineral %	0,169	0,020-1,028	0,15
Asam bebas	0,43	0,13-0,92	0,16
Nitrogen	0,041	0,000-0,133	0,026
Air %	17,2	13,4-22,9	1,5
Ph	3,91	3,42-6,01	-
Total keasaman meq/kg	29,12	8,68-59,49	10,33
Protein mg/100g	168,6	57,7-56,7	70,9

(Suranto, 2007)

Berikut komposisi kimiawi dari Madu

Tabel 2. Kandungan Mineral dan Vitamin dalam Madu

Nutrisi	Unit	Jumlah rata-rata dalam 100 gr Madu	Rekomendasi Kebutuhan sehari (RDA)
Kalori	Kkal	304	2.800
Vitamin :			
A	IU	-	5.000
B1 (thiamin)	Mg	0,004-0,006	1,5
B2 (riboflavin)	Mg	0,002-0,06	1,7
Asam nikotinat (niasin)	Mg	0,11-0,36	20
B6 (piridoksin)	Mg	0,008-0,32	2,0
Asam pantotenat	Mg	0,02-0,11	10
Asam folat	Mg	-	0,4
B12 (sianokobalamin)	Mg	-	6
C	IU	2,2-2,4	60
D	IU	-	400
E (tokoferol)		-	30
Biotin		-	0,3
Mineral :			
Kalsium	Mg	4-30	1.000
Klorin	Mg	2-20	-
Tembaga	Mg	0,01-0,12	
Yodium	Mg	-	0,15
Besi	Mg	1-3,4	18
Magnesium	Mg	0,7-13	400
Fosfor	Mg	2-60	1.00
Kalium	Mg	10-470	-
Natrium	Mg	0,6-40	-
Seng	Mg	0,2-0,5	15

(Suranto,2007)

Dari tabel-tabel tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa madu adalah suatu produk alam yang kaya akan vitamin dan mineral.

National Honey Board 2005 mengungkapkan salah satu kelebihan madu yaitu sebagai sumber antioksidan. Penelitian menunjukkan bahwa madu kaya akan antioksidan. Jumlah dan kandungan antioksidan sangat tergantung pada sumber nektarnya. Madu yang berwarna gelap (seperti madu manuka) terbukti memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi daripada madu yang berwarna terang (seperti madu akasia) (Suranto, 2007). Ahli dari Universitas Illinois yang meneliti 19 sampel madu yang berasal dari 14 sumber tumbuhan yang berbeda semakin mengukuhkan bahwa tiap madu memiliki efek antioksidan yang berbeda. Sebuah penelitian yang dilakukan di University of Zagreb Croatia menemukan bahwa konsumsi madu bisa menghentikan perkembangan tumor dan penyebarannya (Suranto, 2007)

Penelitian Kilicoglu (2008) membuktikan efek anti mikrobial dari madu, hal ini berkaitan dengan osmolaritas madu, keasaman, kandungan flavonoid maupun hidrogen peroksida. Madu memberikan efek proteksi terhadap mekanisme toksisitas pada sirkulasi dan hati yang disebabkan oleh ikterus obstruktivus. Madu berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah kerusakan hepar. Manifestasinya adalah terjadi peningkatan *nitrit oxide* (NO) dalam jaringan hati yang

berfungsi dalam mengeliminasi radikal bebas sehingga kerusakan hepar dapat dicegah (Erguder, 2008).

Kandungan vitamin E telah banyak diteliti yang berfungsi sebagai penghambat tumor hati dan uterus, mempertahankan berat badan tikus yang disakiti, jumlah eritrosit dan leukosit, kadar Hb, menghambat patofisiologi tumor indung telur dan endometriosis (Hanim dkk, 1998).

Beberapa penelitian mengungkapkan efek antioksidan yang bermacam-macam yang terkandung pada madu. Antioksidan merupakan senyawa penetral radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil yang terus-menerus menyerang tubuh dari luar seperti sinar matahari, polusi dan asap rokok maupun yang menyerang tubuh dari dalam seperti metabolisme dan kehidupan normal. Molekul ini mengalami suatu reaksi berantai yang menimbulkan jutaan radikal bebas baru yang merusak protein, sel, jaringan dan organ tubuh. Radikal bebas ini menyebabkan penuaan, perubahan degeneratif, radang, dan penyakit yang membuat lama hidup menjadi singkat. Radikal bebas bisa merusak sel melalui proses oksidasi, apabila berlangsung lama dapat menyebabkan berbagai penyakit kronis seperti penyakit jantung dan kanker (IPTEKnet, 2005).

Konsumsi madu untuk pencegahan penyakit pada manusia adalah 1-2 kali/hari 1 sendok makan. Sedangkan untuk

menyembuhkan suatu penyakit, dianjurkan untuk minum lebih banyak yaitu 3-4 kali/hari 1 sendok makan (Suranto, 2007).

4. Mekanisme perlindungan Madu terhadap kerusakan Sel hepar akibat pemberian Natrium Siklamat

Pada prinsipnya, hepar rentan terhadap berbagai gangguan penyakit, toksik, mikroba dan sirkulasi (Robbin dkk, 2004). Natrium siklamat memiliki hasil metabolisme yang merupakan racun bagi tubuh yaitu sikloheksilamina, dimana senyawa ini merupakan suatu senyawa karsinogenik (Luthfi, 2004). Akumulasi natrium siklamat ternyata dapat menimbulkan radikal bebas pada tikus sehingga terjadi ketidakseimbangan dan menimbulkan kerusakan sel. Akumulasi natrium siklamat dapat mempengaruhi aktivitas sistem antioksidan, yaitu menyebabkan penurunan SOD (Superoksida Dismutase) dan katalase juga penumpukan lemak pada hepar (Hanim dkk, 1998). Penumpukan natrium siklamat menyebabkan stress oksidatif sehingga asam lemak esensial pada membran plasma menghilang dan hal ini mengganggu permeabilitas membran. Akibatnya radikal bebas dari pemanis buatan dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dan mempengaruhi organel dalam sel, selanjutnya radikal bebas tersebut dapat merusak lisosom, inti sel dan sebagainya sehingga menimbulkan mutagenesis (Hanim dkk, 1998).

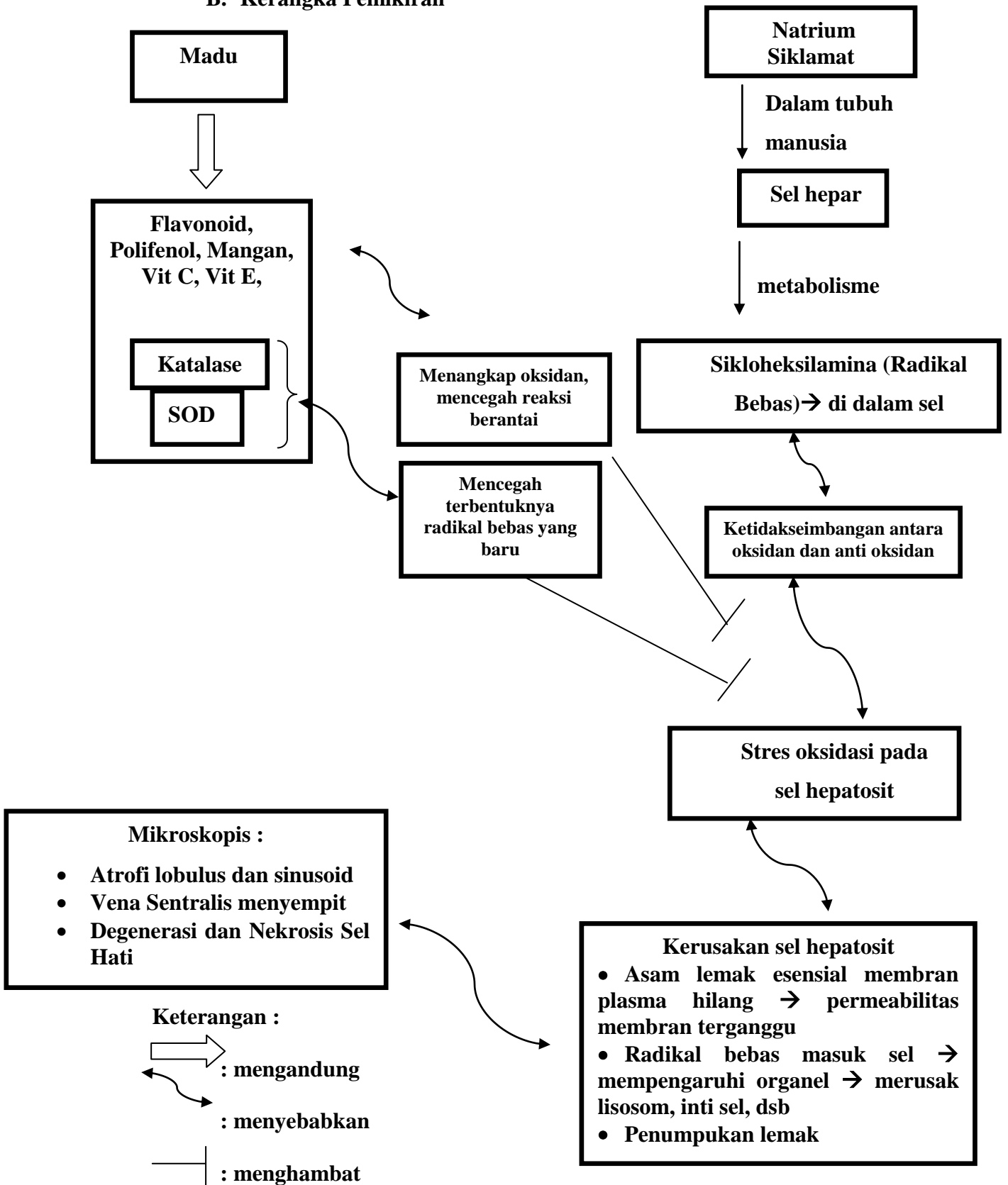
Madu mengandung bermacam-macam zat aktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Komponen antioksidan madu diantaranya adalah vitamin C, E, polifenol, mangan, flavonoid, enzim katalase, SOD dan beberapa antioksidan lain. Antioksidan tersebut dapat meredam dampak negatif dari oksidan dengan cara memberikan elektronnya pada oksidan (Bagiada, 1995). Antioksidan mampu mengubah oksidan menjadi molekul yang tidak berbahaya. Antioksidan juga mampu mencegah pembentukan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan yang ditimbulkannya (Widjaja, 1997).

Pada beberapa percobaan, madu dapat membangkitkan dan menguatkan kerja hepar. Efek yang bagus dari madu tersebut disebabkan oleh beberapa sebab, yaitu (Hammad, 2009) :

- a. Membaiknya kondisi ditandai dengan menurunnya kadar gula dalam darah
- b. Penuhnya cadangan glikogen pada hepar
- c. Mengatasi penumpukan lemak pada hepar

Madu mengandung multivitamin dan multi mineral. Pada beberapa penelitian, penggunaan multivitamin tiap harinya terbukti berpengaruh terhadap risiko yang lebih rendah pada penyakit jantung, kanker usus dan kanker payudara terutama pada pengkonsumsi alkohol (Willet dan Meir, 2001). Melalui mekanisme antioksidan salah satunya adalah SOD inilah madu dapat mencegah kerusakan histologis hepar.

B. Kerangka Pemikiran



C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah :

1. Pemberian Madu dapat mengurangi kerusakan sel hepar mencit (*Mus musculus*) yang terpapar Natrium Siklamat.
2. Peningkatan dosis Madu dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan sel hepar mencit (*Mus musculus*) yang terpapar Natrium Siklamat.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Peneliti mengadakan perlakuan terhadap sampel yang telah ditentukan yaitu berupa hewan coba di laboratorium.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subjek Penelitian

Populasi : Mencit (*Mus musculus*). Berusia 2-3 bulan dengan berat badan ± 20 gram berjenis kelamin jantan.

Sampel : Menurut Purawisastra (2001), jumlah sampel yang digunakan berdasarkan *rumus federer*, yaitu:

$$(k-1)(n-1) > 15$$

$$(4-1)(n-1) > 15$$

$$3n-3 > 15$$

$$3n > 18$$

$$n > 6$$

Keterangan :

k : jumlah kelompok

n : jumlah sampel dalam tiap kelompok

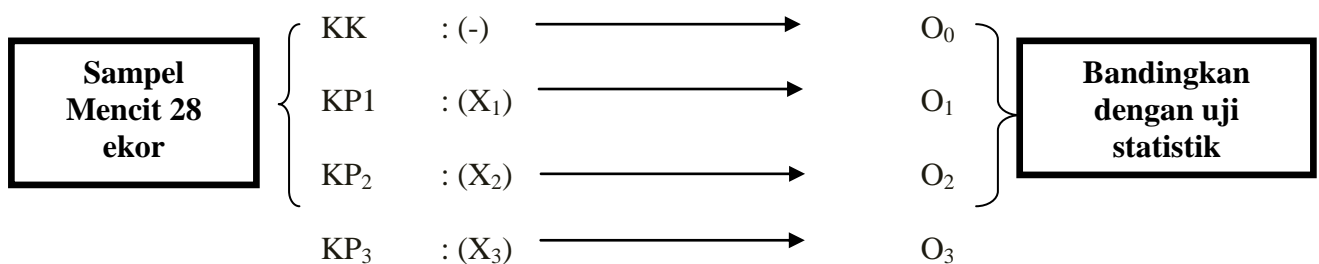
Pada penelitian ini, jumlah sampel untuk tiap kelompok ditentukan sebanyak 7 ekor mencit berjenis kelamin jantan ($n > 6$), dan jumlah kelompok mencit ada 4 sehingga penelitian ini membutuhkan 28 mencit dari populasi yang ada.

D. Teknik Sampling

Teknik sampling yang dipakai adalah *accidental sampling*. Sampel diperoleh dengan mengambil begitu saja subyek penelitian yang ditemui dari populasi yang ada.

E. Desain Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *The post test only control group design*



Keterangan :

KK : Kelompok kontrol tanpa diberi madu maupun natrium siklambat

- KP₁ : Kelompok perlakuan I yang diberi natrium siklambat tanpa diberi madu
- KP₂ : Kelompok perlakuan II yang diberi natrium siklambat dan madu dosis I
- KP₃ : Kelompok perlakuan III yang diberi natrium siklambat dan madu dosis II
- (-) : Pemberian standart pakan biasa, aquadest per oral 0,1 mL/20 g BB dan 0,1 mL/20 g BB selama 14 hari
- X₁ : Pemberian standart pakan biasa, aquadest per oral 0,1 mL/20g BB setiap hari selama 14 hari berturut-turut dan pada hari ke 12, 13 dan 14 diberi natrium siklambat 0,1 mL / 20 gram BB mencit.
- X₂ : Pemberian larutan madu per oral dosis I yaitu 0,2 mL/ 20g BB mencit selama 14 hari berturut turut dan pada hari ke 12, 13 dan 14 diberi natrium siklambat 0,1 mL / 20 gram mencit
- X₃ : Pemberian larutan madu per oral dosis II yaitu 0,4 mL/ 20g BB selama 14 hari berturut turut dan hari ke 12, 13 dan 14 diberikan natrium siklambat 0,1 mL / 20 gram mencit
- O₀ : Hasil Pengamatan derajat kerusakan sel hepar pada kelompok kontrol
- O₁ : Hasil Pengamatan derajat kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan I

O₂ : Hasil Pengamatan derajat kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan II

O₃ : Hasil Pengamatan derajat kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan III

F. Instrumentasi dan Bahan Penelitian

1. Alat :

- a. Kandang hewan percobaan
- b. Timbangan duduk dan timbangan neraca
- c. Sonde lambung
- d. Alat bedah hewan percobaan (scalpel, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin)
- e. Alat untuk pembuatan preparat histologi
- f. Mikroskop cahaya medan terang
- g. Foto Canon
- h. Gelas ukur dan pengaduk
- i. Pemanas dan alat pemotong
- j. *OptiLab viewer*

2. Bahan :

- a. Makanan hewan percobaan (pelet) dan air PAM
- b. Bahan pengecatan preparat histologi dengan pengecatan HE
- c. Madu
- d. Natrium siklamat

G. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel bebas → Pemberian Madu. Skala pengukuran dengan skala ordinal
2. Variabel terikat → Derajat kerusakan sel Hepar. Skala pengukuran dengan skala ordinal
3. Variabel luar
 - a. Variabel luar yang dapat dikendalikan
Jenis makanan, variasi genetik, jenis kelamin, berat badan dan umur.
 - b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan
Kondisi psikologis, reaksi hipersensitifitas dan keadaan awal Hepar mencit.

H. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Pemberian madu

Penggunaan madu untuk pencegahan penyakit pada manusia adalah 1-2 kali/hari 1 sendok makan (Suranto, 2007). Dosis dikonversikan dengan table konversi Ngatidjan sehingga ditemukan dosis yang sesuai untuk mencit (*Mus musculus*). Pemberian Madu diberikan peroral dengan sonde lambung dalam 2 dosis

Dosis I : 0,04 mL madu / 20 gram mencit / hari yang diencerkan hingga 0,2 cc

Dosis II : 0,08 mL madu / 20 gram mencit / hari yang diencerkan
hingga 0,4 cc

Madu akan diberikan selama 14 hari berturut-turut.

2. Variabel Terikat : Kerusakan sel hepar

Pembagian derajat kerusakan sel hepar menurut Pramyothin *et al* dalam Wongnawa (2006) membaginya seperti berikut ini:

- | | | | |
|---|----------|---|--------------------------------------|
| 0 | (normal) | : | Tidak ada nekrosis di sekitar zona 3 |
| 1 | (ringan) | : | Nekrosis di zona 3 (Sentrolobuler) |
| 2 | (sedang) | : | Nekrosis luas terbatas pada zona 2 |
| 3 | (berat) | : | Nekrosis meluas sampai pada zona 1 |

Adapun tanda-tanda kerusakan sel :

- a. Sel yang mengalami *pyknosis* intinya kisut dan bertambah basofil, berwarna gelap batasnya tidak teratur.
- b. Sel yang mengalami *karyorrhexis* inti mengalami fragmentasi atau hancur dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel.
- c. Sel yang mengalami *karyolisis* yaitu kromatin basofil menjadi pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja. Sitoplasma berubah menjadi massa asidofil suram bergranula. (Price *et al.*, 1990).

3. Variabel luar yang dapat dikendalikan. Variabel ini dapat dikendalikan melalui homogenisasi.

a. Jenis makanan

Makanan yang diberikan berupa pelet dan minuman dari air PAM yang tidak terbatas.

b. Variasi genetik

Mencit (*Mus musculus*)

c. Jenis kelamin

Mencit berjenis kelamin jantan

d. Umur

Mencit berumur \pm 2-3 bulan.

e. Suhu udara

Hewan percobaan ditaruh dalam ruangan dengan suhu yang sama

f. Berat badan

Berat badan hewan percobaan \pm 20 gram.

4. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan

a. Kondisi psikologis mencit yang dipengaruhi lingkungan sekitar, lingkungan yang terlalu ramai dan gaduh, pemberian perlakuan yang berulang kali dan perkelahian antar mencit dapat mempengaruhi kondisi psikologis mencit.

b. Reaksi hipersensitivitas yang dapat terjadi karena adanya variasi kepekaan mencit terhadap zat yang digunakan.

- c. Keadaan awal hati mencit yang tidak diperiksa pada penelitian ini sehingga mungkin saja ada mencit yang sebelum perlakuan hatinya sudah mengalami kelainan.

I. Cara Kerja

1. Menyiapkan Madu.

Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu murni yang terstandar sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) dengan nama dagang *Madu Al-Ghuroba'*. Dosis yang diberikan ditentukan berdasarkan hasil konversi dari manusia ke mencit (Ngatidjan, 1991) yang setara dengan pemberian 1 sendok makan penuh (15mL) dan 2 sendok makan penuh (30mL) pada orang dewasa dengan berat badan 70 kg.

Pada manusia, konsumsi madu untuk pencegahan penyakit adalah 1-2 kali / hari 1 sendok makan (Suranto, 2007). Dosis pemberian madu ini dibedakan dalam 2 dosis, yaitu 0,04 mL/20 gram BB mencit dan 0,08 mL/20 gram BB mencit. Masing-masing dosis yang disondekan tersebut adalah madu yang telah diencerkan dengan aquadest menjadi volume 0,2 mL dan 0,4 mL. Madu dosis I diberikan sehari sekali selama 14 hari berturut-turut pada kelompok perlakuan I. Sedangkan madu dosis II diberikan sehari sekali selama 14 hari berturut-turut pada kelompok perlakuan II.

Perhitungan dosis madu :

- a. Dosis I setara dengan dosis untuk manusia yaitu 15 mL.

Nilai konversi x 15 mL madu = $0,0026 \times 15 \text{ mL madu} = 0,04 \text{ mL}$
madu

Pengenceran madu : 2 mL madu + aquadest → 10 mL larutan
madu

Dalam 1 mL larutan mengandung 0,2 mL madu

0,2 mL larutan mengandung 0,04 mL madu

Madu yang disondekan adalah madu yang telah diencerkan. Jadi
madu yang akan disondekan pada mencit dengan berat badan 20
gram adalah 0,2 mL yang diberikan selama 14 hari berturut turut.

- b. Dosis II madu adalah 2x dari madu dosis I

$2 \times 0,04 \text{ mL madu} = 0,08 \text{ ml}$

$2 \times 0,2 \text{ mL larutan madu} = 0,4 \text{ mL}$

Madu dosis ke II ini akan diberikan berturut turut selama 14 hari
dengan dosis 0,4 mL

Di luar jadwal perlakuan, mencit diberi makan pelet dan air minum
PAM *ad libitum*.

2. Natrium Siklambat

Natrium Siklambat yang digunakan pada penelitian ini adalah
Natrium Siklambat yang dibeli dari toko pemanis buatan terdekat. Dosis
yang diberikan ditentukan berdasarkan konversi dosis dari tikus ke

mencit (Ngatidjan, 1991) yang setara dengan 18,5 g/ kg BB/ hari (dosis tinggi) pada tikus putih dengan berat 200 gram (Hanim dkk, 1998).

Dosis pada tikus putih yang menyebabkan kerusakan tanpa menimbulkan kematian adalah 18,5 g/kg BB/ hari.

Perhitungan dosis Natrium siklamat :

Dosis pada tikus putih dikonversikan ke dosis mencit :

$$= 18,5 \text{ g/kg BB / hari} \times 0,14$$

$$= 2,59 \text{ g/kg BB / hari}$$

$$= 2.590 \text{ mg/ 1.000 g BB / hari}$$

$$= 51,8 \text{ mg/ 20gr / hari}$$

Natrium siklamat 25g dilarutkan dengan aquadest sampai menjadi 48,2 mL sehingga dalam 0,1 mL larutan Natrium siklamat mengandung 51,8 mg Natrium siklamat.

Natrium siklamat diberikan selama 3 hari berturut turut yaitu pada hari ke -12, 13 dan 14. Pemberian Natrium siklamat dengan cara ini dimaksudkan untuk menimbulkan kerusakan pada sel hepar berupa nekrosis dan juga penyempitan vena sentralis tanpa menimbulkan kematian pada mencit.

3. Persiapan mencit

Mencit diperoleh dari Universitas Setia Budi (USB) Surakarta. Mencit diadaptasikan selama tujuh hari di Laboratorium Histologi

Fakultas Kedokteran UNS Surakarta. Pada hari ke-8 dilakukan penimbangan untuk menentukan dosis dan dilakukan perlakuan.

4. Pengelompokan subjek

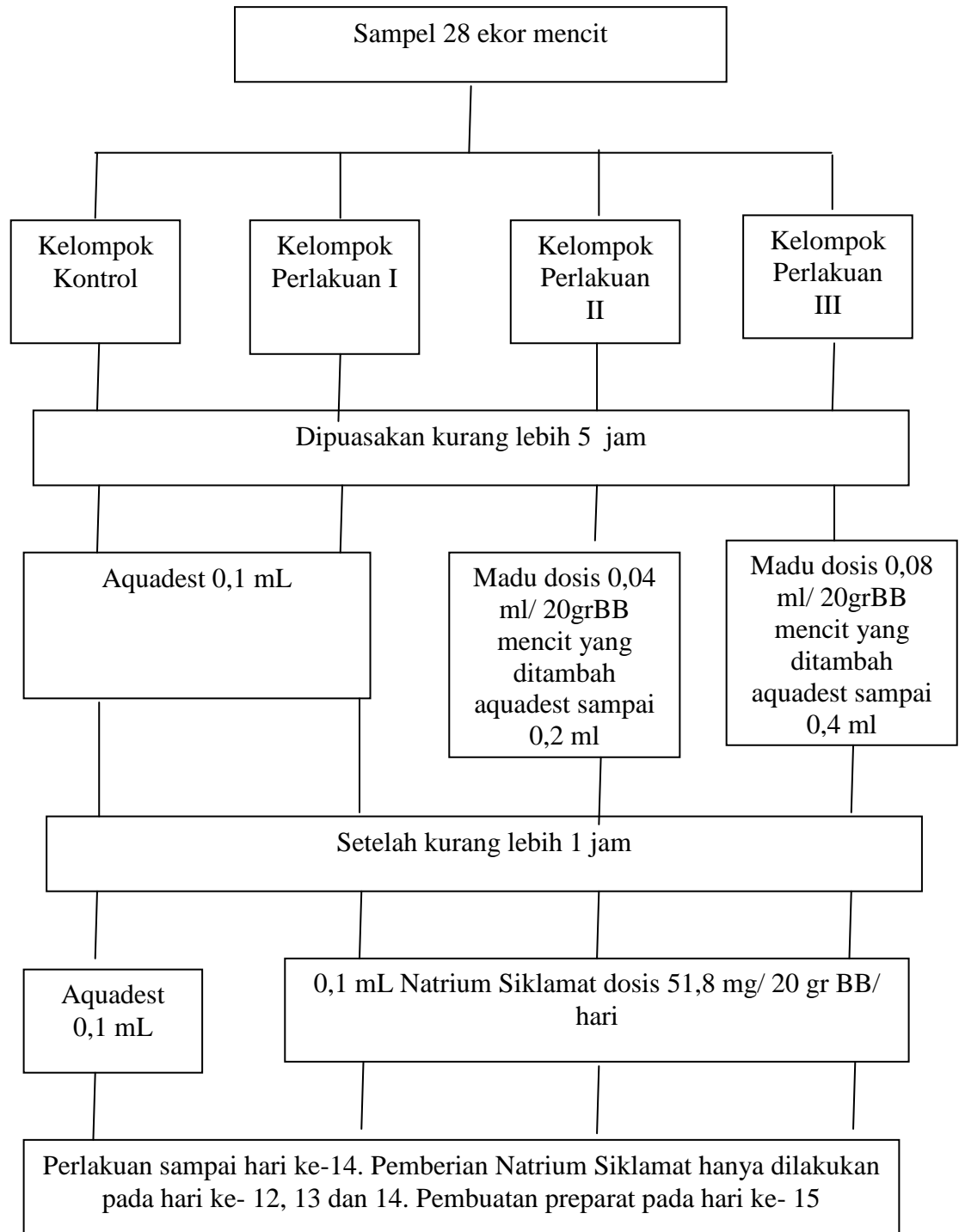
Pengelompokan subjek dilakukan secara random

- a. KK sebagai kelompok kontrol, diberikan aquadest per oral 0,1 mL/20 gram BB mencit dan 0,1 mL/20 gram BB mencit setiap hari selama 14 hari berturut-turut.
- b. KP₁ sebagai kelompok Perlakuan I diberi aquadest per oral 0,1 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut-turut dan pada hari ke 12, 13 dan 14 juga diberikan natrium siklomat per oral 0,1 mL/20 gram BB mencit
- c. KP₂ sebagai kelompok perlakuan II, diberi larutan madu per oral dosis ke I yaitu 0,2 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut turut dimana pada hari ke 12, 13 dan 14 juga diberikan natrium siklomat per oral 0,1 mL / 20 gram BB mencit setelah 1 jam pemberian madu.
- d. KP₃ sebagai kelompok perlakuan III diberi larutan madu dosis II per oral yaitu 0,4 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut turut dimana pada hari ke 12, 13 dan 14 juga diberikan natrium siklomat per oral 0,1 mL / 20 gram BB mencit setelah 1 jam pemberian madu.

Pemberian madu dilakukan berturut turut dimaksudkan agar Hepar terlindungi terlebih dahulu sebelum dipaparkan dengan perusak. Setiap sebelum pemberian madu dan natrium siklamat, mencit dipuasakan dahulu kurang lebih 5 jam untuk mengosongkan lambung. Pemberian natrium siklamat diberikan setelah 1 jam pemberian madu dimaksudkan agar madu terabsorbsi terlebih dahulu.

Percobaan mulai dilakukan pada minggu II dan percobaan berlangsung selama 14 hari.

Skema Pemberian Perlakuan



5. Pengukuran Hasil

Pada hari ke 15 setelah perlakuan pertama diberikan, semua hewan percobaan dikorbankan dengan cara *dislokasi vertebra cervikalis*, kemudian organ *hepar* diambil untuk selanjutnya dibuat preparat histologi dengan metode blok paraffin dengan pengecatan HE. Hal ini dilakukan pada hari ke-15 agar efek perlakuan tampak nyata. Pengambilan *hepar* bagian *dextra* hanya untuk penyeragaman sampel. Dari tiap lobus kanan *hepar* dibuat 1 preparat, masing-masing preparat terdiri atas 3 potongan dengan tebal irisan 3-8 um. Jarak antara irisan satu dengan yang lain kira-kira 25 irisan. Dari masing-masing potongan diambil 2 daerah di sentrolobuler yang terlihat kerusakannya paling berat dan yang mewakili kerusakan secara keseluruhan. Dari 2 zona tersebut akan didapatkan 2 nilai mengenai derajat kerusakan sel *hepar*. Sehingga dari masing-masing hewan coba didapatkan 6 nilai mengenai derajat kerusakan sel *hepar*. Dalam percobaan ini menggunakan 7 hewan percobaan dalam masing-masing kelompoknya sehingga akan diperoleh 42 nilai untuk tiap kelompok percobaan. Pengamatan preparat dengan perbesaran 100 kali untuk mengamati seluruh lapangan pandang, kemudian ditentukan daerah yang akan diamati pada sentrolobuler lobulus *hepar*. Dari tiap daerah sentrolobuler lobulus tersebut diamati menggunakan pembesaran 400 kali, dan ditentukan kerusakan yang didapatkan terjauh pada zona ke

berapa. Penentuan derajat kerusakan sel hepar dilakukan dengan bantuan alat *OptiLab viewer* yang disambungkan dengan komputer.

Pembagian derajat kerusakan sel hepar menurut Paramyothin *et al* dalam Wongnawa, 2006 membaginya seperti berikut ini:

- 0 (normal) : Tidak ada nekrosis di sekitar zona 3
- 1 (ringan) : Nekrosis di zona 3 (Sentrolobuler)
- 2 (sedang) : Nekrosis luas terbatas pada zona 2
- 3 (berat) : Nekrosis sampai pada zona 1

Jadi misalnya pada satu daerah sentrolobuler dari 3 zona yang diamati, ternyata tidak didapatkan kerusakan pada semua zona, maka derajat kerusakan sel hepar tersebut adalah kerusakan grade 0 atau normal. Apabila terdapat kerusakan sel hepar pada zona 3 maka derajat kerusakan sel hepar tersebut adalah kerusakan grade 1 atau kerusakan ringan. Apabila kerusakan sel hepar melebihi dari zona 3 tetapi masih terbatas pada zona 2 maka derajat kerusakan sel hepar tersebut adalah kerusakan grade 2 atau kerusakan sedang. Dan apabila kerusakan sel hepar telah sampai pada zona 1, maka derajat kerusakan sel hepar tersebut adalah kerusakan grade 3 atau kerusakan berat. Masing-masing preparat terdapat 3 potongan, dimana masing-masing potongan akan diambil 2 nilai, sehingga tiap hewan coba akan didapatkan 6 nilai. Dalam percobaan ini menggunakan 7 hewan coba tiap kelompoknya sehingga akan diperoleh 42 nilai mengenai derajat kerusakan sel hepar. Selanjutnya data yang diperoleh diuji dengan

menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis* dan jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji statistik *Mann Whitney*.

J. Tehnik Analisis Data Statistik

Data yang didapat dianalisis secara statistik dengan *SPSS (Statistical Product and Service Solution) 17.0 for Windows* menggunakan uji *Kruskall-Wallis* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan di antara kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui letak perbedaan terdapat di antara kelompok yang mana. Derajat kemaknaan yang digunakan adalah $\alpha = 0,05$.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Data Hasil Penelitian

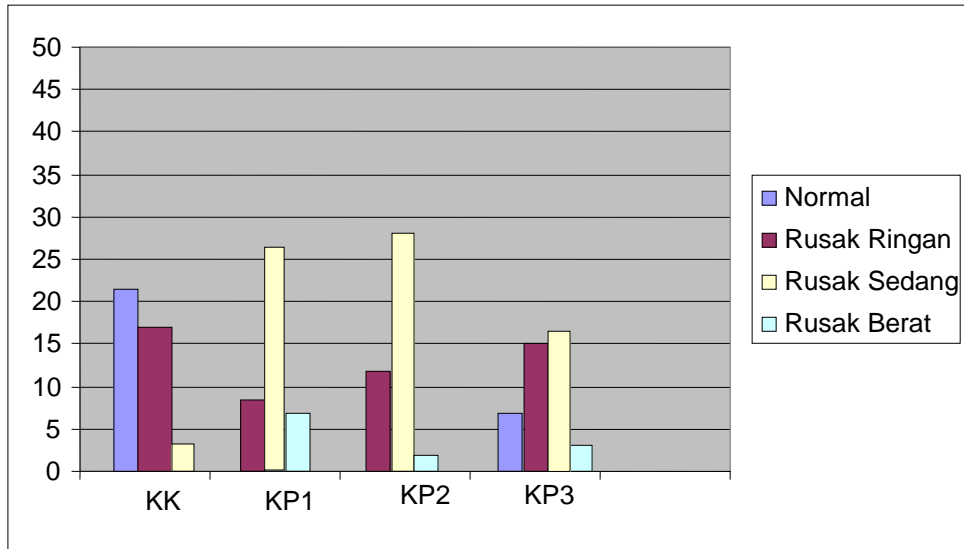
Setelah dilakukan penelitian tentang pengaruh gambaran histologis hepar mencit yang diberi madu dengan induksi natrium siklamat didapatkan data hasil pengamatan pada masing-masing kelompok. Data hasil pengamatan untuk masing-masing kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan I, kelompok perlakuan II, dan kelompok perlakuan III disajikan pada lampiran 1-4. Dari data tersebut didapatkan hasil seperti yang terlihat pada tabel 3 dan perbandingannya dapat lebih jelas terlihat pada grafik 1.

Tabel 3. Derajat kerusakan histologis hepar pada setiap kelompok

Kelompok	Derajat kerusakan Hepar				Jumlah
	Normal	Rusak Ringan	Rusak Sedang	Rusak Berat	
KK	21	18	3	0	42
KP1	0	9	26	7	42
KP2	0	12	28	2	42
KP3	7	15	17	3	42

Sumber : Data Primer, 2010

Grafik 1. Derajat kerusakan histologis hepar pada setiap kelompok



Sumber : Data Primer, 2010

Keterangan :

- a. KK sebagai kelompok kontrol, diberikan aquadest per oral 0,1 mL/20 gram BB mencit dan 0,1 mL/20 gram BB mencit setiap hari selama 14 hari berturut-turut.
- b. KP₁ sebagai kelompok perlakuan I, diberi aquadest per oral 0,1 mL/20 gram BB mencit setiap hari selama 14 hari berturut-turut dan pada hari ke 12, 13 dan 14 juga diberikan natrium siklambat per oral 0,1 mL/ 20 gram BB mencit
- c. KP₂ sebagai kelompok perlakuan II, diberi larutan madu per oral dosis ke I yaitu 0,2 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut turut dimana pada hari ke 12, 13 dan 14 juga diberikan natrium siklambat per oral 0,1 mL / 20 gram BB mencit setelah 1 jam pemberian madu.

- d. KP₃ sebagai kelompok perlakuan III diberi larutan madu dosis II per oral yaitu 0,4 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut turut dimana pada hari ke 12, 13 dan 14 juga diberikan natrium siklomat per oral 0,1 mL / 20 gram BB mencit setelah 1 jam pemberian madu.

Dari table dan grafik di atas dapat dilihat bahwa kelompok perlakuan I (KP1) memiliki jumlah nilai dengan kerusakan berat paling banyak yaitu 7 dan nilai normalnya ada 0. Sedangkan untuk kelompok kontrol (KK) memiliki jumlah nilai normal paling banyak yaitu 21 nilai sedangkan nilai kerusakan beratnya ada 0. Pada kelompok perlakuan lainnya didapatkan gambaran yang lebih bervariasi yaitu pada kelompok perlakuan II (KP2) mayoritas menunjukkan kriteria rusak sedang, sedangkan pada proporsi yang lebih sedikit terlihat pada kriteria rusak ringan dan rusak berat. Pada kelompok perlakuan III(KP3) mayoritas menunjukkan kriteria rusak sedang, sedangkan pada proporsi yang lebih sedikit terlihat pada kriteria normal, rusak ringan dan rusak berat.

B. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan secara mikroskopis diuji dengan uji statistik menggunakan program SPSS ver.17. Ada 2 uji statistik yang digunakan, yaitu :

1. Uji statistik Kruskal-Wallis, untuk mengetahui adanya perbedaan dalam seluruh kelompok populasi. Hasil yang diharapkan dalam uji ini adalah

perbedaan yang bermakna atau terdapat perbedaan gambaran histologis hepar yang diberi aquades (kelompok kontrol / KK) dengan pemberian natrium siklamat saja (kelompok perlakuan I / KP1), dengan pemberian madu dosis I dan natrium siklamat (kelompok perlakuan II / KP2), dengan pemberian madu dosis II dan natrium siklamat (kelompok perlakuan III / KP3).

2. Uji statistik Mann-Whitney, untuk mengetahui letak adanya perbedaan dalam populasi. Uji ini dilakukan antara kelompok kontrol (KK) dengan kelompok perlakuan I (KP1), kelompok kontrol (KK) dengan kelompok perlakuan II (KP2), kelompok kontrol (KK) dengan kelompok perlakuan III (KP3), kelompok perlakuan I (KP1) dengan kelompok perlakuan II (KP2), kelompok perlakuan I (KP1) dengan kelompok perlakuan III (KP3), kelompok perlakuan II (KP2) dengan kelompok perlakuan III (KP3). Hasil yang diharapkan dalam uji ini adalah diketahui antara kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna

Dari hasil perhitungan statistik dengan uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai p adalah 0,000. Nilai ini lebih kecil daripada P hitung (0,05) atau $p < 0,05$ maka hipotesis nihil ditolak dan hipotesis kerja diterima. Jadi terdapat perbedaan bermakna antara lima kelompok sampel. Hasil perhitungan Kruskal-Wallis dengan program SPSS dapat dilihat pada lampiran.

Karena terdapat perbedaan yang bermakna di antara lima kelompok sampel, maka uji statistik dilanjutkan dengan uji Mann-

Whitney. Dari hasil uji Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna antara KK dan KP1, KK dan KP2, KK dan KP3, KP1 dan KP3 serta KP2 dan KP3. Sedangkan perbedaan yang tidak bermakna antara KP1 dan KP2. Data ringkasan hasil perhitungan dengan uji Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) dapat dilihat pada table 4. Adapun data mengenai perhitungan uji Mann-Whitney dengan program SPSS dapat dilihat pada lampiran.

Tabel 4. Ringkasan Mann-Whitney ($\alpha=0,05$) pada empat kelompok sampel

Kelompok	Nilai p	Keterangan
KK dan KP1	0	Perbedaan bermakna
KK dan KP2	0	Perbedaan bermakna
KK dan KP3	0	Perbedaan bermakna
KP1 dan KP2	0.154	Perbedaan tidak bermakna
KP1 dan KP3	0.002	Perbedaan bermakna
KP2 dan KP3	0,024	Perbedaan bermakna

Sumber : Data Primer, 2010

Dari tabel 4 terlihat bahwa antara KK dan KP1 didapat nilai $p < 0,05$, sehingga hipotesis nihil ditolak dan hipotesis kerja diterima. Jadi terdapat perbedaan bermakna antara KK dan KP1. Hasil yang sama juga terlihat antara KK dan KP2, KK dan KP3, KP1 dan KP3 serta KP2 dan KP3. Sedangkan terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara KP1 dan KP2.

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian pengaruh hepatoprotektor madu terhadap kerusakan histologis sel hepar akibat pemberian natrium siklambat menggunakan 4 kelompok mencit masing-masing terdiri dari 7 ekor mencit yang diberi perlakuan berbeda. Kelompok kontrol tidak diberi larutan madu maupun natrium siklambat, hanya aquadest saja. Kelompok perlakuan I diberi natrium siklambat pada hari ke 12, 13 dan 14 menggunakan dosis 0,1 mL/ 20 gram BB mencit per hari. Kelompok perlakuan II diberi larutan madu dosis I yaitu 0,2 mL/ 20 gram BB mencit selama 14 hari berturut-turut dan juga diberikan natrium siklambat pada hari ke 12, 13 dan 14 menggunakan dosis 0,1mL / 20 gram BB mencit per hari. Kelompok perlakuan III juga diberikan madu dengan dosis II yaitu 0,4 mL/ 20 gram BB mencit selama 14 hari berturut-turut kemudian diberikan natrium siklambat pada hari ke12, 13 dan 14 menggunakan dosis 0,1 mL/ 20 gram BB mencit per hari.

Pada penelitian ini yang diamati adalah derajat kerusakan sel hepar. Kerusakan sel hepar dilihat dari *pyknosis, karyorrhexis dan karyolisis*. Pengamatan dilakukan pada daerah sentrolobuler karena kerusakan hepar pertama kali datang dari arah vena sentralis.

Data tingkat kerusakan sel hepar setelah perlakuan dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan perbedaan yang bermakna antara keempat kelompok perlakuan. Perbedaan tingkat kerusakan sel hepar ini menunjukkan

adanya pengaruh pemberian madu terhadap kerusakan histologis sel hepar mencit akibat pemberian natrium siklamat. Letak perbedaan antara keempat kelompok perlakuan dapat diketahui dengan uji *Mann whitney*.

Pada kelompok kontrol, dimana hanya mendapat aquades saja, didapatkan gambaran histologis sebagian besar sampel adalah normal, yaitu sebanyak 21 sampel dengan gambaran normal, 18 sampel dengan kerusakan ringan, 3 sampel dengan kerusakan sedang dan tanpa ada sampel dengan kerusakan berat. Hal ini menunjukkan kesesuaian dengan teori dimana aquades tidak mempunyai pengaruh terhadap kerusakan sel hati mencit sehingga gambaran yang didapatkan adalah seperti gambaran histologis normal mencit. Adanya sampel dengan kerusakan ringan maupun sedang pada kelompok kontrol dapat dimungkinkan karena proses penuaan dan kematian sel yang secara fisiologis dialami oleh semua sel-sel normal. Setiap sel dalam tubuh akan selalu mengalami penuaan yang diakhiri kematian sel dan digantikan oleh sel-sel baru melalui proses regenerasi (Iber dan Latham, 1994). Selain itu, mungkin juga karena pengaruh variabel luar yang tidak dapat dikendalikan misalnya kondisi psikologis mencit yang dipengaruhi lingkungan sekitar, reaksi hipersensitivitas yang berbeda pada tiap mencit, mungkin juga karena kondisi awal hepar mencit yang memang tidak diteliti pada penelitian ini.

Kelompok perlakuan I, memiliki kerusakan sel paling berat karena hanya mendapat perlakuan dengan natrium siklamat dosis toksik dan tidak mendapat larutan madu. Pada kelompok ini didapatkan 9 sampel dengan

kerusakan ringan, 26 sampel dengan kerusakan sedang dan 7 sampel dengan kerusakan berat. Nekrosis sel hepar akibat natrium siklamat dapat bersifat fokal, sentral, perifer atau massif. Pada penelitian ini, kerusakan sel hepar yang terjadi bersifat massif. Natrium siklamat memiliki hasil metabolisme yang merupakan racun bagi tubuh yaitu sikloheksilamina, dimana senyawa ini merupakan suatu senyawa karsinogenik (Luthfi, 2004). Akumulasi natrium siklamat ternyata dapat menimbulkan radikal bebas pada tikus sehingga terjadi ketidakseimbangan dan menimbulkan kerusakan sel. Akumulasi natrium siklamat dapat mempengaruhi aktivitas sistem antioksidan, yaitu menyebabkan penurunan SOD (Superoksida Dismutase) dan katalase juga penumpukan lemak pada hepar (Hanim dkk, 1998). Penumpukan natrium siklamat menyebabkan stress oksidatif sehingga asam lemak esensial pada membran plasma menghilang dan hal ini mengganggu permeabilitas membran. Akibatnya radikal bebas dari pemanis buatan dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dan mempengaruhi organel dalam sel, selanjutnya radikal bebas tersebut dapat merusak lisosom, inti sel dan sebagainya sehingga menimbulkan mutagenesis (Hanim dkk, 1998). Kematian sel terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma. Perubahan morfologis awal dapat berupa edema sitoplasma dan dilatasi retikulum endoplasma. Kemudian trigliserid akan berakumulasi di dalam sel, mitokondria membengkak, rusaknya krista dan pembengkakan biokimiawi yang kompleks. Stadium selanjutnya bisa berupa inti sel pyknosis, karyorrexis dan karyolisis, kemudian membran plasma pecah dan akhirnya terjadi nekrosis (Wenas, 1999).

Pada kelompok perlakuan II, yaitu kelompok yang mendapatkan pemberian natrium siklamat dan larutan madu dosis I, didapatkan 12 sampel dengan kerusakan ringan, 28 sampel dengan kerusakan sedang, 2 sampel dengan kerusakan berat dan 0 sampel dengan gambaran histologis normal. Kelompok ini pada awalnya diperkirakan didapatkan gambaran yang lebih kecil derajat kerusakannya daripada kelompok perlakuan I tetapi pada kenyataannya ternyata tidak menunjukkan penurunan derajat kerusakan yang berarti, tetapi didapatkan bahwa kerusakannya sudah bergeser kearah yang lebih kecil derajat kerusakannya. Hal ini dimungkinkan karena pemberian madu dosis I yang hanya 14 hari belum menunjukkan efek proteksinya. Sedangkan dosis madu pada penelitian ini merujuk pada sumber pustaka yang telah meneliti madu sebelumnya.

Pada kelompok perlakuan III, yaitu kelompok yang mendapatkan pemberian natrium siklamat dan larutan madu dosis II, didapatkan 15 sampel dengan kerusakan ringan, 17 sampel dengan kerusakan sedang, 3 sampel dengan kerusakan berat dan 7 sampel dengan gambaran histologis normal. Peran natrium siklamat sebagai agen toksik bagi hati dapat dicegah dengan pemberian larutan madu dimana madu mengandung flavonoid, polifenol, mangan, vit C, vit E, katalase dan SOD yang telah banyak diteliti sebagai antioksidan kuat. Antioksidan mampu mengubah oksidan menjadi molekul yang tidak berbahaya. Antioksidan juga mampu mencegah pembentukan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan yang ditimbulkannya (Widjaja, 1997). Sehingga efeknya dapat dirasakan setelah pemberian larutan madu

dosis II (0,4 mL) yaitu dua kali lipat dari larutan madu dosis I (0,2 mL) dalam jangka waktu pemberian yang sama yaitu 14 hari.

Pada hasil uji statistik Kruskal-Wallis diperoleh hasil perbedaan bermakna, atau dengan kata lain terdapat perbedaan gambaran histologis pada seluruh kelompok perlakuan tanpa diketahui kelompok mana yang berbeda.

Setelah dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney didapatkan hasil perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan I, antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan II, antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan III. Hasil ini bisa dijelaskan karena pada kelompok kontrol tidak mendapatkan faktor perusak maupun faktor protektif sedangkan pada kelompok perlakuan I mendapatkan faktor perusak tanpa mendapatkan faktor protektif dan kelompok perlakuan II dan III mendapatkan madu yang bersifat protektif terhadap kerusakan sel hepar.

Dari hasil analisa tingkat kerusakan sel hepar didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan I. Hal ini disebabkan karena pada kelompok perlakuan I terjadi kerusakan sel hepar akibat pemberian natrium siklamat dosis toksik. Hasil tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa natrium siklamat dapat mempengaruhi aktivitas sistem antioksidan yaitu menyebabkan penurunan SOD (Superoksida Dismutase) dan katalase (Hanim dkk, 1998). Penumpukan natrium siklamat menyebabkan stress oksidatif sehingga asam lemak esensial pada membran plasma menghilang dan hal ini mengganggu permeabilitas membran. Akibatnya radikal bebas dari pemanis buatan dapat dengan mudah masuk ke

dalam sel dan mempengaruhi organel dalam sel, selanjutnya radikal bebas tersebut dapat merusak lisosom, inti sel dan sebagainya (Hanim dkk, 1998).

Pada hasil uji Mann-Whitney antara kelompok perlakuan I dengan kelompok perlakuan II menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Hal ini berarti pemberian larutan madu dosis I yaitu 0,2 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut-turut belum dapat memberikan efek perlindungan maksimal terhadap kerusakan hepar yang disebabkan oleh natrium siklamat. Dalam dosis tersebut, madu belum menunjukkan pengaruhnya dalam menurunkan derajat kerusakan sel hepar atau mengembalikan kondisi hepar seperti pada hepar kelompok kontrol yang merepresentasikan kondisi hepar yang normal. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena dengan dosis I, waktu pemberian madu kurang lama sehingga belum mampu menunjukkan efek hepatoprotektornya.

Pada hasil uji Mann-Whitney antara kelompok perlakuan I dengan kelompok perlakuan III menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini berarti pemberian larutan madu dosis II yaitu 0,4 mL/20 gram BB mencit selama 14 hari berturut-turut dapat mengurangi derajat kerusakan sel hepar yang mengalami kerusakan akibat pemberian natrium siklamat. Madu seperti yang telah diketahui, mengandung bermacam-macam zat aktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Komponen antioksidan madu diantaranya adalah vitamin C, E, polifenol, mangan, flavonoid, enzim katalase dan SOD. Antioksidan tersebut dapat meredam dampak negatif dari oksidan dengan cara memberikan elektronnya pada oksidan (Bagiada, 1995). Antioksidan mampu mengubah

oksidan menjadi molekul yang tidak berbahaya. Antioksidan juga mampu mencegah pembentukan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan yang ditimbulkannya (Widjaja, 1997).

Pada hasil uji Mann-Whitney antara kelompok perlakuan II dengan kelompok perlakuan III menunjukkan perbedaan yang bermakna. Tingkat kerusakan sel hepar pada kelompok perlakuan II lebih tinggi (lebih parah tingkat kerusakannya) apabila dibandingkan dengan kelompok perlakuan III. Hal ini berarti peningkatan dosis larutan madu (peningkatan dosis sebesar 200%) dapat meningkatkan pengaruh dalam mengurangi kerusakan histologis hepar mencit yang diinduksi natrium siklamat.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terbukti adanya efek proteksi dari madu terhadap hepar yang berupa pengurangan derajat kerusakan sel hepar mencit yang diinduksi oleh natrium siklamat. Efek proteksi madu terhadap kerusakan sel hepar yang ditimbulkan oleh natrium siklamat dapat diamati secara jelas pada dosis II yaitu 0,4 mL/20 gram BB mencit yang terdapat pada kelompok perlakuan III.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Kesimpulan yang dapat ditarik adalah pemberian larutan madu dosis II yaitu 0,4mL / 20 gram BB mencit selama 14 hari berturut-turut dapat mengurangi kerusakan sel hepar mencit akibat pemberian natrium siklambat.
2. Terdapat peningkatan efek hepatoprotektor madu sesuai dengan peningkatan dosis yaitu sebesar 200% dari dosis I.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dosis madu yang lebih bervariasi dan dengan lama pemberian madu yang lebih bervariasi sehingga diketahui dosis dan waktu pemberian yang efektif untuk mencegah kerusakan sel hepar mencit yang diinduksi natrium siklambat.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan sarana dan prasarana yang lebih canggih dan menggunakan parameter selain gambaran histologis misalnya penelitian madu dengan menggunakan parameter kimiawi untuk melihat kadar enzim transaminase maupun kadar enzim antioksidannya sehingga didapatkan data yang lebih lengkap tentang fungsi hepatoprotektor madu.

DAFTAR PUSTAKA

- Arief dan Irfan. 2008. *Zat Tambahan pada Pangan, Seberapa Aman?*.
<http://www.pjnhk.go.id> (22 September 2009)
- Bagiada A. 1995. Radikal Bebas dan Antioksidan. *Jurnal Kedokteran Universitas Udayana* 26(89). Penerbit Unud. pp :136-9
- BPOM. 1999. Hukum Perundangan
http://www.pom.go.id/public/hukum_perundangan/pdf/PerubPermenkes.pdf(22 September 2009)
- BPOM. 2004. Kajian Keamanan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan.
<http://www1.pom.go.id:8796/nonpublic/makanan/standard/News1.html> (22 September 2009)
- Dahlan M.S. 2008. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. 3rd ed. Jakarta : Salemba Medika, p: 84.
- Departemen Kesehatan RI (1983). Peraturan Menteri Kesehatan RI Tentang Bahan Makanan Tambahan. DepKes RI, Jakarta.
- Erguder B.I., Kilicoglu S.S., Namuslu M., Kilicoglu B., Devrim E., Kismet K., Durak I. 2008. Honey prevent hepatic damage induced by obstruction of the common bile duct. *World J Gastroenterol* 12(23) : 3729-3732.
- Fardiaz D. 2009. Si Manis yang Perlu Diwaspadai. *Kompas Cyber Media*.
<http://www.kompas.com/kesehatan> (22 September 2009)
- Guyton A.C., dan Hall J.E., 1997. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta : EGC. pp : 1265-1281.
- Hammad S. 2009. *99 Resep Sehat dengan Madu*. Solo : Aqwamedika pp : 128-129.
- Hanim D, Rimbawan, Kushartono, Hermana. (1998). Pengaruh Vitamin E terhadap Organ Hati dan Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina yang diberi perlakuan Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 6(1). Hal 94-109.

- Hodgson E, Levi P.E. 2000. Target Organ Toxicity. In *Textbook of Modern Toxicology*. 2nd ed. Boston. McGraw Hill. pp102-247
- Iber F. L. dan Latham P. S. 1994. *Pathologic Physiology Mechanism of Disease*. Jakarta :EGC, p: 565
- IPTEKnet 2005. *Wortel (daucus carota l.) dalam Tanaman Obat Indonesia*.
- Leeson C.R., Leeson T.S., Paparo A A. 1996. *Buku Teks Histology*. Alih Bahasa : Yann Tambayong, dkk. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, pp: 383-7.
- Lutfi A, drs. *Kimia Lingkungan*. Surabaya. 2007
- Ngatidjan, 1991. *Petunjuk Laboratorium Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Bioteknologi UGM, pp : 94-132.
- Price S.A. dan Wilson L. M. 1994 *Patofisiology, konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi 4. Jakarta : EGC. Pp :773-5
- Purawisastra S. 2001. *Penelitian Pengaruh Isolat Galaktomannan Kelapa terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Kelinci*. <http://digilib.ekologi.litbang.depkes.go.id/office.php?m=bookmark&id=jpkbpbpk-gdl-grey-2001-suryana-108-galaktoman> (25 September 2009).
- Robbins S.L., Kumar V., Cotran R.S. 2004. *Robbins Buku Ajar Patologi I dan II*. Edisi 7. Alih Bahasa : Pendit B.U. Jakarta : ECG, pp : 664-669.
- Suranto A, dr. SpA., *Terapi Lebah*. Jakarta : Penebar Swadaya. 2007
- The National Honey Board. 2004. *Honey Health and Therapeutic Qualities*. <http://www.nhb.org/download/factsht/compendium.pdf> (30 September 2009)
- Wenas N. T. 1996. *Kelainan Hati Akibat Obat*. Dalam : Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I Edisi III. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. Pp : 364

- Widjaja S. 1997. Antioksidan : Pertahanan tubuh terhadap efek oksidan dan radikal bebas. *Maj. Ilm. Fak. Kedokt. Usakti* . 16(1), p :162
- Willet W., Stampfer M. 2001. What vitamin Should I Be Taking, Doctor?. *N Engl J Med* 25(345) : 1819-1824. (11 september 2009)
- Wongnawa M., Thaina P., Bumrungwong N., Rattanapirun P., Nitiruangjaras A. and Prasartthong V. 2006. The Protective Potensial and Possible Mechanism of *Phyllanthus amarus Schum. & Thonn.* Aqueous Extract on Paracetamol-induced Hepatotoxicity in Rats. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28(3) : 551-561

LAMPIRAN

Lampiran 1.

Data hasil pengamatan mikroskopis

Tabel 5. Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok kontrol

Kelompok Kontrol	Derajat Kerusakan Sel Hepar				Jumlah
	Normal	Rusak Ringan	Rusak Sedang	Rusak Berat	
K.1	4	2	0	0	6
K.2	1	4	1	0	6
K.3	2	3	1	0	6
K.4	5	1	0	0	6
K.5	4	1	1	0	6
K.6	2	4	0	0	6
K.7	3	3	0	0	6
Jumlah	21	18	3	0	42

Tabel 6. Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok Perlakuan 1

Kelompok Perlakuan 1	Derajat Kerusakan Sel Hepar				Jumlah
	Normal	Rusak Ringan	Rusak Sedang	Rusak Berat	
P1.1	0	3	2	1	6
P1.2	0	0	3	3	6
P1.3	0	0	5	1	6
P1.4	0	1	5	0	6
P1.5	0	3	3	0	6
P1.6	0	1	4	1	6
P1.7	0	1	4	1	6
Jumlah	0	9	26	7	42

Tabel 7. Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok Perlakuan 2

Kelompok Perlakuan 2	Derajat Kerusakan Sel Hepar				Jumlah
	Normal	Rusak Ringan	Rusak Sedang	Rusak Berat	
P2.1	0	3	3	0	6
P2.2	0	2	3	1	6
P2.3	0	0	6	0	6
P2.4	0	0	6	0	6
P2.5	0	2	4	0	6
P2.6	0	2	3	1	6
P2.7	0	3	3	0	6
Jumlah	0	12	28	2	42

Tabel 8. Hasil pengamatan mikroskopis derajat kerusakan histologis hepar pada kelompok Perlakuan 3

Kelompok Perlakuan 3	Derajat Kerusakan Sel Hepar				Jumlah
	Normal	Rusak Ringan	Rusak Sedang	Rusak Berat	
P3.1	3	1	2	0	6
P3.2	0	3	3	0	6
P3.3	0	2	3	1	6
P3.4	1	2	2	1	6
P3.5	2	4	0	0	6
P3.6	1	1	3	1	6
P3.7	0	2	4	0	6
Jumlah	7	15	17	3	42

Lampiran 2

Hasil Uji Statistik *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*

Tabel 9. Analisa uji statistik *Kruskal Wallis*

Ranks		
kelompok perlakuan	N	Mean Rank
grade kontrol	42	39.57
perlakuan I	42	112.95
perlakuan 2	42	103.26
perlakuan 3	42	82.21
Total	168	

Test Statistics ^{a,b}	
	grade
Chi-Square	64.522
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. *Kruskal Wallis* Test

b. Grouping Variable:
kelompok perlakuan

Tabel 10. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1

Ranks			
kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
grade kontrol	42	25.00	1050.00
perlakuan I	42	60.00	2520.00
Total	84		

Test Statistics ^a	
	grade
Mann-Whitney U	147.000
Wilcoxon W	1050.000
Z	-6.894
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Grouping Variable: kelompok perlakuan

Tabel 11. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2

Ranks			
kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
grade kontrol	42	25.93	1089.00
perlakuan 2	42	59.07	2481.00
Total	84		

Test Statistics^a

	grade
Mann-Whitney U	186.000
Wilcoxon W	1089.000
Z	-6.605
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Grouping Variable: kelompok
perlakuan

Tabel 12. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 3

Ranks

kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
grade kontrol	42	31.64	1329.00
perlakuan 3	42	53.36	2241.00
Total	84		

Test Statistics^a

	grade
Mann-Whitney U	426.000
Wilcoxon W	1329.000
Z	-4.327
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000

a. Grouping Variable: kelompok
perlakuan

Tabel 13. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2

Ranks			
kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
grade perlakuan 1	42	45.71	1920.00
perlakuan 2	42	39.29	1650.00
Total	84		

Test Statistics ^a	
	grade
Mann-Whitney U	747.000
Wilcoxon W	1650.000
Z	-1.426
Asymp. Sig. (2-tailed)	.154

a. Grouping Variable: kelompok perlakuan

Tabel 14. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 3

Ranks			
kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
grade perlakuan 1	42	50.24	2110.00
perlakuan 3	42	34.76	1460.00
Total	84		

Test Statistics^a

	grade
Mann-Whitney U	557.000
Wilcoxon W	1460.000
Z	-3.172
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002

a. Grouping Variable: kelompok perlakuan

Tabel 15. Analisa uji statistik Mann Whitney antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok perlakuan 3

Ranks

kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
grade perlakuan 2	42	47.90	2012.00
perlakuan 3	42	37.10	1558.00
Total	84		

Test Statistics^a

	grade
Mann-Whitney U	655.000
Wilcoxon W	1558.000
Z	-2.253
Asymp. Sig. (2-tailed)	.024

a. Grouping Variable: kelompok perlakuan

Lampiran 3.

Konversi Dosis untuk Manusia dan Hewan

Tabel 16 Tabel konversi dosis manusia dan hewan

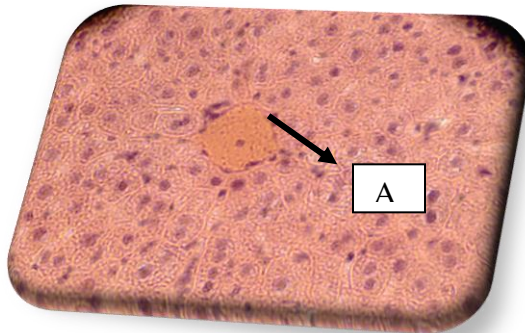
	Mencit (20 g)	Tikus (200 g)	Marmut (400 g)	Kelinci (1,5 kg)	Kucing (2 kg)	Kera (4 kg)	Anjing (12 kg)	Manusia (70 kg)
Mencit (20 g)	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus (200 g)	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut (400 g)	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci (1,5 kg)	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing (2 kg)	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera (4 kg)	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing (12 kg)	0,008	0,06	0,1	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Sumber: Ngatidjan, 1991)

Lampiran 4.

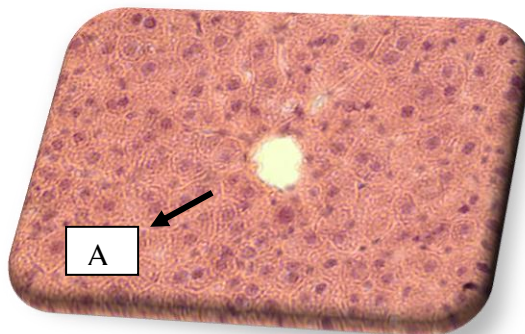
Foto-foto Preparat

Gambar 3. Foto mikroskopis hepar mencit yang normal (pengecatan HE; perbesaran atas 400x dan bawah 1000x)



Keterangan :

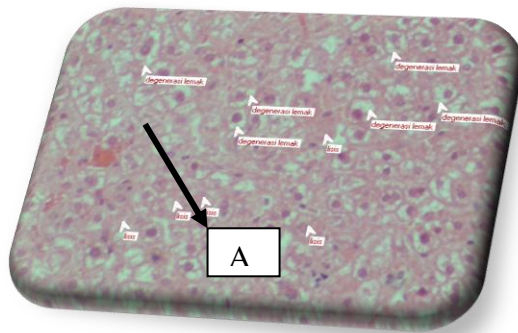
A: Gambaran mikroskopis hepar normal (tidak terlihat inti piknosis)



Keterangan :

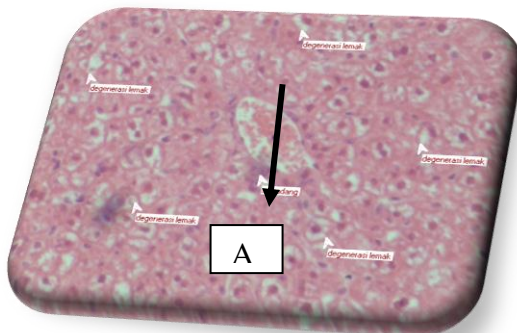
A: Gambaran mikroskopis hepar normal (tidak terlihat inti piknosis)

Gambar 4. Foto mikroskopis hepar menci yang rusak ringan (pengecatan HE; perbesaran atas 400x dan bawah 1000x)



Keterangan :

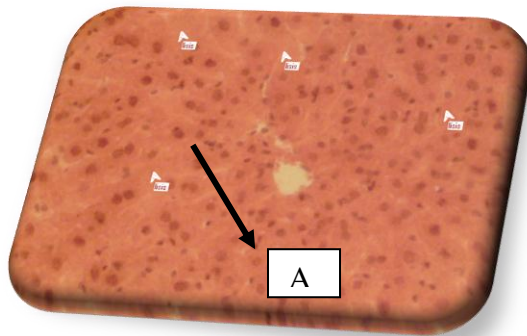
A: 1 atau 2 Inti sel hepar piknosis, karioreksis, kariolisis terbatas pada zona 3



Keterangan :

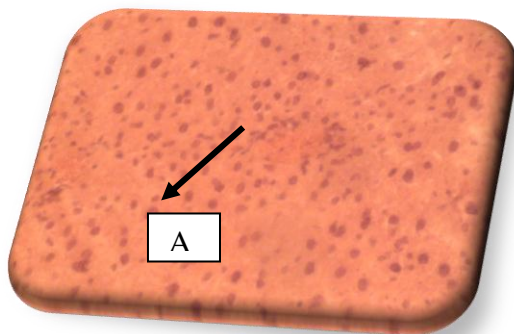
A: 1 atau 2 Inti sel hepar piknosis, karioreksis, kariolisis terbatas pada zona 3

Gambar 5. Foto mikroskopis hepar mencit yang rusak sedang (pengecatan HE; perbesaran atas 400x dan bawah 1000x)



Keterangan :

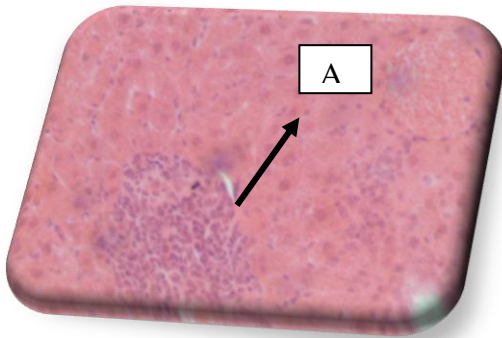
A: Inti sel hepar piknosis,
karioreksis, kariolisis meluas
terbatas pada zona 3



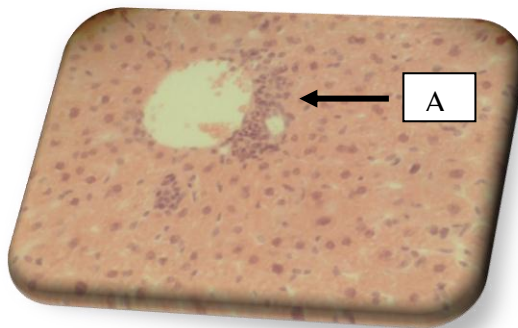
Keterangan :

A: Inti sel hepar piknosis,
karioreksis, kariolisis meluas
terbatas pada zona 3

Gambar 6. Foto mikroskopis hepar mencit yang rusak berat (pengecatan HE; perbesaran atas 400x dan bawah 1000x)



Keterangan :
A: Inti sel hepar piknosis,
karioreksis, kariolisis meluas
melebihi zona 3



Keterangan :
A: Inti sel hepar piknosis,
karioreksis, kariolisis meluas
melebihi zona 3