

**KADAR MALONDIALDEHIDE (MDA) KELENJAR SALIVA TIKUS PUTIH
REMAJA BETINA (*Rattus norvegicus*) GALUR *Wistar* YANG DIBERIKAN
EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) DOSIS PILIHAN PASCA
INDUKSI ALKOHOL MODEL *BINGE DRINKING***

(Skripsi)

Oleh:

**ALIEF GUSNIRWAN SULAIMAN
2018011024**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**KADAR MALONDIALDEHIDE (MDA) KELENJAR SALIVA TIKUS PUTIH
REMAJA BETINA (*Rattus norvegicus*) GALUR *Wistar* YANG DIBERIKAN
EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) DOSIS PILIHAN PASCA
INDUKSI ALKOHOL MODEL *BINGE DRINKING***

Oleh

ALIEF GUSNIRWAN SULAIMAN

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRACT

MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVELS IN SALIVARY GLANDS OF ADOLESCENT FEMALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) OF THE WISTAR STRAIN ADMINISTERED BLACK GARLIC EXTRACT (*Allium sativum* L.) AT SELECTED DOSES AFTER INDUCTION ALCOHOL IN A BINGE DRINKING MODEL

By

ALIEF GUSNIRWAN SULAIMAN

Background: The increase of alcohol consumption among teenagers in Indonesia is on the rise. Excessive alcohol consumption can lead to increased oxidative stress and trigger various organ damages, including in the salivary glands. Increased oxidative stress can be identified through the final product of lipid peroxidation, namely MDA. Black garlic extract contains S-allylcysteine, polyphenols, and flavonoids that can act as antioxidants and anti-inflammatory agents in preventing oxidative stress and damage to the salivary glands

Methods: An experimental study using a post-test only control group design compared the mean observation results of MDA in the saliva glands involving 32 female adolescent Wistar white rats in 4 groups: negative control (K1) induced with aquadest, positive control (K2) induced with alcohol binge drinking method, Treatment 1 (P1) induced with alcohol binge drinking method and given black garlic at 400g/KgBB, and Treatment 2 (P2) induced with alcohol binge drinking method and given black garlic at 800g/KgBB. Salivary gland tissue samples were homogenized, processed, and examined for their MDA levels using a spectrophotometer at a wavelength of 530nm.

Results: The mean results were: K1 = $0.524 \pm 0,105$ nmol/g, K2 = $0.915 \pm 0,306$ nmol/g, P1 = $0.625 \pm 0,110$ nmol/g, and P2 = $0.490 \pm 0,133$ nmol/g. The data were analyzed using One-Way ANOVA-LSD, revealing significant differences in mean values between group K2 with K1, P1 and P2.

Conclusion: The consumption of black garlic extract (Black Garlic) has an effect on reducing the increase in malondialdehyde (MDA) levels in adolescent female white rats (*Rattus norvegicus*) of the Wistar strain induced by alcohol using the binge drinking model with an effective dose of 800 mg/kg body weight per day.

Keyword: antioxidant, black garlic, binge drinking, malondialdehyde, salivary glands

ABSTRAK

KADAR MALONDIALDEHIDE (MDA) KELENJAR SALIVA TIKUS PUTIH REMAJA BETINA (*Rattus norvegicus*) GALUR *Wistar* YANG DIBERIKAN EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) DOSIS PILIHAN PASCA INDUKSI ALKOHOL MODEL *BINGE DRINKING*

Oleh

ALIEF GUSNIRWAN SULAIMAN

Latar Belakang: Peningkatan konsumsi alkohol pada kalangan remaja di Indonesia semakin meningkat. Konsumsi Alkohol berlebih atau tidak terbatas dapat menyebabkan adanya peningkatan stress oksidatif dan pemicu timbulnya berbagai kerusakan organ, salah satunya pada kelenjar saliva. Peningkatan stress oksidatif dapat diidentifikasi melalui hasil akhir peroksidasi lipid yaitu MDA. Ekstrak bawang hitam (*Black garlic*) memiliki kandungan *S-allylcystein*, Polifenol dan Flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan serta antiinflamasi dalam mencegah terjadinya stress oksidatif dan kerusakan pada kelenjar saliva.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan post-test only control group design membandingkan hasil pengamatan rerata MDA kelenjar saliva yang melibatkan 32 ekor tikus putih remaja betina galur wistar yang diberikan perlakuan selama 3 hari dan 2 hari tambahan periode istirahat pada 4 kelompok: kontrol negatif (K1) dengan induksi aquadest, kontrol positif (K2) dengan induksi alkohol metode binge drinking, Perlakuan 1 (P1) dengan induksi alkohol metode binge drinking dan pemberian bawang hitam 400g/kgBB, dan Perlakuan 2 (P2) dengan induksi alkohol metode binge drinking dan pemberian bawang hitam 800g/kgBB. Sampel jaringan kelenjar saliva dihomogenasi dan diproses serta diperiksa kadar MDAny dengan alat spectrophotometer dengan panjang gelombang 530nm

Hasil: Hasil rerata K1 = $0.524 \pm 0,105$ nmol/g, K2 = $0.915 \pm 0,306$ nmol/g, P1 = $0.625 \pm 0,110$ nmol/g, and P2 = $0.490 \pm 0,133$ nmol/g. Data dianalisis menggunakan One Way Anova-LSD dan didapatkan hasil perbedaan rerata yang bermakna antara kelompok K2 dengan K1, P1 dan P2.

Kesimpulan: Terdapat pengaruh konsumsi ekstrak bawang hitam (Black Garlic) terhadap peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus putih betina remaja (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang diinduksikan alkohol model *binge drinking* dengan dosis efektif 800 mg/KgBB/Hari

Kata Kunci: antioksidan, bawang hitam, binge drinking, kelenjar saliva, malondialdehid

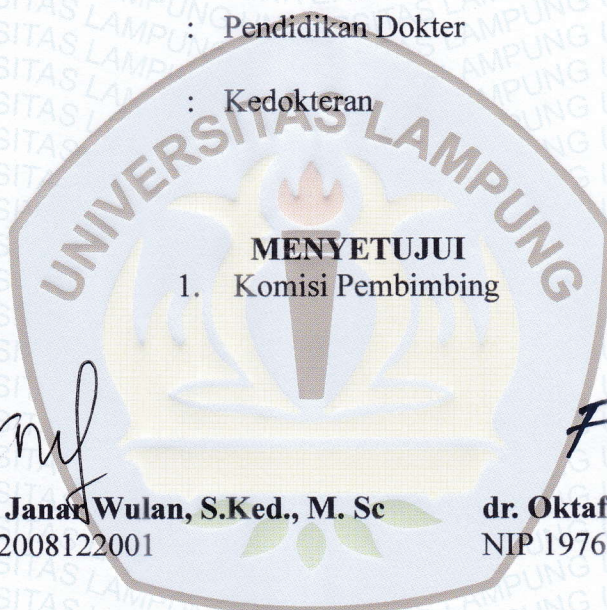
Judul Skripsi : **KADAR MALONDIALDEHIDE (MDA) KELENJAR SALIVA TIKUS PUTIH REMAJA BETINA (*Rattus norvegicus*) GALUR Wistar YANG DIBERIKAN EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) DOSIS PILIHAN PASCA INDUKSI ALKOHOL MODEL BINGE DRINKING**

Nama Mahasiswa : Alief Gusnirwan Sulaiman

No. Pokok Mahasiswa : 2018011024

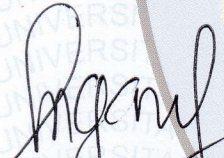
Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M. Sc
NIP 198201302008122001


dr. Oktafany, M.Pd. Ked
NIP 197610162005011003

2. Dekan Fakultas Kedokteran



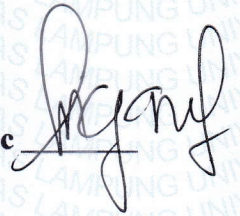

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc
NIP 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

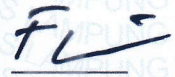
Ketua

: **dr. Anggraeni Janar Wulan, S. Ked., M.Sc**



Sekretaris

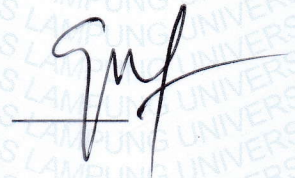
: **dr. Oktafany, M.Pd. Ked**



Penguji

Bukan Pembimbing

: **Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc**



2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc

NIP 197601202003122001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **17 Januari 2024**

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“KADAR MALONDIALDEHIDE (MDA) KELENJAR SALIVA TIKUS PUTIH REMAJA BETINA (*Rattus norvegicus*) GALUR *Wistar* YANG DIBERIKAN EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) DOSIS PILIHAN PASCA INDUKSI ALKOHOL MODEL *BINGE DRINKING*”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan tindakan penjiplakan ataupun pengutipan atas karya penulis lain atau dengan cara yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah penelitian yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut juga sebagai tindakan plagiarisme.
2. Hak Intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 17 Januari 2024

Penulis,



Alief Gusnirwan Sulaiman
2018011024

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan hebat Achmad Irawan dan Nina Karina Kartini yang dilahirkan di Jakarta tanggal 21 Agustus 2002. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Islam Tahta Syajar Kota Bekasi pada tahun 2014, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Islam Panglima Besar Soedirman Bekasi pada tahun 2017 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 4 Kota Bekasi pada tahun 2020.

Pada Tahun 2020, Penulis diterima dan terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dalam Program Studi Pendidikan Dokter. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti kegiatan organisasi kemahasiswaan berupa FSI (Forum Studi Islam) Ibnu Sina sebagai Kepala Departemen Biro Bimbingan Baca Al-Quran (BBQ) Kabinet Adimarga tahun 2021-2022. Selain itu. Penulis juga aktif berperan dalam beberapa lomba baik Internal maupun Eksternal kampus seperti Juara 2 Unimed (Unila Medical Olympiad) BEM FK Unila bidang Cardiorespiratory tahun 2022, Juara 1 Unimed (Unila Medical Olympiad) BEM FK Unila bidang Cardiorespiratory tahun 2023, Mewakili Tim FK Unila dalam Regional Medical Olympiad (RMO) Tahun 2023 bidang Cardiorespiratory dan Juara 3 lomba poster Competition “Save Life With Renewable Energy” AISC 2023 Universitas Pertamina.

وَإِذَا سَأَلَكَ عِبَادِي عَنِّي فَإِنِّي قَرِيبٌ أُجِيبُ دَعْوَةَ الدَّاعِ إِذَا
دَعَانِ فَلْيَسْتَجِيبُوا لِي وَلْيُؤْمِنُوا بِي لَعَلَّهُمْ يَرْشُدُونَ



“Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu mengenai Aku maka (beritahu kepada mereka): Sesungguhnya Aku (Allah) senantiasa dekat; Aku mengabulkan permohonan orang yang berdoa apabila ia memohon kepadaKu, maka hendaklah mereka itu memenuhi (segala perintahKu) dan hendaklah mereka beriman kepadaKu, agar mereka selalu berada dalam kebenaran.” (Q.S Al-Baqarah: 186)

Ku persembahkan karya ini untuk Ayah, Bunda, Kakak-Kakakku, Tetehtetehtku, Teman-temanku dan semua pihak yang terlibat untuk semua doa, dukungan dan bantuan yang telah diberikan.

SANWACANA

Tiada kata yang pantas diucapkan selain Alhamdulillahirabbilalamin, segala puji dan syukur atas Kehadirat Allah SWT serta atas segala limpahan rahmat, nikmat dan kasih sayang-Nya. Shalawat dan salam tak lupa kita cururkan kepada junjungan alam Nabiullah dan Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa kita semua dari zaman jahilliyah ke zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan seperti saat ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi penulis dengan judul “Kadar Malondialdehyde (MDA) pada Kelenjar Saliva Tikus Putih Remaja Betina (*Rattus norvegicus*) Galur *Wistar* yang Diinduksi Alkohol Model *Binge Drinking* dengan Pemberian Ekstrak Bawang Hitam (*Allium Sativum*) Dosis Pilihan” yang menjadi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan doa, masukan, bantuan, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan alur cerita yang sempurna dalam perjalanan hidup saya, memberikan rahmat serta kasih sayangNya dan berbagai nikmat baik keimanan keislaman, kesehatan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua serta keempat kakak saya (Kak Fahmi, Kak Raya, Teh Enon dan Teh Eneng) yang saya sayangi, hormati, cintai dan telah menjadi tempat berkeluh kesah, doa, perjuangan, dukungan, pembelajaran yang telah diberikan dan masih banyak lagi. sehingga menguatkan penulis selama proses pendidikan ini. Terimakasih atas segalanya.
3. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
4. Dr. dr. Evi Kurniawaty S.Ked., M.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Pembahas skripsi penulis, atas kesediaan dalam

meluangkan waktu, kesabaran dalam membimbing, memberikan ilmu, saran, kritik, nasihat, dan motivasi yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.

5. dr. Anggraeni Janar Wulan, S.Ked., M.Sc., selaku pembimbing pertama atas kesediaan dalam meluangkan waktu, kesabaran dalam membimbing, memberikan ilmu, saran, kritik, nasihat, dan motivasi yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Oktafany, M.Pd. Ked selaku pembimbing kedua atas kesediaan dalam meluangkan waktu, kesabaran dalam membimbing, memberikan ilmu, saran, kritik, nasihat, dan motivasi yang sangat bermanfaat selama proses penyelesaian skripsi ini.
7. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA., selaku pembimbing akademik penulis yang senantiasa memotivasi dan memberikan arahan serta bimbingan selama menempuh proses pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
8. Bu Nuriah, Bu Yani dan Mbak Mar yang sudah bersedia meluangkan waktunya dan bersabar dalam membantu serta berbagi ilmu kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan penulis di masa preklinik.
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi ini.
11. Seluruh teman-teman Tikus Jaya dan seperbimbingan saya yang senantiasa bersedia dalam membantu dalam penelitian ini. semoga kelak sukses dan segala yang diharapkan dan diusahakan untuk kebaikan dapat tercapai.
12. Seluruh teman nge'teh' saya (Ganesha, Dorothy, Shafira) atas segala bantuan yang pernah diberikan sampai saat ini, tempat berkeluh kesah dan semoga kelak dapat sukses serta dapat menggapai cita-cita yang diharapkan
13. Seluruh teman-teman Alfafa Kecil atas canda tawa, ilmu, cerita, pengalaman yang diberikan dan terangkai dalam hidup ini. semoga kelak

sukses dan segala yang diharapkan dan diusahakan untuk kebaikan dapat tercapai.

14. Seluruh personil '3dan' atas ilmu, dukungan dan bantuan yang telah diberikan selama mengenal saya. semoga kelak sukses dan segala yang diharapkan dan diusahakan untuk kebaikan dapat tercapai
15. Seluruh teman-teman tutor 'cukup tau' tercintahh atas segala bantuan, ilmu dan dukungan yang telah diberikan selama mengenal saya. semoga kelak sukses dan segala yang diharapkan dan diusahakan untuk kebaikan dapat tercapai.
16. Seluruh keluarga besar Dosen dan Asisten Dosen Fisiologi yang tidak berhenti saya banggakan atas ilmu serta pengalamannya semoga kelak sukses dan segala yang diharapkan dan diusahakan untuk kebaikan dapat tercapai.
17. Teman-teman angkatan 2020 FK Unila, T20MBOSIT yang menjadi teman berjuang dan melangkah bersama dalam meniti cita-cita ini serta selalu mengisi hari-hari menjadi sangat menyenangkan.
18. Dan Semua pihak yang telah berjasa membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua

Bandar Lampung, 17 Januari 2024

Penulis,



Alief Gusnirwan Sulaiman

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR LAMPIRAN.....	v
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan.....	5
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi.....	5
1.4.3 Manfaat Bagi Peneliti Lain	5
1.4.4 Manfaat Bagi Peneliti.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kelenjar Saliva	6
2.1.1 Anatomi Kelenjar Saliva.....	6
2.1.2 Fisiologi Kelenjar Saliva.....	11
2.1.3 Fungsi dan faktor yang mempengaruhi laju aliran saliva	12
2.2 Alkohol.....	14
2.2.1 Alkohol.....	14
2.2.2 <i>Binge drinking</i>	16
2.2.3 Mekanisme Alkohol Merusak Kelenjar Saliva.....	17
2.3 MDA.....	18
2.4 Bawang Hitam.....	20
2.5 Kerangka Teori	22
2.6 Kerangka Konsep	25
2.7 Hipotesis.....	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Desain Penelitian.....	26
3.2 Lokasi dan Waktu	26
3.3 Subjek Penelitian.....	27
3.3.1 Populasi.....	27
3.3.2 Sampel.....	27
3.3.3 Kelompok Perlakuan.....	28
3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	29
3.4.1 Kriteria Inklusi	29
3.4.2 Kriteria Eksklusi	29
3.5 Identifikasi Variabel.....	29
3.5.1 Variabel Independen.....	29
3.5.2 Variabel Dependen	29
3.6 Definisi Operasional.....	30
3.7 Bahan dan Alat Penelitian	31
3.7.1 Bahan Penelitian	31
3.7.2 Bahan Prosedur Pemeriksaan Kadar Malondialdehide (MDA)	31
3.7.3 Alat Penelitian.....	32

3.8	Prosedur Penelitian.....	32
3.8.1	Adaptasi Tikus.....	32
3.8.2	Pemilihan dan Penentuan Dosis Alkohol.....	32
3.8.3	Pemilihan Bawang Hitam dan Penentuan Dosis.....	33
3.8.4	Uji Fitokimia Kualitatif.....	35
3.8.5	Prosedur Intervensi.....	36
3.8.6	Prosedur Pengelolaan Hewan pasca Penelitian.....	37
3.8.7	Prosedur Pemeriksaan Kadar Malondialdehyde (MDA).....	37
3.8.8	Alur Penelitian.....	39
3.9	Analisis Data.....	39
3.9.1	Analisis Univariat.....	39
3.9.2	Analisis Bivariat.....	40
3.10	Etika Penelitian.....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		41
4.1	Hasil Penelitian.....	41
4.1.1	Hasil Uji Fitofarmaka.....	41
4.1.2	Analisis Univariat.....	42
4.1.3	Analisis Bivariat.....	43
4.1.2.1	Uji Normalitas dan Homogenitas Data.....	43
4.1.2.2	Uji Normalitas dan Homogenitas Pasca Transformasi Data.....	44
4.1.2.3	Uji Perbedaan <i>One-Way Anova</i> dan <i>Posthoc LSD</i>	45
4.2	Pembahasan.....	47
4.2.1	Alkohol Meningkatkan Kadar MDA pada Kelenjar Saliva.....	47
4.2.2	Efek Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam pada Kadar MDA Kelenjar Saliva.....	48
4.2.3	Perbandingan Efektivitas Dosis Ekstrak Bawang Hitam pada Kadar MDA Kelenjar Saliva.....	50
4.3	Keterbatasan Penelitian.....	52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		53
5.1	Kesimpulan.....	53
5.2	Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....		54
LAMPIRAN.....		59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Kelenjar Saliva	6
2. Anatomi Kelenjar Parotid	7
3. Anatomi Kelenjar Submandibularis	9
4. Anatomi Kelenjar Sublingualis	10
5. Struktur kimia MDA	19
6. Kerangka Teori.....	24
7. Kerangka Konsep.....	25
8. Kit Reagen MDA	31
9. Ekstrak Bawang Hitam Herbalenku.....	34
10. Alur Penelitian	39
11. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	42
12. Kadar Rerata Malondialdehid MDA.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional	30
2. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif	41
3 Kadar rerata MDA kelenjar saliva tikus putih (nmol/g).....	43
4. Uji <i>Saphiro-Wilk</i> dan <i>Levene test</i>	44
5. Uji <i>Saphiro-Wilk</i> dan Uji <i>Levene test</i> Pasca Transformasi Data	45
6. Analisis Bivariat (Uji <i>One-Way Annova</i>) dan <i>Posthoc LSD</i>	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Persetujuan Etik.....	59
2. Surat Keterangan Hewan Coba.....	60
3. Surat Keterangan Uji Fitokimia.....	62
4. Surat Izin Penelitian.....	63
5. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian.....	64
6. Analisis Data.....	68
7. Hasil Pengukuran MDA dengan Spektrofotometri UV-Vis.....	71

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan konsumsi alkohol di dunia diprediksi dalam beberapa tahun ke depan akan semakin meningkat. Laporan status global yang disampaikan melalui *World Health Organization* (WHO) mengenai alkohol dan kesehatan tahun 2018 menyatakan bahwa kawasan Asia Tenggara diperkirakan menjadi kawasan yang akan mengalami peningkatan tertinggi dalam konsumsi alkohol. Indonesia dan Thailand menjadi negara yang diperkirakan terjadi peningkatan dengan populasi terbesar pertama dan keempat. Negara Thailand dengan total populasi 68.146.609 penduduk memiliki angka konsumsi alkohol 8,3% liter per kapita sedangkan di Indonesia dengan total populasi 260.581.100 penduduk memiliki angka konsumsi alkohol 0,8% per kapita dan angka konsumsi alkohol ini didominasi oleh kalangan remaja dengan rentang usia 15 sampai 19 tahun (WHO, 2018).

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI nomor 25 tahun 2014, penduduk usia 10-18 tahun diklasifikasikan ke dalam kategori remaja. Selain itu, berdasarkan pengkategorian dari Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Nasional (BKKBN) remaja dikategorikan sebagai penduduk yang belum menikah dan ada pada rentang 10-24 tahun (Mulyati *et al.*, 2021). Hal ini dapat disimpulkan bahwa angka konsumsi alkohol berdasarkan data WHO tergolong didominasi kategori remaja.

Data dinas penelitian dan pengembangan Polisi Republik Indonesia (Polri) tahun 2017 dalam Maula dan Yuniastuti, (2017) menyatakan penggunaan alkohol remaja 47,7% pada usia 14-16 tahun, 51,1% pada 17-20 tahun dan 31% pada 21-24 tahun. Selain itu, angka konsumsi alkohol pada remaja

khususnya wanita tidak kalah tinggi dengan laki-laki, pendapat ini diperkuat oleh data Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) yang menyatakan dalam rentang usia 15-19 tahun didapatkan persentase konsumsi alkohol pada Wanita 58% dan Pria 70% (Mulyati *et al.*, 2021).

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia dalam Gerakan Masyarakat Hidup Sehat (GERMAS) mencatat bahwa alkohol dapat memiliki dampak negatif pada 10 sistem organ berbeda, termasuk menyebabkan kerusakan sistem saraf, mengganggu kinerja jantung, mengacaukan metabolisme tubuh, mengganggu sistem reproduksi, menurunkan tingkat kecerdasan, meningkatkan risiko obesitas dan peningkatan berat badan, mengganggu fungsi hati, menyebabkan gangguan pada pembuluh darah serta meningkatkan tekanan darah. Selain itu, alkohol juga menimbulkan ketidaknyamanan tubuh dan memperpendek usia seseorang (KEMENKES, 2018).

Konsumsi alkohol dengan dosis tinggi dalam waktu singkat dikatakan sebagai *binge drinking* atau pola minum alkohol yang membuat kadar alkohol dalam darah bernilai 0,08% atau 0,08 gram/dL alkohol atau lebih dan umumnya setara dengan asupan 5 (lima) atau lebih minuman beralkohol gelas berukuran standar untuk laki-laki dan lebih dari 4 (empat) gelas berukuran standar untuk perempuan dalam kurun waktu kurang lebih 2 jam (NIAAA, 2020). Selain itu, WHO mendefinisikan *binge drinking* merupakan pola konsumsi alkohol sekurang-kurangnya 60 gram atau lebih alkohol murni dengan periode paling sedikit satu kali dalam 30 hari terakhir (WHO, 2018).

Kerusakan sel akibat alkohol sangatlah luas, tidak hanya di organ-organ yang krusial seperti hepar, jantung, pembuluh darah, paru-paru dan lainnya. Penyalahgunaan atau konsumsi alkohol berlebih dan dalam jumlah banyak juga sering dikaitkan kerusakan pada mukosa mulut, perkembangan dan susunan gigi yang buruk serta kebersihan mulut yang buruk. Secara khusus, alkohol memiliki dampak langsung dengan menurunkan produksi air liur di

kelenjar ludah yang terletak di depan telinga (kelenjar parotid) sehingga menghilangkan pertahanan mukosa yang penting di dalam rongga mulut. Akibatnya, peminum berat rentan terhadap karies gigi dan radang gusi (Mehta, and Guidot, 2017).

Konsumsi alkohol dapat meningkatkan kekeringan mulut dengan mekanisme peningkatan ekspresi TNF- α dan mengarah pada induksi apoptosis sel asinar dan stress oksidatif. Selain itu, Alkohol mampu mencapai dan merusak kelenjar saliva melalui kemampuan etanol untuk berdifusi dengan cepat ke dalam air liur. Kerusakan pada jaringan mulut tampaknya sebagian besar disebabkan oleh aksi asetaldehida, meskipun beberapa efek akut bergantung pada aksi langsung etanol dan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) serta etil ester asam lemak (FAEEs) (Waszkiewicz *et al.*, 2011). Hal ini dibuktikan dengan penelitian Fagundes *et al.*, (2016) yang menyimpulkan bahwa pada hewan coba ketika diberikan alkohol dengan dosis 3 mg/KgBB/hari dalam waktu 3 hari atau dengan model *binge drinking* dapat memicu kerusakan-kerusakan yang ditandai adanya peningkatan marker stress oksidatif berupa malondialdehid (MDA) yang meningkat pada kelenjar parotid dan submandibular tikus jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Suatu kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara jumlah oksidan (radikal bebas) dan jumlah antioksidan dalam tubuh disebut sebagai stress oksidatif. Pada gilirannya stress oksidatif dapat menyebabkan kerusakan yang bermula dari tingkat sel sampai dengan tingkatan yang lebih tinggi. Keberadaan stres oksidatif dapat diidentifikasi melalui peningkatan hasil akhir peroksidasi lipid dalam tubuh yaitu MDA (Muliando, 2020)

Terdapat banyak studi yang mendalami sumber-sumber antioksidan diantaranya adalah bawang putih yang memiliki efek farmakologis sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, antijamur, hipolipidemik, antitrombotik, hipoglikemik. (Agustina *et al.*, 2020). Bawang hitam adalah produk olahan bawang putih yang memiliki kandungan tinggi dalam polisakarida, kadar gula

rendah, protein, senyawa fenolik, dan senyawa sulfur. Kadar polifenol meningkat hingga enam kali lipat ketika bawang putih mengalami proses pemanasan. Lebih lanjut, selama proses pemanasan jumlah total polifenol dan flavonoid bawang hitam meningkat secara signifikan (Lu *et al.*, 2017). Pada penelitian yang dilakukan Bae *et al.*, (2014) mengonfirmasi bahwa bawang hitam memiliki kadar antioksidan dua kali lipat lebih tinggi dan kemampuan antibakterinya lebih kuat dibandingkan dengan bawang putih konvensional karena kandungan *S-allylcystein* pada bawang hitam.

Dalam penggunaannya, terdapat penelitian yang telah memverifikasi bahwa dengan 400 mg/KgBB dan 800 mg/KgBB dosis yang paling efektif dari bawang hitam dalam melindungi organ hepar dan ginjal dari dampak stress oksidatif akibat paparan asam lemak adalah 800 mg per kilogram berat badan. Penelitian ini menunjukkan bahwa dengan dosis 800 mg/kgBB, kerusakan pada hepar mencapai skoring terendah dibandingkan dosis lainnya (Astari, 2021; Dimas, 2022).

Berdasarkan data dan berbagai penelitian yang telah dilakukan, peneliti memiliki ketertarikan dalam mengetahui kadar MDA pada kelenjar saliva sebagai marker stress oksidatif dan peran penggunaan bawang hitam dengan dosis 400 dan 800 mg/KgBB pada induksi yang berbeda dari minyak jelantah. Hal ini ditujukan untuk langkah preventif terhadap stres oksidatif yang terjadi pada tikus akibat induksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan yang telah diberikan, muncul suatu rumusan masalah yaitu “Apakah terdapat pengaruh pemberian variasi dosis ekstrak bawang hitam terhadap kadar MDA pada kelenjar saliva tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang diinduksi alkohol dengan model *binge drinking*?”

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian variasi dosis ekstrak bawang hitam terhadap perubahan kadar MDA pada kelenjar saliva tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang diinduksi atau diberikan alkohol model *binge drinking*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan ilmiah terkait efek variasi dosis ekstrak bawang hitam (*Black Garlic*) terhadap kadar MDA kelenjar saliva tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang diinduksi alkohol model *binge drinking*.

1.4.2 Manfaat Bagi Institusi

Penelitian diharapkan memberikan informasi pembelajaran serta referensi khususnya pada topik-topik yang memiliki hubungan dengan judul penelitian khususnya keilmuan pada bidang Biologi Molekuler, Biokimia dan Patologi Klinik.

1.4.3 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Memberikan sumber referensi dan acuan pustaka dalam perolehan data pada penelitian-penelitian lebih lanjut terkait uji lain dan pengaruh bawang hitam terhadap metode penelitian lainnya.

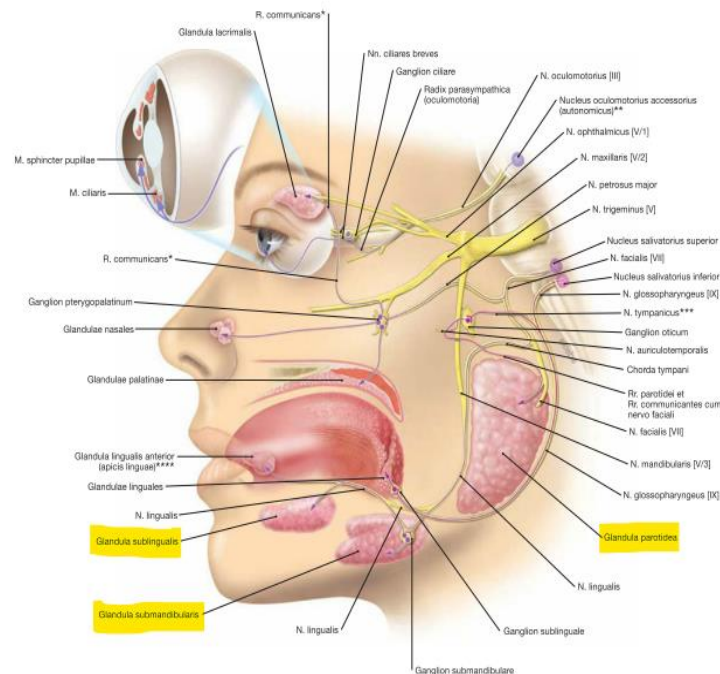
1.4.4 Manfaat Bagi Peneliti

Meningkatkan wawasan peneliti khususnya terkait informasi-informasi bahan alam serta manfaat ekstrak bawang hitam terhadap kadar MDA pada kelenjar saliva tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi alkohol model *binge drinking*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelenjar Saliva

2.1.1 Anatomi Kelenjar Saliva



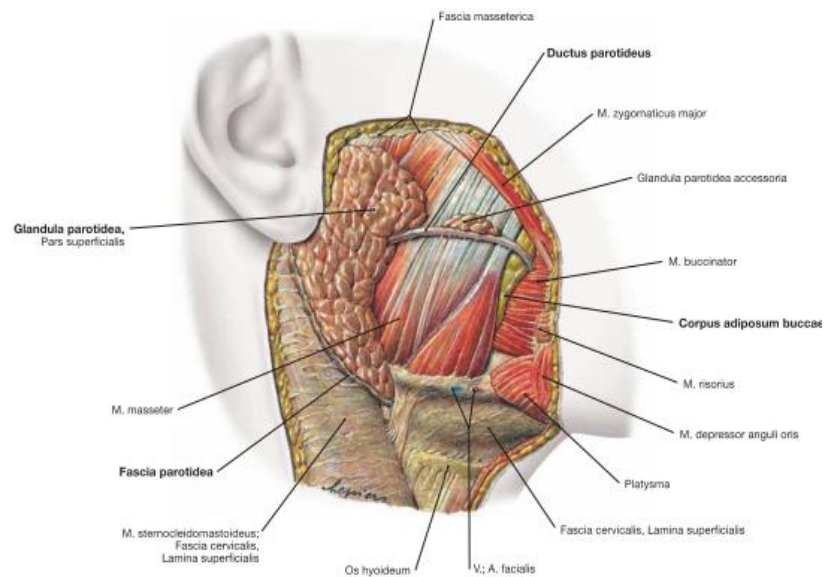
Gambar 1 Anatomi Kelenjar Saliva (Paulsen, F and Waschke, 2013)

Kelenjar saliva atau kelenjar air ludah terdiri atas tiga pasang kelenjar yaitu kelenjar parotis, kelenjar submandibularis dan kelenjar sublingualis (Widiastuti, 2010) diantaranya;

1. Kelenjar Parotis

Kelenjar parotis merupakan kelenjar penghasil ludah terbesar dan hampir seluruhnya terdiri dari asini serosa yang *irregular*, namun memiliki bentuk seperti segitiga jika dilihat dari permukaan lateralnya. Kelenjar parotis terdapat dalam fossa yang pada

bagian anteriornya dibatasi oleh margo posterior ramus mandibula dan musculus pterygoideus. Pada bagian posterior fossa dibatasi oleh pars tympanica ossis temporalis, kartilago meatus acustici, margo anterior processus mastoidei dan m. sternocleidomastoideus (SCM). Pada bagian medialnya, fossa dibatasi oleh processus styloideus, musculus stylohyoideus dan musculus styloglossus, arteri carotis interna dan vena jugularis interna. Bagian ventromedialnya, fossa dibatasi oleh venter posterior muscoli digastrici (Richard L *et al.*, 2014; Paulsen, F and Waschke, 2013; Netter *et al.*, 2014).



Gambar 2 Anatomi Kelenjar Parotid (Paulsen, F and Waschke, 2013)

Nervus fasialis membagi kelenjar parotid menjadi dua bagian, pars superficialis terletak tepat di depan telinga luar dan pars profunda yang merupakan bagian kelenjar yang lebih besar, tidak memiliki fascia dan berproyeksi ke dalam fossa retromandibularis. Selain itu persarafan dari kelenjar parotid diatur oleh serabut sekretomotorik parasimpatik yang berasal dari nervus glossopharyngeus (Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013).

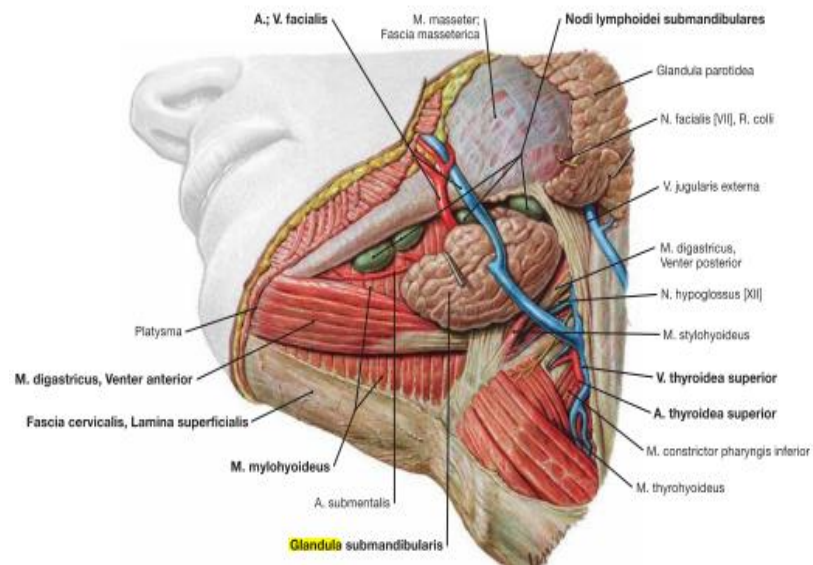
Produksi saliva dari kelenjar parotid disalurkan melalui duktus stenseni yang keluar dari pinggir anterior kelenjar dan berjalan ke arah anterior di atas permukaan lateralis musculus masseter. Lokasi muara duktus parotidea (duktus stenseni) berhadapan dengan geraham/molar kedua di papilla duktus parotidei dalam vestibulum oris (Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013).

Perdarahan kelenjar saliva parotis berasal dari pembuluh-pembuluh darah yang melaluinya. Struktur yang ada pada substansi glandula parotis diantaranya, arteri carotis eksternum, vena retromandibular (vena facialis posterior), nervus fasialis, dan nodi lymphatici parotidei (Netter *et al.*, 2014).

2. Kelenjar Submandibular

Kelenjar submandibular merupakan kelenjar penghasil saliva atau ludah terbesar kedua, terdiri dari campuran acini serosa dan mukosa. Kelenjar submandibular terletak pada dasar mulut di bawah korpus mandibula. Kelenjar submandibularis memiliki bentuk pipih, oval, terletak pada trigonum submandibularis dan diperdarahi oleh cabang-cabang kecil arteri fasialis dan arteri submentalis (Widiastuti, 2010; Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013).

Kelenjar submandibularis memiliki fascia yang terbungkus dalam kompartemen leher bagian superfisial yang dibatasi oleh lamina superficialis dari fascia cervicalis. Kelenjar submandibularis dibagi oleh musculus mylohyoideus menjadi bagian superficialis dan profunda. Bagian profunda dari kelenjar terletak di bawah membrana mukosa mulut di samping lidah dan memiliki hubungan topografik langsung dengan arteri dan vena fasialis (Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013).

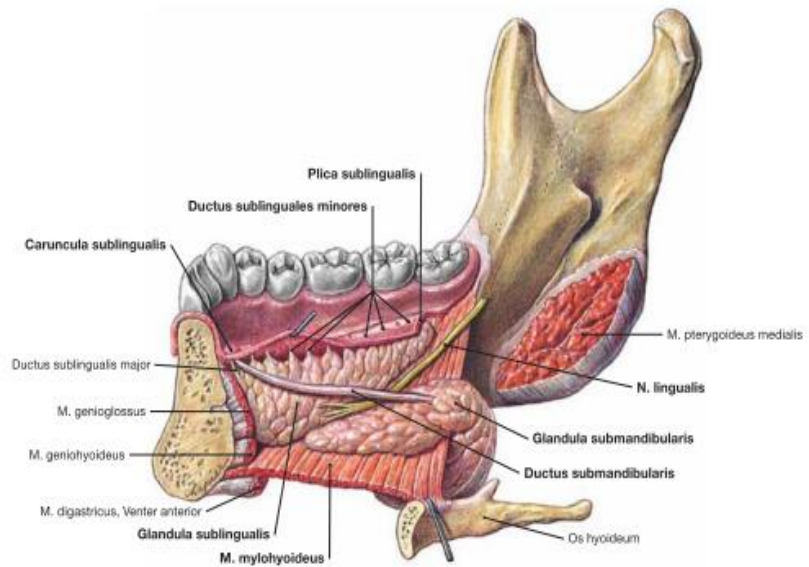


Gambar 3 Anatomi Kelenjar Submandibularis (Paulsen, F and Waschke, 2013)

Saluran ekskresi glandula submandibularis atau duktus Wharton berjalan di dasar mulut dan beranastomosis dengan saluran ekskresi utama kelenjar sublingualis mayor. Duktus ini bermuara ke caruncula sublingualis di kedua sisi frenulum linguae dan di posterior gigi seri ke dalam cavitas oris propria (Paulsen, F and Waschke, 2013).

3. Kelenjar Sublingualis

Kelenjar sublingualis terletak di atas musculus mylohyoideus, lateral dari musculus genioglossus, di bawah plica sublingualis di dasar rongga mulut, dekat dengan frenulum linguae. Kelenjar tersusun atas acini serosa dan mukosa, namun di kelenjar sublingualis lebih didominasi oleh bagian acini mukosa dan perdarahannya berasal dari arteri sublingualis cabang arteri lingualis (Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013; Netter *et al.*, 2014).



Gambar 4 Anatomi Kelenjar Sublingualis (Paulsen, F and Waschke, 2013)

Nervus lingualis berjalan dan mempersarafi antara glandula submandibularis dan sublingualis serta berjalan di bawah duktus submandibularis ke lidah. Selain itu, serabut saraf sekretomotorik parasimpatik yang mengatur aktivitasnya berasal dari N. facialis via chorda tympani dan ganglion submandibular (Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013).

Kelenjar sublingualis memiliki duktus pendek dan sempit yaitu duktus Rivinus atau duktus sublingualis minor yang berjumlah 5-20 duktus yang bermuara pada plica sublingual dalam cavitas oris. Selain itu, kelenjar sublingualis memiliki duktus sublingualis mayor, yaitu duktus dengan saluran yang lebih besar dan beranastomosis dengan duktus Whartoni, serta bermuara pada curunculae linguae seperti kelenjar submandibularis (Moore, KL and Dalley, 2013; Paulsen, F and Waschke, 2013).

2.1.2 Fisiologi Kelenjar Saliva

Kelenjar saliva memiliki peran dalam mensekresi saliva atau air ludah. Sekresi saliva paling banyak terjadi ketika proses pengecapan dan mastikasi makanan berlangsung. Ketika tidak ada proses mastikasi atau tidak sedang mengunyah atau makan, saliva tetap diekskresikan namun dalam aliran yang sedikit (Widiastuti, 2010).

Pada individu yang sehat, produksi saliva tetap sebanyak 0,5 ml dalam rongga mulut. Produksi saliva yang tetap merendam gigi dan memberikan proteksi serta menjaga keutuhan gigi, membran mukosa mulut, lidah dan orofaring (Kidd, EAM, and Joyston-Bechal, 1991)

Kelenjar saliva dikendalikan oleh saraf otonom (sistem simpatis dan parasimpatis) dengan efek stimulasi parasimpatis yang lebih kuat dan bertahan lama. Saraf simpatis akan merangsang reseptor adrenergic pada sel asinar ludah melalui pelepasan norepinefrin dan secara keseluruhan persarafan simpatis ini berasal dari serabut post ganglionic dari ganglion servikal superior. Sistem saraf parasimpatis melibatkan nervus fasialis dan nervus glossopharyngeal yang merangsang kelenjar melalui reseptor muskarinik dan kolinergik M3 serta meningkatkan zat P yang berperan dalam pengeluaran enzim amilase. Aktivitas saraf parasimpatis yang diikuti dengan vasodilatasi pembuluh darah pada kelenjar memiliki efek pengeluaran saliva yang encer dan banyak (Alhaji, M and Babos, 2023; Llena Puy, 2006).

Persarafan parasimpatis dari saraf glossopharyngeal ke serabut preganglionik kelenjar parotis dimulai dari nukleus salivatory inferior kemudian bersinaps di ganglion otik dan serabut postganglionik mencapai kelenjar melalui saraf auriculotemporal. Selain itu, persarafan parasimpatis ke kelenjar submandibular dan sublingual dimulai di nukleus salivatory superior dengan serabut preganglionik nervus fasialis bersinaps pada ganglion submandibular dan serabut

postganglionik mencapai kelenjar submandibular dan sublingual melalui saraf lingual (Alhajj, M and Babos, 2023).

Dalam Sherwood (2018) dijelaskan bahwa, sekresi saliva diatur oleh reflek sederhana dan reflek terkondisi. Refleks sederhana terjadi saat reseptor kimiawi dan reseptor tekan dalam rongga mulut merespon kehadiran makanan. Reseptor ini menciptakan aliran impuls pada serat aferen dan membawa rangsangan informasi ke medulla oblongata. Nervus glossopharyngeus, fasialis dan vagus membawa rangsangan aferen sensoris menuju nukleus salivarius di medulla oblongata. Selain itu, nervus trigeminus berperan dalam menghantarkan impuls aferen dari kegiatan mastikasi atau pengunyahan. Refleks terkondisi terjadi saat tidak adanya stimulus dalam mulut. Refleks ini dikaitkan dengan alur sinyal yang berawal dari korteks cerebri berlanjut melalui sistem limbik dan merangsang pusat sekresi saliva di medulla oblongata (Sherwood, 2018).

Rerata kecepatan laju sekresi saliva tanpa adanya rangsangan saat sadar (16 Jam) $\pm 0,3$ ml/menit, sehingga didapatkan ± 300 ml saliva selama periode sadar. Selama periode tidak sadar, kecepatan saliva menurun menjadi kurang dari $0,1$ ml/menit dan dalam 7 jam menghasilkan kurang dari 40 ml saliva (Dawes, 1987)

2.1.3 Fungsi dan faktor yang mempengaruhi laju aliran saliva

Saliva atau air ludah memiliki fungsi diantaranya: menginisiasi pencernaan karbohidrat melalui kerja amilase saliva di mulut untuk memecah senyawa polisakarida menjadi disakarida; membasahi makanan dan partikel-partikelnya sehingga saling menyatu dan mempermudah proses menelan serta menghasilkan pelumas berupa mukus yang licin dan kental; memiliki efek antibakteri yaitu lisozim atau enzim yang memecahkan atau menghancurkan bakteri tertentu; memiliki peran sebagai pelarut untuk molekul-molekul yang

merangsang papil pengecap; membantu pengunyahan dan berbicara karena adanya lubrikasi mulut, membilas residu makanan, melepaskan sel epitel, dan benda asing. Selain itu, saliva berperan penting untuk menjaga kesehatan mukosa mulut dengan peran *growth factor* dalam membantu proses penyembuhan luka dan penyangga bikarbonat yang berperan dalam menetralkan asam di makanan serta asam yang diproduksi oleh aktivitas bakteri di mulut sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit rongga mulut dan gigi (Walsh, LJ and Ford, 2016)

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju aliran saliva atau ludah antara lain: (Navazesh *et al.*, 2000)

a) Usia

Pada usia anak dan dewasa laju aliran saliva meningkat dan lajunya menurun di usia tua. Hal ini dikarenakan fungsi kelenjar saliva akan menurun karena elemen asinus kelenjar telah digantikan oleh jaringan fibrosa dan jaringan lemak.

b) Jenis kelamin

Pria memiliki laju aliran saliva yang lebih tinggi jika dibandingkan pada wanita. Hal ini dikarenakan kelenjar saliva pria memiliki ukuran yang lebih besar dibanding pada wanita.

c) Obat-obatan

Penggunaan obat-obatan misalnya atropine atau obat-obatan kolinergik: antidepresan trisiklik; benzodiazepine; antipsikotik, β -blocker, dan antihistamin yang mampu memicu penurunan laju aliran saliva.

d) Penyakit sistemik

Penyakit-penyakit sistemik seperti hipertensi dan diabetes melitus mampu menurunkan laju aliran saliva.

e) Merokok

Aktivitas kerja kelenjar saliva dalam sekresinya dapat terganggu dengan aktivitas merokok harian yang meningkat setiap harinya.

f) Alkohol

Konsumsi alkohol berlebih dapat berpengaruh secara langsung dan tidak langsung terhadap kelenjar saliva sehingga dapat menimbulkan penurunan laju aliran saliva.

2.2 Alkohol

2.2.1 Alkohol

Alkohol atau etanol adalah suatu zat yang bersifat psikoaktif dan dapat membuat pengonsumsinya mengalami ketergantungan. Pada pria dan wanita, angka kejadian gangguan karena penggunaan alkohol mencapai 0,8% dan sementara tingkat ketergantungan pada alkohol sebesar 0,7%. Alkohol memiliki dampak kerusakan pada organ tubuh melalui Proses akumulasi trigliserida dan mengganggu pengeluaran lipoprotein. (Salsabila, 2019). Selain itu, alkohol menjadi zat psikoaktif karena alkohol memiliki kemampuan untuk memengaruhi otak secara selektif sehingga dapat menghasilkan perubahan dalam perilaku, emosi, persepsi, kognitif, dan kesadaran individu (Zuhri and Dona, 2021). Selain itu, Penyalahgunaan alkohol juga mampu menimbulkan berbagai dampak negatif. Termasuk diantaranya; kerusakan hati, masalah kognitif, gangguan perkembangan embrio, *fatty liver disease*, hepatitis, fibrosis, serta sirosis hepar yang menjadi penyebab utama kematian pada individu yang kecanduan alkohol (Atmaningsih, 2020).

Alkohol tergolong ke dalam NAPZA dengan karakter sifat menenangkan dan depresi sistem saraf pusat, mampu memengaruhi fungsi dan perilaku seseorang, mampu memengaruhi mood dan perasaan orang yang mengonsumsinya. Alkohol secara aktif dapat mengganggu regulasi eksitasi atau inhibisi di otak, sehingga jika seseorang mengonsumsi alkohol secara berlebihan akan mengakibatkan timbulnya *disinhibisi*, ataksia dan sedasi (Miradj, 2020).

Kandungan etanol dalam minuman beralkohol bekerja menghambat reseptor NMDA sambil memfasilitasi fungsi GABA. Dengan meningkatkan aksi GABA, neurotransmitter inhibitorik utama di otak, etanol menekan aktivitas keseluruhan SSP. Penghambatan etanol di reseptor NMDA menjadi suatu alasan mengapa seseorang sulit mengingat apa yang terjadi dalam keadaan mabuk berat (Sherwood, 2018).

Alkohol memberikan kontribusi dalam terjadinya cedera jaringan secara langsung dan tidak langsung melalui berbagai mekanisme yaitu, stres oksidatif, peradangan, pembentukan hasil adisi asetaldehida, gangguan integritas penghalang, penurunan sinyal anabolik, peningkatan proses katabolik, perubahan profibrotik, disfungsi, cedera mitokondria dan kerusakan sel (Molina dan Nelson, 2018). Selain itu, alkohol dapat memberikan pengaruh ke berbagai sistem organ ataupun fungsi organ lain dalam tubuh. Organ-organ yang dipengaruhi diantaranya hati, sistem jantung dan pembuluh, sistem imun, sistem hormonal, sistem darah, pankreas, sistem ekskresi ginjal serta pengaturan keseimbangan elektrolit (Fagundes *et al.*, 2016).

Minum alkohol berat secara akut menyebabkan penurunan sekresi dan perubahan konsentrasi elektrolit dalam air liur serta penurunan sintesis protein di kelenjar ludah. Apabila alkohol dikonsumsi dalam jangka waktu yang panjang dapat terjadi secara kronis kerusakan pada kelenjar ludah, penumpukan lemak di kelenjar ludah, pembengkakan dan atrofi sel asinar, dan perubahan laju aliran ludah (Inenaga *et al.*, 2017). Terjadinya kerusakan organ dan jaringan tubuh, lainnya seperti pencernaan pada saluran lambung bagian atas, usus halus, otot rangka, dan kelenjar ludah, juga dipicu dari konsumsi alkohol yang berlebih dan menyebabkan perubahan morfologi serta fungsionalnya (Fagundes *et al.*, 2016).

Secara psikologis ada beberapa faktor konsumsi atau penggunaan alkohol atau minuman keras, yaitu faktor individu atau seseorang yang menjadikan alkohol suatu cara dalam membebaskan diri dari masalah yang ada, faktor keluarga yang dipicu oleh adanya konflik di dalam keluarga dan menimbulkan kecemasan, stress, depresi yang pada akhirnya menjadi kan alkohol solusinya, faktor lingkungan dengan pergaulan di lingkungan yang cenderung kurang baik memberikan pintu masuk dalam pengenalan sesuatu hal yang buruk dan menggiring seseorang ke arah yang lebih negatif seperti minuman keras, dan faktor pengetahuan atau pendidikan, kualitas pengetahuan atau pendidikan yang baik memiliki pengaruh besar terhadap alur berpikir dan pengambilan keputusan dalam hal baik dan buruk (Rori, 2015).

2.2.2 *Binge drinking*

Binge drinking adalah pola konsumsi alkohol secara berlebihan dalam jangka pendek paling sedikit 30 hari terakhir dengan konsumsi alkohol setidaknya 60 g atau lebih dan umumnya setara dengan asupan 5 (lima) atau lebih minuman beralkohol gelas berukuran standar untuk laki-laki dan lebih dari 4 (empat) gelas berukuran

standar untuk perempuan dalam kurun waktu kurang lebih 2 jam. Selain itu, *binge drinking* juga dikategorikan sebagai pola konsumsi yang menghasilkan konsentrasi alkohol dalam darah 0,08 % atau 0,08 gram/dL alkohol atau lebih tinggi (NIAAA, 2020).

Binge drinking alkohol (3g/KgBB) mengurangi parenkim dan meningkatkan stroma pada kelenjar saliva. Penurunan ekspresi protein seperti sitokeratin-19 (CK-19) dan *alpha-smooth muscle actin* (α -SMA) juga ditemukan sebagai hasil dari *binge drinking* alkohol (Ferreira *et al.*, 2021). EtOH menginduksi perubahan biokimia oksidatif kelenjar parotis dan submandibular, menunjukkan adanya hubungan dengan stress oksidatif seperti yang ditunjukkan oleh penurunan kapasitas antioksidan (ACAP) dan peningkatan parameter pro-oksidan (LPO dan NO) (Peinado *et al.*, 2023).

2.2.3 Mekanisme Alkohol Merusak Kelenjar Saliva

Kerusakan yang berhubungan dengan alkohol pada jaringan mulut dapat disebabkan secara langsung oleh aksi etanol dan secara tidak langsung oleh metabolit toksiknya: asetaldehid, ROS serta metabolit non oksidatif berupa etil ester asam lemak (*fatty acid ethyl esters* – FFAE's) (Waszkiewicz *et al.*, 2009). Etanol secara langsung merusak membran sel dan membran organel yang menyebabkan perubahan konformasi pada strukturnya dan meningkatkan fluiditas membran. Hal ini secara tidak langsung merusak struktur protein dan asam nukleat, bekerja melalui metabolitnya, dan menyebabkan deregulasi sistem enzimatik (Waszkiewicz and Szulc, 2010).

Alkohol memiliki kemampuan mencapai dan merusak kelenjar saliva melalui aktivitas etanol yang dapat berdifusi dengan cepat ke dalam air liur selama minum, dan segera setelah itu konsentrasinya dalam air liur untuk sementara jauh lebih tinggi dibandingkan dalam plasma. Dalam waktu 30 menit, konsentrasi etanol dalam air liur akan

seimbang dengan kadar plasma, sehingga menunjukkan bahwa etanol dengan mudah berpenetrasi ke seluruh tubuh, termasuk jaringan rongga mulut dan kelenjar ludah. Setelah konsumsi alkohol, kadar asetaldehida dalam air liur jauh melebihi kadar dalam darah sistemik. Dari air liur, asetaldehida dan etanol dengan mudah mencapai seluruh jaringan lokal. Kerusakan pada jaringan mulut tampaknya sebagian besar disebabkan oleh aksi asetaldehida, meskipun beberapa efek akut bergantung pada aksi langsung etanol dan pembentukan ROS serta FAEEs (Waszkiewicz *et al.*, 2011).

Asetaldehida dan radikal oksigen bebas yang dilepaskan selama keracunan alkohol dapat mengubah protein dan lemak lisosom serta membran sel, sehingga berdampak pada penurunan stabilitasnya. Hal ini digambarkan dalam mekanisme yang terjadi ketika penggantian molekul air dengan molekul etanol selama periode keracunan alkohol. Hal ini mengakibatkan penurunan jumlah ikatan hidrogen dan peningkatan hidrofobisitas membran serta penurunan sintesis ATP (akibat produksi bentuk yang tereduksi dalam jumlah berlebihan) (Klemm *et al.*, 1998; Waszkiewicz *et al.*, 2009).

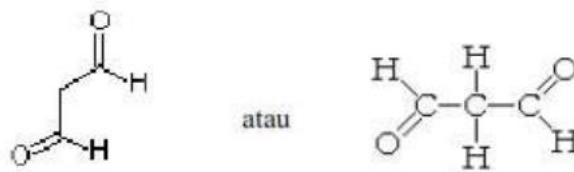
Etanol, menggantikan air dan membatasi aktivasi cAMP di membran dan mobilisasi Ca^{2+} . Hal ini dapat meningkatkan fluiditas membran sel parenkim kelenjar ludah dan memperburuk fungsi sekresinya. Hal ini diinisiasi oleh banyak metabolit etanol diantaranya asetaldehida dalam konsentrasi tinggi, ROS, FAEEs (Niebergall-Roth *et al.*, 1998).

2.3 MDA

Kerusakan-kerusakan sel akibat serangan oksidan (radikal bebas) yang paling awal muncul dan paling banyak diteliti yaitu senyawa peroksidasi lipid. Terbentuknya peroksidasi lipid dan perannya dalam *marker* atau penanda kerusakan sel disebabkan oleh aktivitasnya yang banyak terjadi di membran sel dan peningkatannya menyerang asam lemak tidak jenuh yang merupakan

komponen penting penyusun membran sel dan peroksidasi lipid memiliki produk akhir yaitu MDA (Lima et al. 2004).

Malondialdehyde adalah senyawa tiga rantai karbon dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$ dan merupakan produk peroksidasi lipid yang cenderung konstan terhadap kadar peroksidasi lipid, oleh karena itu MDA merupakan indikator yang tepat dalam mengetahui kecepatan (*rate*) proses peroksidasi lipid *in vivo* (Wulandari, 2016). Hal ini diperkuat oleh beberapa penelitian yang telah mengungkapkan bahwa MDA adalah komponen yang dapat digunakan dalam pengukuran peroksidasi lipid memiliki sifat stabil dan akurat serta telah membantu menjelaskan peranan stres oksidatif dalam berbagai penyakit (Mulianto, 2020).



Gambar 5 Struktur kimia MDA (Wulandari, 2016)

Salah satu cara pemeriksaan kadar MDA yang dapat dilakukan yaitu metode *thiobarbituric acid reactive substance* (TBARs) dan dapat dilakukan secara *in vivo* maupun *in vitro*. Tes ini didasari oleh reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA dalam kondisi asam. Gambaran banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi dideteksi dengan aktivitas MDA (Wulandari, 2016).

Konsumsi alkohol juga dikaitkan dengan ketidakseimbangan metabolisme produksi radikal bebas, yang menyebabkan stres oksidatif dan dapat memicu terbentuknya peroksidasi lipid. Hal ini dibuktikan dalam penelitiannya bahwa tingkat MDA yang lebih tinggi terjadi pada tikus yang mengonsumsi alkohol. Penanda peroksidasi lipid berupa MDA ditunjukkan pada kelenjar parotis

kelompok etanol setelah 1 dan 4 minggu asupan etanol dalam model *binge drinking*. Kelenjar submandibular menunjukkan tingkat peroksidasi lipid yang lebih tinggi pada kelompok etanol hanya setelah pengobatan berlebihan selama 1 minggu. Hal ini berkaitan dengan aktivitas peningkatan kadar peroksidasi lipid yang terdeteksi oleh produksi senyawa beracun seperti MDA, berhubungan dengan kerusakan membran dan dapat merusak permeabilitas membran (Fagundes *et al.*, 2016).

2.4 Bawang Hitam

Bawang hitam (*Black garlic*) adalah salah satu hasil olahan bawang putih tua yang diperoleh dari fermentasi bawang putih mentah (*Allium sativum*) melalui reaksi Maillard pada suhu 60–90 °C dan kelembaban 70–90% untuk jangka waktu tertentu. Telah dilaporkan bahwa senyawa yang tidak stabil pada bawang putih mentah diubah menjadi senyawa yang stabil, misalnya *S-allylcysteine* (SAC). Bawang hitam telah banyak diteliti dan dinyatakan memiliki kandungan senyawa antioksidan yang larut dalam air (*S-allyl cysteine*, *S-allyl-mercapto cysteine*), 5-hydroxymethylfurfural, senyawa organosulfur, polifenol, senyawa volatil, dan produk reaksi Maillard lainnya lebih tinggi dibandingkan bawang putih segar setelah proses pemanasan. Selain itu, bawang hitam dan senyawa bioaktif yang di dalamnya memiliki berbagai aktivitas biologis dan efek farmakologis yang menjaga dan menunjukkan kemanjuran yang lebih baik dalam mencegah berbagai jenis penyakit serta dikaitkan dengan anti-oksidasi, anti-inflamasi, anti-obesitas, hepatoproteksi, hipolipidemia, anti-kanker, anti-alergi, imunomodulasi, nefroproteksi, perlindungan kardiovaskular, dan perlindungan saraf (Ahmed and Wang, 2021; Cintawan *et al.*, 2023).

Bawang hitam baru-baru ini mendapat perhatian lebih karena mengandung asam amino *S-allyl cysteine* (SAC) yang merupakan antioksidan paling dominan dari hasil fermentasi bawang putih menjadi bawang hitam (Ahmed dan Wang, 2021). Kadar SAC dalam bawang putih segar dilaporkan sebesar 21-23 µg/g FM dan bisa jauh lebih tinggi tiga hingga 6 kali lipat pada bawang

hitam tergantung pada perlakuan termal atau pemanasannya. Terdapat penelitian yang membuktikan kandungan SAC pada bawang hitam adalah 124,67 $\mu\text{g/g}$ DM ketika diproduksi pada suhu 40 °C selama 45 hari, tetapi kandungan SAC menurun menjadi 85,46 $\mu\text{g/g}$ DM dalam BG ketika suhu dinaikkan menjadi 85 °C (Bae *et al.*, 2014).

Di Tiongkok, bawang putih divariasikan menjadi bawang hitam melalui pemanasan yang menghasilkan aktivitas antioksidan yang sangat efektif, baik dalam secara uji laboratorium maupun dalam uji pada organisme hidup. Kemampuan antioksidan dari bawang hitam dapat dipengaruhi oleh cara pengolahan dan kondisi awal bawang putih dengan mengatur suhu dan tingkat kelembaban. Pengolahan bawang hitam dilakukan dengan fermentasi di suhu 60°C-90°C dan kadar air atau kelembaban 80-90%. Proses fermentasi ini menyebabkan perubahan warna akibat reaksi Maillard yaitu dari putih menjadi hitam kecoklatan atau reaksi antara proses kimia asam amino dan gula reductase yang terjadi (Kimura *et al.*, 2017). Selain itu, Produk bawang hitam memiliki kandungan tinggi dalam polisakarida, mengurangi kadar gula, protein, senyawa fenolik, dan senyawa sulfur. Kadar polifenol meningkat hingga enam kali lipat ketika bawang putih mengalami proses pemanasan. Lebih lanjut, selama proses pemanasan jumlah total polifenol dan flavonoid bawang hitam meningkat secara signifikan. (Lu *et al.*, 2017).

Senyawa flavonoid berperan dalam mengikat dan menangkap radikal bebas, diantaranya, hidroksil, peroksil, alkohoksil serta anion superoksida. Flavonoid mampu berinteraksi dengan ion logam seperti Ferum (Fe) atau besi dan Cuprum (Cu) atau tembaga yang dapat memicu produksi radikal bebas serta berperan dalam katalisis peroksidasi lipid. Disamping itu, flavonoid dalam bawang hitam juga dapat menyelaraskan alur sinyal sel-sel yang mengendalikan proses pertumbuhan, proliferasi sel, dan apoptosis sel (Rozak, 2023).

Kandungan senyawa-senyawa di bawang hitam seperti SAC, polifenol, flavonoid mampu menghambat kerusakan-kerusakan akibat stress oksidatif atau ketidakseimbangan oksidan (radikal bebas) dan antioksidan. Selain itu, senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pembentukan peroksidasi lipid sehingga dapat menurunkan kadar MDA dalam tubuh. Penelitian yang dilakukan dimas membuktikan bahwa bawang hitam dengan dosis 800 mg per kilogram berat badan menimbulkan efek proteksi pada ginjal tikus putih dengan stress oksidatif akibat induksi minyak jelantah (Dimas, 2022).

2.5 Kerangka Teori

Penelitian ini didasari oleh kerusakan kelenjar saliva akibat konsumsi alkohol dengan metode *binge drinking* yang dapat meningkatkan kekeringan mulut dengan mekanisme peningkatan ekspresi TNF- α dan mengarah pada induksi apoptosis sel asinar dan stres oksidatif (Waszkiewicz *et al.*, 2011)

Konsumsi alkohol dengan metode *binge drinking* dapat mengurangi parenkim, meningkatkan stroma pada kelenjar saliva, penurunan ekspresi protein seperti sitokeratin-19 (CK-19) dan *alpha-smooth muscle actin* (α -SMA) (Ferreira *et al.*, 2021). Alkohol yang masuk ke dalam tubuh mampu menginduksi perubahan biokimia oksidatif kelenjar parotis dan submandibular, menunjukkan adanya hubungan dengan stress oksidatif akibat paparan alkohol seperti yang ditunjukkan oleh penurunan kapasitas antioksidan (ACAP) dan peningkatan parameter pro-oksidan (LPO dan NO) (Peinado *et al.*, 2023)

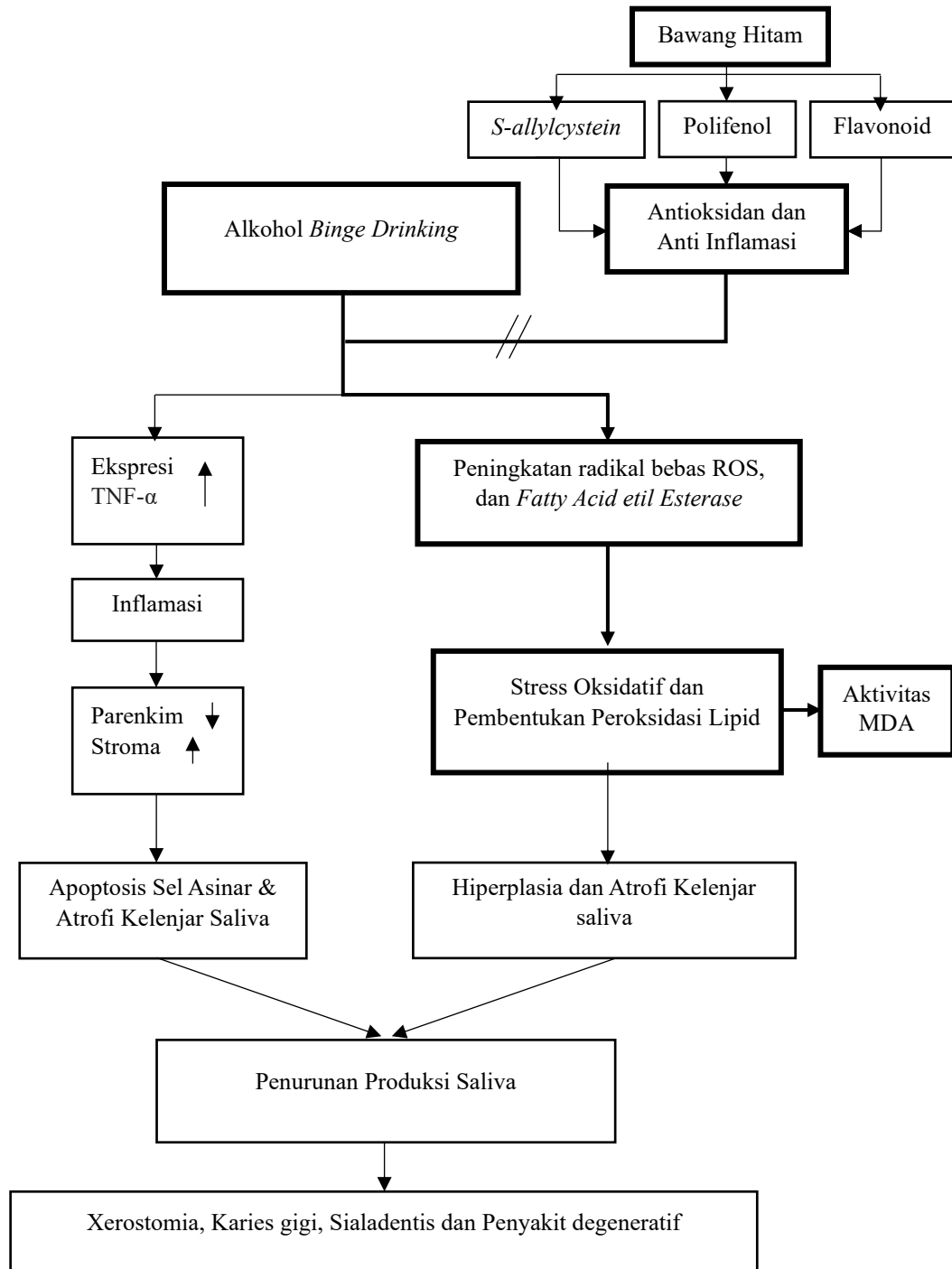
Kerusakan-kerusakan akibat alkohol pada jaringan mulut dapat disebabkan secara langsung oleh aksi etanol dan secara tidak langsung oleh metabolit toksiknya: asetildehida ROS serta metabolit non oksidatif berupa FAAE's (Waszkiewicz *et al.*, 2009). Etanol secara langsung merusak membran sel dan membran organel yang menyebabkan perubahan konformasi pada strukturnya dan meningkatkan fluiditas membran. Hal ini secara tidak langsung merusak struktur protein dan asam nukleat, bekerja melalui

metabolitnya, dan menyebabkan deregulasi sistem enzimatis (Waszkiewicz and Szulc, 2010).

Selain kandungan *S-allylcysteine* (SAC) yang meningkat secara signifikan dan berperan sebagai senyawa antioksidan paling banyak yang ditemukan di bawang hitam. Bawang hitam juga memiliki kandungan senyawa tinggi lain yaitu senyawa polisakarida, protein, senyawa sulfur dan senyawa fenolik. Selain itu, pemanasan yang pada bawang putih juga menyebabkan adanya peningkatan dalam jumlah flavonoid pada bawang hitam (Lu *et al.*, 2017).

Senyawa flavonoid berperan dalam mengikat dan menangkap radikal bebas serta mampu berinteraksi dengan ion logam, seperti ferum (Fe) atau besi dan cuprum (Cu) atau tembaga, yang dapat memicu produksi radikal bebas serta berperan dalam katalisis peroksidasi lipid (Rozak, 2023)

Kandungan senyawa-senyawa di bawang hitam seperti SAC, polifenol, flavonoid mampu menghambat kerusakan-kerusakan akibat stress oksidatif atau ketidakseimbangan oksidan (radikal bebas) dan antioksidan. Selain itu, senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pembentukan peroksidasi lipid sehingga dapat menurunkan kadar MDA dalam tubuh.



Keterangan:

———— : Menginduksi

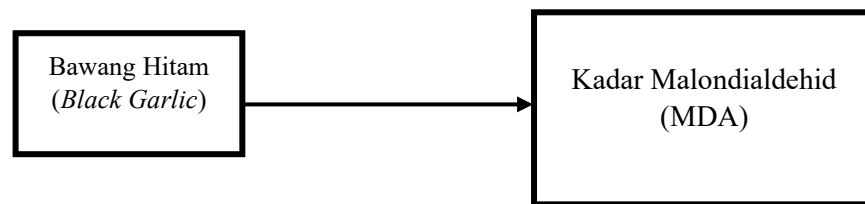
—//— : Menghambat

Cetak Tebal : Yang diteliti

Gambar 6 Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini mencakup dua jenis variabel yaitu, Variabel independen dan dependen. Variabel independen adalah pemberian ekstrak bawang hitam (*Black Garlic*) dengan dosis 400 dan 800 mg/KgBB, sementara variabel dependen adalah aktivitas malondialdehid (MDA) dalam kelenjar saliva tikus putih betina (*Rattus norvegicus*).



Gambar 7 Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Hipotesis yang muncul dari penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

H₀ = Tidak terdapat dampak dari pemberian ekstrak bawang hitam (*Black Garlic*) pada aktivitas MDA dalam Kelenjar Saliva tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang diinduksikan alkohol menggunakan model *binge drinking*.

H₁ = Terdapat pengaruh atau dampak pemberian ekstrak bawang hitam (*Black Garlic*) pada aktivitas MDA dalam Kelenjar Saliva tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang diinduksikan alkohol menggunakan model *binge drinking*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini menggunakan *true experimental* dengan metode *randomized controlled design* serta pola penelitian *post-test control only group design* dengan menyandingkan hasil pengamatan pada kelompok eksperimental dan kontrol yang melibatkan hewan coba tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar. Kelompok penelitian ini dibagi menjadi 4 subkelompok yaitu, kelompok negatif, positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2

3.2 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini berlangsung pada bulan September hingga Desember 2023, dan melibatkan beberapa lokasi sebagai berikut:

1. Laboratorium Biokimia, Biomolekuler dan Fisiologi, sebagai tempat persiapan sampel hingga siap untuk diukur dengan spektrofotometri
2. *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, sebagai fasilitas pemeliharaan hewan percobaan, mulai dari masa adaptasi hingga perlakuan.
3. Laboratorium Farmasi sebagai tempat pengukuran kadar MDA menggunakan spektrofotometri
4. Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi sebagai tempat penyimpanan jaringan kelenjar saliva.
5. Balai Veteriner Lampung Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan sebagai tempat dilakukannya terminasi dan pembedahan untuk mengambil kelenjar saliva tikus.

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi

Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* yang usianya sekitar 5-9 minggu, dengan berat badan tikus 140-170 gram. Tikus diperoleh dari *Animal vet laboratory* Institut Pertanian Bogor

3.3.2 Sampel

Rumus Freederer digunakan dalam penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini:

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

Keterangan:

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok

t = jumlah kelompok perlakuan sehingga;

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

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

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6 \text{ tiap kelompok}$$

Untuk menanggulangi kemungkinan adanya kesalahan dalam penelitian dilakukan koreksi dengan kriteria *drop out*, menambahkan 30% dari total hewan coba setiap kelompok yaitu:

$30\% \times 6$ $= 1,8 \sim 2 \text{ per kelompok}$

Merujuk hasil di atas, cadangan sampel yang disiapkan untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah 2 ekor. Oleh karena itu, total hewan coba yang digunakan tiap kelompoknya adalah 8 ekor tikus, dan total jumlah hewan coba yang digunakan adalah 32 ekor tikus putih. Penelitian ini dibagi menjadi 4 subkelompok dan dipilih menggunakan teknik *simple random sampling* untuk mengetahui bagaimana aktivitas MDA pada kelenjar saliva tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *wistar* yang diinduksikan alkohol, serta untuk mengetahui dampak bawang hitam pada keadaan stress oksidatif akibat konsumsi alkohol dengan pengukuran MDA. Parameter kerusakan kelenjar saliva tikus yang terjadi berupa pembentukan peroksidasi lipid akibat konsumsi alkohol

3.3.3 Kelompok Perlakuan

Penelitian ini menggunakan tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) dengan jumlah 32 ekor dan dibagi dalam 4 subkelompok yaitu:

- a. Kelompok kontrol 1 (K1), hanya diberikan air/air sulingan selama 3 hari (Fagundes *et al.*, 2016).
- b. Kelompok kontrol 2 (K2), diberikan alkohol menggunakan model *binge drinking*. Alkohol dengan konsentrasi 20% (m/v) diberikan sebanyak 3 g/kgBB/hari, selama 3 hari (Fagundes *et al.*, 2016).
- c. Kelompok perlakuan 1 (P1), diberikan alkohol model *binge drinking* dengan konsentrasi 20% (m/v) dan dosis yang diberikan sebanyak 3 g/kgBB/hari selama 3 hari serta ekstrak bawang hitam selama 3 hari dengan dosis 400 mg/kgBB/hari (Fagundes *et al.*, 2016; Astari, 2021; Dimas, 2022)
- d. Kelompok perlakuan 2 (P2), diberikan alkohol model *binge drinking* dengan konsentrasi 20% (m/v) dan dosis yang diberikan sebanyak 3 g/kgBB/hari selama 3 hari serta ekstrak bawang hitam selama 3 hari dengan dosis 800 mg/kgBB/hari (Fagundes *et al.*, 2016; Astari, 2021; Dimas, 2022).

3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* betina usia 5-9 minggu dengan berat 140-170 gram, sehat dengan indikasi mampu bergerak aktif, rambut tidak botak, kusam, dan atau rontok, (Fagundes *et al.*, 2016)

3.4.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah bilamana ada penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa aklimitasi di *animal house*, adanya kelainan anatomis pada tikus, dan atau mati selama pemberian perlakuan.

3.5 Identifikasi Variabel

3.5.1 Variabel Independen

Variabel independen penelitian ini yaitu ekstrak bawang hitam (*Black garlic*) dengan dosis 400 mg/KgBB dan 800 mg/kgBB/hari

3.5.2 Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar MDA kelenjar saliva tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* yang diinduksi alkohol menggunakan model *binge drinking*.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Hasil Ukur	Skala
Bawang hitam (Black Garlic)	Bawang hitam merupakan fermentasi dari bawang putih. Kandungan senyawa-senyawa di bawang hitam mampu menghambat kerusakan-kerusakan akibat stress oksidatif / ketidakseimbangan oksidan (radikal bebas) dan antioksidan (Kimura <i>et al.</i> , 2017)	Pemberian ekstrak bawang hitam ke tikus dengan dosis 400 mg/KgBB dan 800 mg/kgBB/hari (Astari, 2021; Dimas, 2022) dinyatakan dengan kadar MDA pada kelenjar saliva tikus dengan satuan nmol/g. Dosis 400 mg/KgBB/Hari=1 Dosis 800 mg/KgBB/Hari=2	Ordinal
Kadar MDA	Malondialdehid (MDA) kelenjar saliva adalah produk akhir dari peroksidasi lipid ,dihasilkan oleh oksidasi radikal bebas serta peroksidasi lipid akibat metabolit non oksidatif berupa etil ester asam lemak (<i>fatty acid ethyl esters</i> – FAAE's) (Waszkiewicz <i>et al.</i> , 2009)	Kadar MDA jaringan kelenjar saliva diukur dengan spektrofotometri dan dinyatakan dengan satuan nmol/g.	Numerik

3.7 Bahan dan Alat Penelitian

3.7.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- 1) Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*
- 2) Etanol 70%
- 3) Ekstrak bawang hitam (*black garlic*)
- 4) Air/Aquadest
- 5) *Ketamine hydrochloride* dan *xylazine*
- 6) Pakan dan minum tikus

3.7.2 Bahan Prosedur Pemeriksaan Kadar Malondialdehide (MDA)

- 1) Kit Reagen MDA yang terdiri atas Tetra Etoksi Propan (TEP), Asam trikloroasetat (TCA) 20%, Asam Tiobarbiturat (TBA) dan Phosphate buffer saline (PBS) pH= 7,4



Gambar 8. Kit Reagen MDA

3.7.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- 1) Neraca analitik sebagai alat penimbang tikus
- 2) Spuit oral 1cc dan 3cc
- 3) Kapas dan alkohol
- 4) Minor set untuk pembedahan tikus (laparotomi)
- 5) Kandang tikus
- 6) Sonde lambung tikus
- 7) Wadah pakan dan minum tikus
- 8) Gelas ukur
- 9) Alat pemeriksaan kadar MDA: Microtube 2,5 ml dan 5 ml; Micropipet; Whitetips, bluetips, yellowtips; Vorteks; Spektrofotometer; Kuvets; Sentrifuge; Penanggas Air; Boks Es
- 10) Spektrofotometer

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Adaptasi Tikus

Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* sebanyak 32 ekor diberi makan dan minum melalui *ad libitum*. Kemudian dibagi menjadi 4 subkelompok, lalu diadaptasi selama 7 hari di *Animal House* Kedokteran Universitas Lampung. Selanjutnya dilakukan penandaan serta penimbangan untuk menentukan perlakuan per kelompok.

3.8.2 Pemilihan dan Penentuan Dosis Alkohol

a. Pemilihan Alkohol

Alkohol yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol murni dengan konsentrasi 70% dalam 100 ml. Kemudian larutan alkohol dilarutkan dengan air sehingga konsentrasinya menjadi 20% dengan menambahkan air sebanyak 250 ml

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$70\% \times 100 \text{ ml} = 20\% \times V2$$

$$V2 = \frac{70\% \times 100}{20\%}$$

$$V2 = 350 \text{ ml}$$

Sehingga untuk menghasilkan alkohol 20% diperlukan penambahan larutan air sebesar 250 ml untuk menjadikan larutan secara keseluruhannya 350 ml.

b. Penentuan Dosis Alkohol

Dosis alkohol yang diberikan pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) dengan konsentrasi 20% (m/v) diberikan selama 3 hari berturut-turut dengan dosis 3g/KgBB/hari

Perhitungan dosis alkohol menggunakan konsentrasi massa per volume dari konsentrasi etanol yang diperlukan.

$$20\% = \frac{\text{gram etanol}}{\text{larutan(ml)}} \times 100\%$$

Didapatkan dosis pemberian alkohol:

$$20\% = \frac{3}{\text{larutan(ml)}} \times 100\%$$

$$V \text{ (ml)} = 15 \text{ ml/Kg}$$

$$V \text{ (ml)} = 15 \text{ ml} \times \text{BB Tikus (140 Gram)}$$

$$V \text{ (ml)} = 2,1 \text{ ml}$$

3.8.3 Pemilihan Bawang Hitam dan Penentuan Dosis

a. Pemilihan Bawang Hitam

Penelitian menggunakan ekstrak bawang hitam herbalenku yang berbentuk cair. Ekstrak bawang hitam herbalenku terdiri dari 50% bahan ekstrak dan air 50%.



Gambar 9. Ekstrak Bawang Hitam Herbalenku

b. Penentuan Dosis

Penentuan dosis ekstrak bawang hitam yang didasari oleh berat badan tikus 140 gram, hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang meneliti pengaruh asupan *black garlic* terhadap kelenjar terbesar dalam tubuh yaitu hepar dan pengaruh asupan *black garlic* terhadap ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-dawley* yang diinduksi minyak jelantah. Penelitian tersebut membuktikan dosis ekstrak bawang hitam 400 mg/KgBB dan 800 mg/kgBB memiliki efek paling optimal dalam melindungi hepar dari paparan radikal bebas pada keadaan stress oksidatif (Astari, 2021; Dimas, 2022).

1. Dosis 400 mg/KgBB

$$\text{Ekstrak (\%)} = \frac{\text{massa bawang hitam (g)}}{\text{volume larutan (ml)}} \times 100\%$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = \frac{0,4 \text{ g}}{50\%} \times 100\%$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = 0,8 \text{ ml/Kg}$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = 0,8 \text{ ml} \times \text{BB Tikus}$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = 0,12 \text{ ml}$$

Pemberian ekstrak bawang hitam pada kelompok perlakuan 1 dosis yang diberikan sebesar 0,12 ml/hari.

2. Dosis 800 mg/KgBB

$$\text{Ekstrak (\%)} = \frac{\text{massa bawang hitam (g)}}{\text{volume larutan (ml)}} \times 100\%$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = \frac{0,8 \text{ g}}{50\%} \times 100\%$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = 1,6 \text{ ml/Kg}$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = 1,6 \text{ ml} \times \text{BB Tikus}$$

$$\text{Volume larutan (ml)} = 0,23 \text{ ml}$$

Pemberian ekstrak bawang hitam pada kelompok perlakuan 2 dosis yang diberikan sebesar 0,23 ml/hari.

3.8.4 Uji Fitokimia Kualitatif

Penelitian ini menggunakan ekstrak bawang hitam herbalenku. Kandungan senyawa antioksidan didalamnya dapat diidentifikasi dengan dilakukan uji fitokimia secara kualitatif. Adapun cara uji fitokimia yang dapat dilakukan adalah: (Kartikasari *et al.*, 2022)

1. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml aquades dalam 0,5 ml sampel ekstrak dan dikocok selama 30 detik. Hasil pengamatan dikatakan positif saponin jika ditemukan busa pada reaksi antara sampel dan aquades.

2. Uji Steroid

Uji steroid dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H₂SO₄ atau asam sulfat ke dalam 0,5 ml sampel ekstrak dan hasil dikatakan positif apabila warna sampel berubah menjadi biru/ungu/hijau.

3. Uji Terpenoid

Uji fitokimia terpenoid dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H₂SO₄ atau asam sulfat ke dalam 0,5 ml sampel ekstrak dan hasil dikatakan positif apabila warna sampel berubah menjadi merah atau kuning.

4. Uji Tanin

Uji fitokimia senyawa tannin dalam ekstrak dibuktikan dengan menambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10% ke dalam 1 ml sampel. Hasil dikatakan positif apabila terdapat perubahan warna larutan menjadi hitam kebiruan.

5. Uji Alkaloid

Uji Fitokimia keberadaan senyawa alkaloid dilakukan dengan menambahkan 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi Mayer ke dalam 0,5 ml sampel. Hasil dikatakan positif apabila warna larutan berubah menjadi putih kecoklatan.

6. Uji Flavonoid

Uji ada atau tidaknya senyawa flavonoid dalam ekstrak dilakukan dengan mencampurkan 0,5 g serbuk Mg + 0,5 ml HCL pekat (tetes demi tetes) ke dalam 0,5 ml sampel dan hasil dikatakan positif apabila larutan berubah menjadi merah/kuning/coklat serta terdapat busa.

7. Uji Fenolik

Uji fitokimia fenolik dilakukan dengan menambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 2% ke dalam 1 ml sampel. Hasil dikatakan positif apabila warna larutan menjadi hitam ke biruan.

3.8.5 Prosedur Intervensi

Penelitian ini menggunakan tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) dengan jumlah 32 ekor dan dibagi dalam 4 subkelompok yaitu:

- a. Kelompok kontrol 1 (K1), hanya diberikan air/air sulingan selama 3 hari (Fagundes *et al.*, 2016).
- b. Kelompok kontrol 2 (K2), diberikan alkohol menggunakan model

- binge drinking*. Alkohol dengan konsentrasi 20% (m/v) diberikan sebanyak 3 g/kgBB/hari, selama 3 hari (Fagundes *et al.*, 2016).
- c. Kelompok perlakuan 1 (P1), diberikan alkohol model *binge drinking* dengan konsentrasi 20% (m/v) dan dosis yang diberikan sebanyak 3 g/kgBB/hari selama 3 hari serta ekstrak bawang hitam selama 3 hari dengan dosis 400 mg/kgBB/hari (Fagundes *et al.*, 2016; Astari, 2021; Dimas, 2022)
 - d. Kelompok perlakuan 2 (P2), diberikan alkohol model *binge drinking* dengan konsentrasi 20% (m/v) dan dosis yang diberikan sebanyak 3 g/kgBB/hari selama 3 hari serta ekstrak bawang hitam selama 3 hari dengan dosis 800 mg/kgBB/hari (Fagundes *et al.*, 2016; Astari, 2021; Dimas, 2022).

3.8.6 Prosedur Pengelolaan Hewan pasca Penelitian

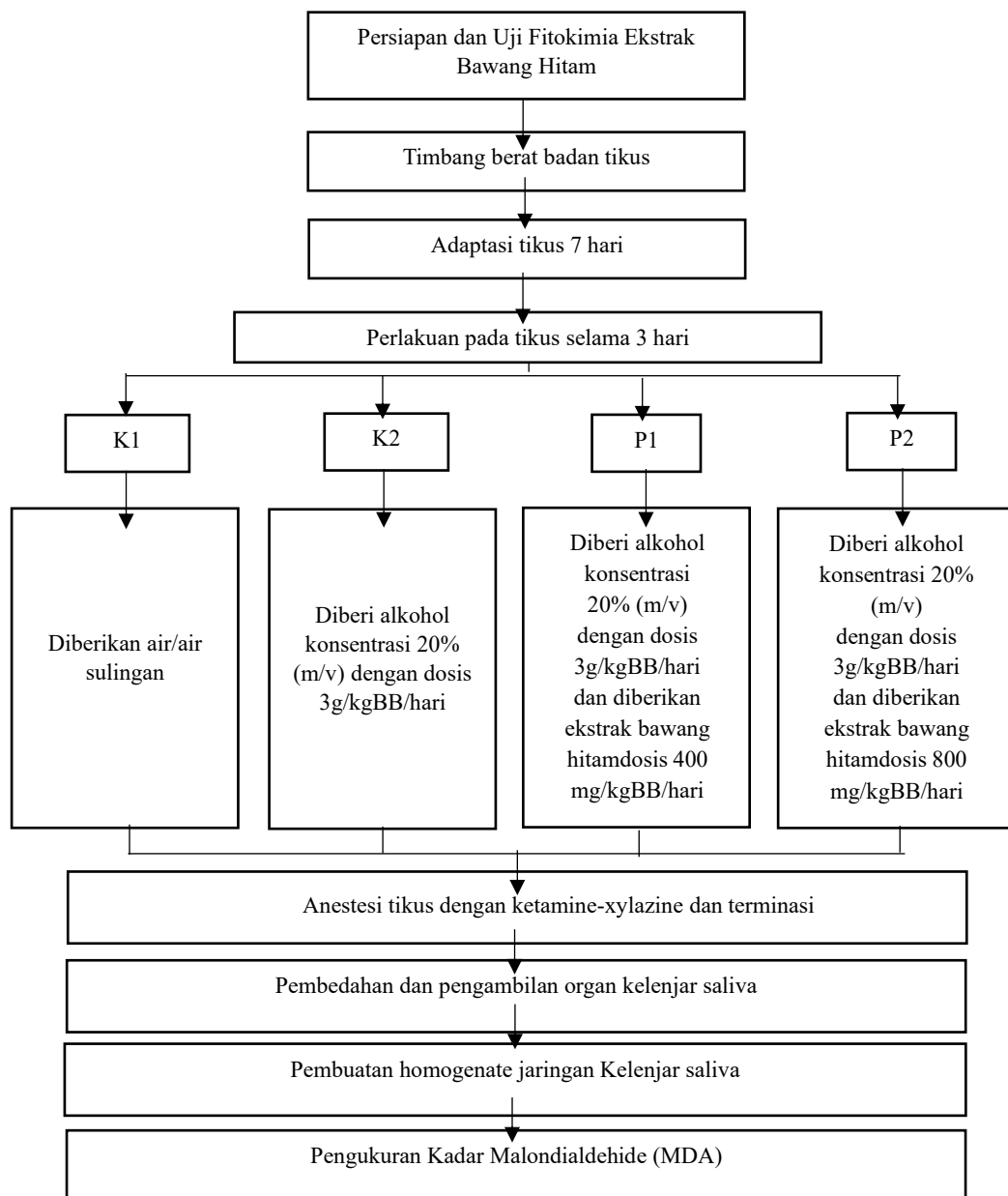
Masing-masing kelompok yang telah mendapatkan perlakuan selama 3 hari selanjutnya diterminasi. Pertama tikus di anastesi menggunakan gabungan dari *ketamine hydrochloride* 90 mg/kgBB dan *xylazine* dengan dosis 10 mg/kgBB. Kemudian tikus diterminasi dengan cara dislokasi servikal dan dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ kelenjar saliva. Setelah tikus dilakukan terminasi dan pengambilan organ kelenjar saliva, tikus akan dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam incenerator untuk dilakukan pemusnahan. Selanjutnya dibuat homogenat dari jaringan kelenjar saliva dan dilanjutkan dengan prosedur pemeriksaan kadar MDA.

3.8.7 Prosedur Pemeriksaan Kadar Malondialdehyde (MDA)

Penentuan kadar MDA dilakukan dengan cara organ kelenjar saliva dihomogenkan dan dilakukan preparasi, dicuci dengan phosphate buffer saline (PBS) dingin 0,01 M pH=7,4 berulang-ulang hingga bersih dari darah. Organ kelenjar saliva yang telah dihomogenkan selanjutnya digunakan untuk analisis MDA.

Sample plasma/homogenate jaringan dipipet ke dalam tabung *eppendorf (microtube)* 1,5 ml sebanyak 50 μ L dan diencerkan dengan air sebanyak 350 μ L. Larutan ditambahkan 200 μ L TCA 20% lalu di vortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan ditambahkan 400 μ L TBA 0,67%. Kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 10 menit dalam suhu 96°C. Larutan disentrifugasi kembali pada 5000 rpm selama 5 menit dan dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm.

3.8.8 Alur Penelitian



Gambar 10. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

3.9.1 Analisis Univariat

Pada penelitian ini metode analisis data menggunakan uji statistik berupa uji homogenitas dan normalitas data. Dalam penelitian ini sampel yang digunakan kurang dari 50, maka uji normalitas data yang

digunakan yaitu uji *Saphiro-Wilk* dan digunakan dalam menentukan apakah data terdistribusi normal atau tidak. Kemudian, dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui apakah data memiliki varian yang sama atau tidak dari dua atau lebih kelompok.

3.9.2 Analisis Bivariat

Apabila data yang ditemukan terdistribusi normal dan homogen Uji parametrik *One-way ANOVA* akan dilakukan. Jika didapatkan nilai $p > 0,05$ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok-kelompok tersebut sehingga hipotesis nol (H_0) akan ditolak dan jika didapatkan nilai $p < 0,05$ mengindikasikan bahwa ada perbedaan signifikan antar kelompok-kelompok tersebut, maka H_0 tetap dipertahankan.

Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji *Posthoc-LSD*. Jika data yang ditemukan tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* akan digunakan. Apabila didapatkan nilai $p > 0,05$ ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan perbedaan signifikan antar kelompok-kelompok tersebut sehingga hipotesis nol (H_0) akan ditolak. Jika nilai $p < 0,05$ berarti adanya perbedaan signifikan antar kelompok-kelompok tersebut, maka H_0 akan tetap dipertahankan. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dilakukan uji lanjut *Mann-Whitney*.

3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik penelitian yang telah diberikan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Persetujuan ini tertuang dalam surat keputusan persetujuan etik nomor 3969/UN26.18/PP.05.02.00/2023.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa dengan mengonsumsi ekstrak bawang hitam (Black Garlic) memberikan pengaruh terhadap peningkatan kadar malondialdehid (MDA) pada tikus putih betina remaja (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang diinduksikan alkohol model *binge drinking*.

5.2 Saran

Saran dari penelitian yang telah dilakukan:

1. Disarankan untuk melakukan uji HPLC terhadap ekstrak bawang hitam untuk mengetahui kadar senyawa antioksidan yang memiliki peran terhadap stres oksidatif akibat paparan alkohol dengan model *binge drinking*.
2. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan menambah variasi marker lain seperti SOD, GSH dan lainnya untuk mengetahui aktivitas antioksidan endogen yang terbentuk dengan konsumsi ekstrak bawang hitam.
3. Disarankan untuk menggunakan ekstrak bawang hitam yang dibuat dari bawang hitam asli dan berasal dari tanah Lampung untuk memperkaya kualitas pertanian dan tumbuhan yang tumbuh di Provinsi Lampung

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F. dan Hidayati, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bawang Hitam (Black Garlic) Dengan Variasi Lama Pemanasan. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(1), pp. 39–50.
- Ahmed, T. and Wang, C. K. 2021. Black garlic and its bioactive compounds on human health diseases: A review. *Molecules*, 26(16): 5028
- Alhadj, M and Babos, M. 2023. *Physiology, Salivation*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Diakses pada 4 September 2023 Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542251/>.
- Amirah Salsabila, N. 2019. Apoptosis Sel Hepatosit Sebagai Akibat Dari Metabolisme Alkohol. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), pp. 151–155.
- Andreis, K. et al. 2022. Cannabinoid CB1 receptors regulate salivation. *Scientific Reports*. 12(1), pp. 1–13.
- Astari, P. 2021. Pengaruh Asupan Black Garlic Terhadap Gambaran Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley yang Diinduksi Minyak Jelantah. [Skripsi]. Universitas Lampung.
- Atmaningsih, D. T. 2020. Pengaruh Pemberian Alkohol Terhadap Sistem Rangka. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), pp. 806–811.
- Ayu, I. and Widiastuti, E. 2022. Stres Oksidatif Yang Diinduksi Oleh Latihan Fisik. *Jurnal Kedokteran Unram*, 2022(4), pp. 1228–1232.
- Bae, S. E. et al. 2014. Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *Lwt*, 55(1), pp. 397–402.
- Beshbishy, A. et al. 2020. Chemical Constituents and Pharmacological Activities of Garlic (*Allium sativum* L.): A Review. *Nutrients*, 12(3), p. 872.
- Cintawan, NM. Wulan, AJ and Himayani, R. 2023. Pengaruh Hepatoprotektif Bawang Hitam (Black Garlic) Terhadap Intoksikasi Alkohol. *Agromedicine*, 10(1), pp. 119–123.
- Dawes, C. 1987. Physiological Factors Affecting Salivary Flow Rate, Oral Sugar Clearance, and the Sensation of Dry Mouth in Man. *Journal of Dental Research*, 66(1967), pp. 648–653.

- Dewi, I. K. Wulan, A.J. dan Ayu, P. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Manggis Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Yang Diberi Paparan Gelombang Elektromagnetik Handphone Periode Kronik. *Medula*, 7(4), pp. 164–70.
- Dimas. 2022. Pengaruh Asupan Black Garlic Terhadap Gambaran Ginjal Tikus Putih (*rattus norvegicus*) Galur *sparague-dawley* yang diinduksi minyak jelantah. [Skripsi]. Universitas Lampung.
- Fagundes, N. C. F. et al. 2016. Binge Drinking of Ethanol during Adolescence Induces Oxidative Damage and Morphological Changes in Salivary Glands of Female Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016.
- Ferreira, R. O. et al. 2021. Ethanol binge drinking during pregnancy and its effects on salivary glands of offspring rats: oxidative stress, morphometric changes and salivary function impairments. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 133.
- Inenaga, K. et al. 2017. Thirst sensation and oral dryness following alcohol intake. *Japanese Dental Science Review*, 53(3), pp. 78–85.
- Kartikasari, D., Ristia Rahman, I. dan Ridha, A. 2022. Uji Fitokimia pada Daun Kesum (*Polygonium minus H*) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 5(1), pp. 35–42.
- KEMENKES. 2018. 10 Dampak Negatif Alkohol bagi Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Diakses pada 31 Agustus 2023 Tersedia di: <https://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/stress/page/27/10-dampak-negatif-alkohol-bagi-kesehatan>.
- Kidd, EAM, and Joyston-Bechal, S. 1991. *Dasar-dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Jakarta: EGC.
- Kimura, S. et al. 2017. Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), pp. 62–70.
- Klemm, D et al. 1998. *Comprehensive Cellulose Chemistry Volume 1: Fundamentals and Analytical Methods*. Wiley-VCH.
- Llena Puy, C. 2006. The rôle of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 11, pp. E449-55.
- Lu, X. et al. 2017. Composition analysis and antioxidant properties of black garlic extract. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(2), pp. 340–349.
- Maciejczyk, M., Zalewska, A. and Ładny, J. R. 2019. Salivary Antioxidant Barrier, Redox Status, and Oxidative Damage to Proteins and Lipids in Healthy Children, Adults, and the Elderly. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

- Maula, L. K. dan Yuniastuti, A. 2017. Analisis Faktor Yang Mempengaruhi Penyalahgunaan dan Adiksi Alkohol. *Public Health Perspective Journal*, 2(2), pp. 168–174.
- Mehta, Ashish and Guidot, D. 2017. Alcohol and the Lung. *Alcohol Research: Current Reviews*, 38(2), pp. 244–254.
- Miradj, S. 2020. Dampak Minuman Keras Terhadap Perilaku Generasi Muda (Gamsungi Kecamatan Ibu Selatan Kabupaten Halmahera). *Al-Wardah: Jurnal Kajian Perempuan, Gender dan Agama*, 14(1).
- Molina, P. E. . N. S. 2018. Binge Drinking's Effect on the Body. *Alcohol Research: Current Reviews*, 39(1), pp. 99--109.
- Moore, KL and Dalley, A. 2013. *Anatomi berorientasi klinis edisi 5*. Jakarta: PT. Gelora Aksara.
- Mulianto, N. 2020. Malondialdehid sebagai Penanda Stres Oksidatif pada Berbagai Penyakit Kulit. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(1), pp. 39–44.
- Mulyati, V. et al. 2021. Hubungan Konsumsi Alkohol Dengan Perilaku Seks Pranikah Pada Remaja Di Kelurahan Karot. *Jwk*, 6(2), pp. 2548–4702.
- Navazesh, M. et al. 2000. The prevalence of xerostomia and salivary gland hypofunction in a cohort of HIV-positive and at-risk women. *Journal of Dental Research*, 79(7), pp. 1502–1507.
- Netter, F. H. 2014. *Atlas of Human Anatomy 25th Edition*. Jakarta: EGC.
- National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism 2020 Understanding Binge Drinking. pp. 7–9. Diakses pada 4 September 2023 Tersedia di: <https://www.samhsa.gov/data/sites/default/files/reports/rpt29394/NSDUHDetailedTabs2019/NSDUHDetTabsSect2pe2019.htm#tab2->.
- Niebergall-Roth, E and Harder, H and Singer, M. 1998. A Review: Acute and Chronic Effects of Ethanol and Alcoholic Beverages on the Pancreatic Exocrine Secretion In Vivo and In Vitro. *Alcohol Clinical & Experimental Research*, 22(7), pp. 1570–1583.
- Paulsen, F and Waschke, J. 2013. *Sobotta Atlas Anatomi Manusia Edisi 23: Kepala Leher, dan Neuroanatomi*. Jakarta: EGC.
- Peinado, B. R. R. et al. 2023. Physical Exercise Mitigates Salivary Gland and Saliva Damages in Rats Exposed to Binge-like Ethanol Pattern. *Antioxidants*, 12(5), pp. 1–15.
- Richard L Drake; Wayne Vogl; Adam W M Mitchell 2014. *Gray's Anatomy: Anatomy of the Human Body*. Elsevier Ltd.

- Rori, P. L. P. 2015. Pengaruh Penggunaan Minuman Keras Pada Kehidupan Remaja Di Desa Kali Kecamatan Pineleng Kabupaten Minahasa. *Holistik*, 16(16), pp. 1–12.
- Rozak, M. F. 2023. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Hitam (*Allium Sativum*) Terhadap Gambaran Histopatologi pada Area CA2-3 Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Alkohol Model Binge Drinking. [Skripsi]. Universitas Lampung.
- Rumaseuw, E. S., Iskandar, Y. and Halimah, E. 2022. Acute Toxicity Test of Black Garlic Ethanol Extract. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 2(1), pp. 1–9.
- Safe, S. et al. 2021. Flavonoids: structure–function and mechanisms of action and opportunities for drug development. *Toxicological Research*. 37(2), pp. 147–162.
- Sherwood, L. 2018. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem: Edisi 9*. Jakarta: EGC.
- Skibola, C. and S. M. 2000. Potential Health Impact of Excessive Flavonoid Intake. *Science*, 29(00), pp. 375–383.
- Takahashi, A. et al. 2015. Evaluation of the effects of quercetin on damaged salivary secretion. *PLoS ONE*, 10(1), pp. 1–15.
- Walsh, LJ. and Ford, P. 2016. *Lifestyle impacts on oral health: Preservation and Restoration of Tooth Structure*. Edited by S. Graham, J. Mount, and Wyatt, R. Hume, and Hien, Ngo, and Mark. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons.
- Waszkiewicz, N. et al. 2009. Catabolism of salivary glycoconjugates in acute ethanol intoxication. *Medical Science Monitor*, 15(8), pp. 413–417.
- Waszkiewicz, N. et al. 2011. Wpływ alkoholu na jamę ustną , ślinianki oraz ślinę [The Impact of Alcohol on the Oral Cavity, Salivary Glands, and Saliva.]. *Polski Merkuriusz Lekarski*, XXX(175), pp. 69–74.
- Waszkiewicz, N. and Szulc, A. 2010. Uszkodzenie odporności w przebiegu ostrych i przewlekłych zatruc alkoholowych [Immunity defects in acute and chronic alcohol intoxication]. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 29(172), pp. 269–273.
- WHO. 2018. *Global Status Report on Alcohol and Health 2018*. Geneva: World Health Organization.
- Widiastuti MS, and Gea Asalnyaman, and Adji Suryo, and S. C. 2010. *Situs colli*. Semarang: Bagian Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Wulandari, E. 2016. Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan terhadap Kadar MDA dan SOD Tikus yang Dipapar Asap Rokok. [Skripsi]. Universitas Negeri Semarang.

Zuhri, M. Al and Dona, F. 2021. Penggunaan Alkohol untuk Kepentingan Medis Tinjauan Istihsan. *Journal of Law, Society, and Islamic Civilization*, 9(1), p. 40.