

**PENGARUH EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
BETINA GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALKOHOL
METODE *BINGE DRINKING***

(Skripsi)

Oleh:

SITI SHAFIRA ELFREDA

2018011126



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**PENGARUH EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) TERHADAP
KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
BETINA GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALKOHOL
METODE *BINGE DRINKING***

Oleh

SITI SHAFIRA ELFREDA

Skripsi

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

Pada

**Program Studi Pendidikan Dokter
Jurusan Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

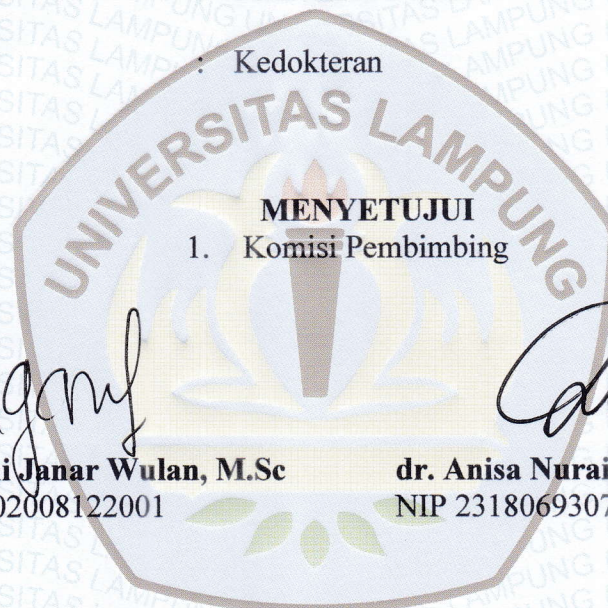
Judul Skripsi : **PENGARUH EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALKOHOL METODE BINGE DRINKING**

Nama Mahasiswa : Siti Shafira Elfreda

No. Pokok Mahasiswa : 2018011126

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran



MENYETUJUI
1. Komisi Pembimbing

dr. Anggraeni Janar Wulan, M.Sc
NIP 198201302008122001

dr. Anisa Nuraisa Jausal, M.K.M
NIP 231806930731201

2. Dekan Fakultas Kedokteran



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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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

Sekretaris

: **dr. Anisa Nuraisa Jausal, M.K.M**

Penguji

Bukan Pembimbing

: **Dr. dr. Indri Windarti, Sp. PA**

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc

NIP 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 18 Januari 2024

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALKOHOL METODE *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, 11 Januari 2024

Penulis,



Siti Shafira Elfreda
2018011126

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK BAWANG HITAM (*Allium sativum L.*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HEPAR TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALKOHOL METODE *BINGE DRINKING*

Oleh

SITI SHAFIRA ELFREDA

Latar belakang: Konsumsi *binge drinking* alkohol dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif sehingga menyebabkan nekrosis sel hepar. Bawang hitam dikenal sebagai sumber antioksidan lebih tinggi dibandingkan bawang putih. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui efek antioksidan ekstrak bawang hitam terhadap sel hepar dengan mengukur kadar MDA sebagai penanda stres oksidatif.

Metode: Penelitian eksperimental *post-test only control group design* menggunakan sampel 32 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu K1 hanya diberi aquadest 3gr/kgBB, K2 diinduksi alkohol 3gr/kgBB, P1 diinduksi alkohol 3gr/kgBB dan bawang hitam dengan dosis 400 mg/kgBB, P2 diinduksi alkohol 3gr/kgBB dan bawang hitam dengan dosis 800 mg/kgBB selama 3 hari.

Hasil: Rerata kadar MDA pada tiap kelompok perlakuan adalah K1:0,51±0,21 nmol/gr, K2: 1,61±0,52 nmol/gr, P1: 1,30±0,28 nmol/gr, P2:0,79±0,52 nmol/gr, dengan hasil uji normalitas Saphiro-Wilk $p>0,05$, uji homogenitas Levene $p:0,078$, uji parametrik One Way ANOVA didapatkan perbedaan kelompok $p:0,001$ ($p<0,05$). Uji *post hoc* LSD $p:0,042$ terdapat di kelompok perlakuan (P2)

Kesimpulan: Ekstrak bawang hitam memiliki kemampuan menurunkan kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diinduksi alkohol metode *binge drinking*.

Kata kunci: antioksidan, bawang hitam, *binge drinking*, malondialdehid

ABSTRACT

THE EFFECT OF BLACK GARLIC (*Allium sativum L.*) EXTRACT ON LIVER MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVELS OF FEMALE WISTAR RATS (*Rattus norvegicus*) AFTER ALCOHOL BINGE DRINKING

By

SITI SHAFIRA ELFREDA

Background: Binge drinking alcohol can cause an increase in oxidative stress, causing liver cell necrosis. Black garlic is known as a source of antioxidants higher than garlic. This research was conducted with the aim of determining the antioxidant effect of black garlic extract on liver cells by measuring MDA levels as a marker of oxidative stress.

Methods: post-test only control group design experimental research using 32 white rats (*Rattus norvegicus*) of the Wistar strain as samples, which were divided into 4 groups, K1 was only given 3gr/kgW distilled water, K2 was induced with 3gr/kgW alcohol, P1 was induced with 3gr/kgW alcohol plus black garlic extract at a dose of 400 mg/kgW, P2 induced by 3gr/kgW alcohol plus black garlic extract at a dose of 800 mg/kgW for 3 days.

Results: MDA rate levels in each group are, K1:0,51±0,21 nmol/gr, K2:1,61±0,52 nmol/gr, P1:1.30±0,28 nmol/gr, and P2:0.79±0,52 nmol/gr, with Shapiro-Wilk normality test results $p > 0.05$, Levene homogeneity test $p: 0,78$, One Way ANOVA parametric test result $p: 0,001$. LSD post hoc test $p: 0.042$ in the group (P2).

Conclusion: Black garlic extract can reduce hepatic MDA levels of female Wistar rats (*Rattus norvegicus*) after induced by alcohol binge drinking.

Keyword: antioxidants, binge drinking, black garlic, malondyaldehyde

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta, tanggal 24 Agustus 2002, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Sabin Ressi Mossar dan Armayati Novarita. Penulis menyelesaikan Sekolah Dasar (SD) di SD Islam Terpadu Al-Hikmah Tangerang Selatan pada tahun 2014, Madrasah Tsanawiyah (MTs) Negeri 3 Jakarta pada tahun 2017, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 70 Jakarta pada tahun 2020. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Program Studi Pendidikan Dokter.

Selama menjadi pelajar, penulis menjadi aktif pada ekstrakurikuler Ju-jitsu dan berhasil memenangkan medali emas pada Kejuaraan Ju-jitsu Terbuka Daerah DKI Jakarta, medali perunggu pada Matsuru Goifex Cup Judo&Ju-jitsu Championship, dan menjadi *Welcome Act* pada Asian Games 2018. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti kegiatan organisasi Lampung University Medical Research (LUNAR) FK Unila sebagai member divisi Social and Partnership dan organisasi *Center for Indonesian Medical Students Activities (CIMSA)* sebagai member *Standing Committee on Sexual Reproductive Health and Rights Including HIV/AIDS (SCORA)* tahun 2020-2021, Project Supporting Division Team tahun 2021-2022, dan Community Development Coordinator tahun 2022-2023. Selama menjabat penulis mendapatkan penghargaan Best Project Team dan menjalankan community development *We Against Stunting for A Better Health (WHISTLE)*.

SANWACANA

Puji dan syukur senantiasa peneliti panjatkan kepada Allah SWT. atas segala limpahan nikmat, rahmat, serta belas kasih-Nya. Salawat serta salam senantiasa tercurah kepada junjungan kepada Rasulullah SAW. yang telah menuntun kita semua dari zaman jahiliyah menuju zaman yang terang benderang sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Pengaruh Ekstrak Bawang Hitam Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) Betina Galur Wistar yang Diinduksi Alkohol Metode *Binge Drinking*”

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

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Dr. dr. Indri Windarti, Sp.PA., selaku Ketua Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Unila dan pembahas atas kesediaan serta kesabaran dalam meluangkan waktu untuk mengarahkan, membimbing, memberi kritik dan saran yang sangat bermanfaat selama proses penyusunan skripsi ini.
4. Dr. dr. Khairunnisa Berawi, M.Kes, AIFO, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Unila.
5. dr. Anggraeni Janar Wulan, M.Sc., selaku pembimbing satu atas kesediaan serta kesabaran dalam meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberi kritik dan saran yang sangat bermanfaat selama proses penyusunan skripsi ini.

6. dr. Anisa Nuraisa Jausal, M.K.M, selaku pembimbing dua atas kesediaan serta kesabaran dalam meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, memberi kritik dan saran yang sangat bermanfaat selama proses penyusunan skripsi ini.
7. dr. Ari Irawan Romulya, MHKes, Sp. OG, selaku pembimbing akademik yang senantiasa memberikan bimbingan dan motivasi selama menempuh proses Pendidikan di FK Unila.
8. Bu Nuriyah, Bu Yani, dan Mbak Mar yang telah mengarahkan, membimbing, dan membantu saya dalam proses pelaksanaan penelitian ini.
9. Mas Nur selaku penjaga *Animal House* Fakultas Kedokteran Unila, yang telah membantu saya dalam proses pelaksanaan penelitian ini.
10. Seluruh dosen dan staf Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu yang bermanfaat serta waktu, tenaga, dan bantuan yang diberikan selama proses pendidikan di Fakultas Kedokteran dan proses penyelesaian skripsi ini.
11. Kedua orangtua saya, Bapak Sabin dan Ibu Arma atas perannya sebagai sponsor utama, baik moril maupun materil sehingga penulis dapat bertahan selama proses pendidikan ini.
12. Kedua Uwak saya, Wak Ajo dan Wak Tanti yang telah memberi saya dukungan sandang, pangan, dan papan selama menempuh proses pendidikan ini.
13. Kedua Kakek dan Nenek saya dari keluarga Bapak dan Ibu, Alm. Opa & Alm. Oma, Alm. Sidi & Siti yang berkat doa-doanya menghantarkan saya selangkah lebih dekat dalam menempuh cita-cita yang selama ini dibangun.
14. Kakak & adik kandung saya, Ces Aza dan Jho yang telah mengorbankan satu dua hal dan memanjatkan doa demi keberlangsungan pendidikan saya.
15. Teman satu bimbingan skripsi saya, Alief dan Madina yang telah bekerja sama dan membantu dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi saya dari awal sampai akhir.

16. Teman-teman 17A, Alief, Ganesha, Dorothy, Syiva, & Sheilla yang telah membantu saya dalam proses pembelajaran di masa pre-klinik.
17. Teman-teman tanpa nama grup, Fityah & Diva yang telah senantiasa kebersamai saya dalam kegiatan akademik di pre-klinik.
18. *Officials* CIMSA FK Unila 2020/2021 “OASIS” atas bantuan dan dukungan kepada saya sehingga saya mendapat banyak kenangan dan pengalaman selama proses pendidikan, kepengurusan organisasi, dan penyusunan skripsi ini.
19. Seluruh teman-teman T20MBOSIT atas segala pengalaman, pembelajaran, dan bantuan yang telah diberikan kepada saya.
20. Seluruh pihak yang telah membantu selama proses pendidikan dan penyusunan skripsi yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima kasih atas doa, dukungan, saran, dan kritik yang diberikan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca maupun penulis.

Bandar Lampung, 11 Januari 2024



Siti Shafira Elfreda

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	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat bagi peneliti	6
1.4.2 Manfaat bagi masyarakat.....	6
1.4.3 Manfaat bagi institusi	6
1.4.4 Manfaat bagi penelitian lain	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Hepar	7
2.1.1 Anatomi Hepar	7
2.1.2 Fisiologi Hepar	9
2.2 Alkohol.....	11
2.2.1 Pengertian Alkohol.....	11
2.2.2 Metabolisme Alkohol di Hepar	13
2.2.3 <i>Binge Drinking</i> Alkohol	16
2.3 Malondialdehid.....	18
2.4 Bawang Hitam.....	20
2.5 Ekstrak Bawang Hitam.....	21
2.6 Kerangka Teori.....	23
2.7 Kerangka Konsep	23
2.8 Hipotesis.....	24
BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1 Desain Penelitian.....	25
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.3 Subjek Penelitian.....	26
3.3.1 Populasi	26
3.3.2 Sampel	26
3.3.3 Kelompok Perlakuan	27
3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	28
3.4.1 Kriteria Inklusi.....	28
3.4.2 Kriteria Eksklusi	28
3.5 Identifikasi Variabel	28
3.5.1 Variabel Independen.....	28
3.5.2 Variabel Dependen	28
3.6 Definisi Operasional.....	29
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	30
3.7.1 Alat Penelitian	30
3.7.2 Bahan Penelitian	30
3.8 Prosedur Penelitian.....	30
3.8.1 Aklimatisasi Tikus.....	30

3.8.2	Pemilihan dan Penentuan Dosis Alkohol	31
3.8.3	Pemilihan Bawang Hitam.....	32
3.8.4	Uji Analisis Fitokimia Bawang Hitam	33
3.8.5	Prosedur Intervensi	34
3.8.6	Prosedur Terminasi Hewan Coba	35
3.8.7	Prosedur Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA).....	35
3.8.8	Alur Penelitian.....	35
3.9	Analisis Data	36
3.10	Etik Penelitian	37
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1	Hasil Penelitian.....	38
4.1.1	Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Bawang Hitam.....	38
4.1.2	Perhitungan Hasil Kadar MDA Hepar.....	39
4.1.3	Analisis Bivariat Perhitungan Kadar MDA.....	40
4.2	Pembahasan.....	42
4.2.1	Alkohol Meningkatkan Kadar MDA Hepar	42
4.2.2	Efek Hepatoprotektif Dosis Ekstrak Bawang Hitam Terhadap Kadar MDA.....	43
4.3	Keterbatasan Penelitian	47
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1	Kesimpulan.....	48
5.2	Saran.....	48
	DAFTAR PUSTAKA.....	49
	LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi Hepar.....	8
2. Metabolisme Alkohol.....	15
3. Efek <i>binge drinking</i> alkohol pada hepar	17
4. Produk Peroksidasi Lipid	19
5. Bawang Hitam	21
6. Kerangka Teori Pengaruh Ekstrak Bawang Hitam (<i>Allium Sativum L.</i>) Terhadap Kadar MDA Hepar.....	23
7. Kerangka Konsep Pengaruh Ekstrak Bawang Hitam (<i>Allium Sativum L.</i>) Terhadap Kadar MDA Hepar.....	23
8. Ekstrak Bawang Hitam Herbalen.....	32
9. Alur Penelitian	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Definisi Operasional	29
2. Prosedur Analisis Fitokimia Bawang Hitam.....	34
3. Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Bawang Hitam	38
4. Analisis Univariat Kadar MDA Hepar.....	39
5. Uji Normalitas & Uji Homogenitas Data.....	40
6. Uji Parametrik One-Way ANOVA dan Post-hoc LSD.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Ethical Clearance</i>	55
2. Surat Izin Penelitian	56
3. Surat Keterangan Hewan	57
4. Surat Keterangan Selesai Penelitian	58
5. Dokumentasi Penelitian	59
6. Hasil Data Penelitian.....	62
7. Analisis Data Penelitian	64

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Konsumsi alkohol berlebihan menyumbang 7,1% dari beban penyakit global pada pria dan 2,2% pada wanita. Alkohol merupakan faktor risiko paling penting terhadap kematian dini dan kecacatan pada kelompok usia 15 hingga 49 tahun. Kelompok masyarakat yang kurang beruntung dan rentan memiliki angka kematian dan rawat inap yang lebih tinggi akibat konsumsi alkohol (WHO, 2023).

Menurut Badan Pusat Statistik (BPS), konsumsi alkohol di Indonesia pada usia ≥ 15 tahun terus meningkat antara tahun 2016 hingga 2018. Tahun 2016 sebesar 0,21 liter per penduduk, tahun 2017 sebesar 0,27 liter per penduduk, tahun 2018 sebesar 0,28 liter per kapita dan mengalami penurunan di tahun 2019 sebesar 0,23 liter per kapita (Badan Pusat Statistik, 2023).

Sidjabat (2022) mengemukakan bahwa remaja dengan usia 15-19 tahun yang memiliki kebiasaan mengonsumsi alkohol <4 kali dalam seminggu mengalami peningkatan frekuensi konsumsi alkohol sebanyak 4 kali/lebih dalam seminggu dengan jumlah 10 gelas atau lebih per minggu pasca pandemi COVID-19 tahun 2020. Remaja memiliki sensitivitas yang lebih rendah terhadap efek memabukkan dari alkohol dibandingkan orang dewasa sehingga cenderung meningkatkan jumlah dosis alkohol yang dapat ditoleransi dalam sekali minum. Hal ini terjadi karena reseptor GABA pada remaja belum sepenuhnya berkembang sehingga butuh dosis alkohol lebih banyak agar dampak intoksikasi alkohol akut muncul. Oleh karena itu, remaja lebih rentan terhadap perilaku *binge drinking* alkohol dibandingkan orang dewasa (Spear, 2014; Wu & Sun, 2015).

Peningkatan konsumsi alkohol terlalu banyak dalam waktu singkat disebut *binge drinking* dan berakibat pada keracunan akut. *National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* (NIAA) (2023) mendefinisikan *binge drinking* sebagai pola konsumsi alkohol dengan jumlah berlebihan sehingga menyebabkan konsentrasi alkohol dalam darah menjadi 0,08% atau 0,08 gram alkohol per desiliter atau lebih. Hal ini biasanya terjadi jika seorang wanita meminum empat minuman atau lebih, atau seorang laki-laki meminum lima minuman atau lebih dalam waktu sekitar dua jam.

Hepar merupakan tempat utama metabolisme alkohol. Alkohol akan dioksidasi oleh alkohol dehidrogenase (ADH) menjadi asetaldehid, selanjutnya aldehid dehidrogenase (ALDH) akan mengkonversi asetaldehid menjadi asetat. Konsumsi alkohol berlebihan dengan metode *binge drinking* akan meningkatkan enzim lain selain alkohol dehidrogenase (ALDH), yaitu aktivitas sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) untuk memetabolisme alkohol menjadi asetaldehid dan akan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS). ROS akan berikatan dengan lipid di membran sel yang disebut sebagai proses peroksidasi lipid. Proses ini akan menghasilkan malondialdehid (MDA) bersifat reaktif pada protein dan molekul lain sehingga peroksidasi lipid dapat mengubah komposisi, susunan, struktur, dan dinamika membran lipid. Malondialdehid (MDA) akan memengaruhi permeabilitas membran sel sehingga terjadi nekrosis sel hepar (Hyun *et al.*, 2021).

Malondialdehid (MDA) banyak ditemukan di jaringan maupun dalam darah. Akan tetapi, kadar malondialdehid (MDA) darah tidak sesuai digunakan sebagai penanda perifer untuk penyalahgunaan etanol karena biomarker tersebut dalam darah tidak spesifik. *Binge drinking* alkohol tidak menyebabkan peroksidasi lipid yang signifikan dalam darah meskipun terdapat tingkat malondialdehid (MDA) yang tinggi di jaringan hepar yang berkaitan dengan steatosis (Fernandes *et al.*, 2018).

Fernandes *et al.* (2018) meneliti kenaikan kadar MDA sebesar 20% pada hepar yang diinduksi *binge drinking* alkohol dengan dosis 3g/kgBB selama tiga hari. Selain itu, kadar MDA hepar juga terbukti meningkat dari penginduksi zat hepatotoksik lain, seperti parasetamol. Berdasarkan penelitian Devifatimah (2019), dosis parasetamol 500 mg/kgBB selama 21 hari terbukti meningkatkan kadar MDA sebesar 0,2 ng/100mg dan menurut penelitian Anggraini *et al.* (2021) dosis parasetamol 105 mg/kgBB selama 14 hari juga terbukti meningkatkan kadar MDA sebesar 2 nm/moL. Oleh karena itu, malondialdehid (MDA) dapat dijadikan kadar tolak ukur penanda kerusakan seluler baik akut maupun kronis.

Kerusakan seluler hepar akut akibat konsumsi alkohol dengan metode *binge drinking* dapat meningkatkan permeabilitas mukosa gastrointestinal sehingga mengakibatkan adanya translokasi lipopolisakarida (endotoksin) yang berasal dari bakteri usus ke hepar melalui vena porta hepatica. Hal ini terbukti dari kadar lipopolisakarida dalam darah meningkat setelah konsumsi alkohol bahkan dalam satu kali periode *binge drinking* alkohol. Peningkatan kadar lipopolisakarida pada vena porta hepatica akan memicu respon *innate immunity* yang meningkatkan kadar sitokin pro inflamasi (TNF α , IL-6, dan kemokin MCP-1) penyebab kerusakan hepatoseluler (Rumbolt & Minuk, 2021).

Penyakit hepar yang disebabkan alkohol atau lebih dikenal sebagai *alcoholic liver disease* (ALD) dikelompokkan menjadi perlemakan hepar atau steatosis, hepatitis alkoholik, sirosis, dan karsinoma hepatoseluler (HCC). ALD adalah spektrum penyakit yang dimulai dengan steatosis dan berkembang menjadi fibrosis dan dapat menjadi sirosis pada sekitar 20% hingga 25% pasien yang minum alkohol dalam jumlah banyak selama bertahun-tahun. Penggunaan alkohol kronis sekitar 20 hingga 50 g/hari untuk wanita atau 60 hingga 80 g/hari untuk pria meningkatkan risiko sirosis alkoholik (Mellinger, 2019).

Steatosis merupakan respons awal hepar akibat tingginya kadar alkohol dalam tubuh dan ada pada 90% peminum berat dengan steatosis yang terletak pada zona 3 hepatosit (perivenular), tetapi pada kerusakan hepar lebih lanjut juga dapat menyebar ke zona 2 dan zona 1. Namun hanya sekitar 30% peminum alkohol dengan metode *binge drinking* yang rutin berkembang menjadi penyakit ALD yang lebih parah, yaitu fibrosis dan sirosis. Pada pasien dengan riwayat ALD ditambah konsumsi alkohol dalam jumlah besar memiliki resiko yang tinggi terjadi hepatitis alkoholik. Hepatitis alkoholik beresiko menyebabkan komplikasi parah, yaitu gagal hepar dan hipertensi porta dengan mortalitas tinggi dalam jangka waktu pendek (Dunn & Shah, 2016).

Hal ini dapat terjadi karena metabolisme alkohol juga akan meningkatkan produksi NADH dengan mengurangi NAD dalam tubuh. Pergeseran keseimbangan metabolik menuju produksi NADH menyebabkan pembentukan gliserol fosfat yang berikatan dengan asam lemak menjadi trigliserida dan akan terakumulasi di dalam hepar. Ketika oksidasi lipid (lipolisis) terhenti akibat konsumsi alkohol, lemak menumpuk di hepar dan menyebabkan steatosis. Konsumsi alkohol secara terus-menerus akan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Interleukin dengan bantuan neutrofil akan memfagosit hepatosit, dan terjadi pembengkakan hepatosit yang dikenal sebagai "hepatitis alkoholik" dan dapat menyebabkan kerusakan permanen, yaitu disebut sirosis hepar (Patel & Mueller, 2023).

Antioksidan merupakan senyawa yang berguna dalam mengatasi kerusakan oksidatif dalam tubuh akibat radikal bebas. Kerusakan oksidatif pada hepar dapat dicegah dengan mengonsumsi makanan kaya antioksidan. Olahan bawang putih menjadi bawang hitam di China telah lama diteliti melalui proses pemanasan pada suhu tinggi (60-90°C) dan sudah terbukti memiliki kenaikan aktivitas antioksidan yang kuat secara *in vivo* dan *in vitro* sehingga mempunyai potensi mencegah penyakit metabolik dan hepatotoksitas yang disebabkan alkohol. Pada saat proses pemanasan, bawang putih berubah

menjadi warna hitam dan memiliki tekstur seperti jeli dan lengket serta akan meningkatkan konsentrasi dari senyawa aktif melalui reaksi Maillard. Senyawa aktif tersebut adalah flavonoid dan polifenol. Selain itu, reaksi Maillard juga menghasilkan pembentukan senyawa baru, yaitu S-alilcistein (SAC). SAC terbentuk dari hidrolisis enzimatis g-glutamyl-S-allyl sistein (GSAC) oleh g-glutamyl transpeptidase (g-GTP, EC 2.3.2.2) yang dipengaruhi oleh suhu. Oleh karena itu, selama proses produksi bawang hitam, suhu dianggap sebagai salah satu faktor terpenting yang memengaruhi kualitas bawang hitam (Ryu & Kang, 2017;Devifatimah,2019).

SAC merupakan salah satu senyawa asam amino utama yang mengandung sulfur dan mengandung antioksidan, antikanker, dan antihepatotoksik. Hal ini terbukti dari penelitian Chen *et al.* (2019), yaitu konsumsi SAC 100 µm pada tikus sebelum diinduksi etanol mampu mengurangi tingkat apoptosis sel hepar secara signifikan. Penetapan dosis bawang hitam yang akan digunakan pada penelitian ini berdasarkan pada penelitian sebelumnya. Astari (2020) meneliti terkait dosis bawang hitam 800 mg/kgBB menghasilkan skor kerusakan histopatologis hepar akibat stres oksidatif karena induksi minyak jelantah yang paling rendah di antara 2 dosis lain, yaitu 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Berdasarkan data tersebut, penelitian terkait efek bawang hitam ini dilakukan dengan dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB untuk melihat efek hepatoprotektor bawang hitam terhadap hepar yang akan diinduksi alkohol melalui pengukuran MDA sebagai marker stres oksidatif hepar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

Bagaimana pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui bagaimana pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat bagi peneliti

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini bagi penulis dapat menambah wawasan penulis mengenai pengaruh ekstrak bawang hitam terhadap kadar MDA hepar tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

1.4.2 Manfaat bagi masyarakat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini bagi masyarakat adalah dapat menambah pengetahuan terkait manfaat bawang hitam sebagai variasi pengobatan yang sudah teruji klinis.

1.4.3 Manfaat bagi institusi

Manfaat yang diharapkan untuk institusi dari penelitian ini adalah dapat dijadikan referensi bahan pembelajaran dengan topik yang berkaitan serta kekhususan pada ilmu di bidang biomedik.

1.4.4 Manfaat bagi penelitian lain

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi ilmiah sebagai acuan penelitian serupa atau lebih lanjut terkait efek hepatoprotektor ekstrak bawang hitam terhadap kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

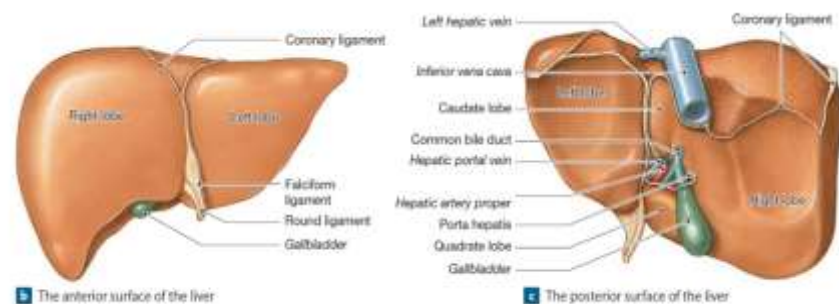
2.1 Hepar

2.1.1 Anatomi Hepar

Hepar adalah kelenjar terbesar pada tubuh dan merupakan organ terbesar kedua setelah kulit. Berat hepar sekitar 1.500 gram dan merupakan 2.5% dari berat total orang dewasa. Hepar terletak pada kuadran kanan atas abdomen yang dilindungi cavum toraks dan diafragma. Ukuran normal hepar berada pada costa ke-7 sampai 11 pada sebelah kanan dan melewati linea mediana menuju *papilla mammae* sinistra. Pada regio abdomen, hepar menempati sebagian besar hipokondrium dekstra, epigastrium superior, dan memanjang ke hipokondrium sinistra. Hepar tidak dapat dipalpasi pada orang dewasa yang mengalami obesitas, tetapi pada orang dewasa yang kurus, tepi bawah hepar dapat dirasakan satu jari di bawah tulang rusuk. Hepar mudah teraba ketika pasien menarik napas dalam-dalam dan diafragma berkontraksi sehingga dapat menekan hepar (Costanzo, 2018).

Hepar dibungkus oleh kapsula fibrosa dan dilapisi oleh peritoneum viseral. Hepar dibagi menjadi dua lobus utama, lobus dekstra dengan ukuran lebih besar dan lobus sinistra yang berukuran lebih kecil. Pada bagian anterior, ligamentum falciform membagi lobus hepar dekstra dan sinistra yang tertera pada Gambar 1. Ligamentum falciform memanjang dari bawah diafragma di antara kedua lobus utama hepar ke bagian atas hepar yang membantu mempertahankan bentuk hepar pada kavitas abdomen (Tortora & Derrickson, 2014).

Ligamentum ini menebal pada bagian posterior dan membentuk ligamentum teres yang merupakan bagian dari jalur vena umbilical pada fetus. Pada bagian posterior hepar, fissura sagitalis dekstra dan sinistra membagi lobus dekstra hepar menjadi lobus kaudat dan lobus kuadrat yang berada di antara lobus sinistra dan kantung empedu. Pembuluh darah eferen dan struktur lain mencapai hepar melalui jaringan ikat yang berada di omentum minus dan menyatu di region yang disebut porta hepatica. Pada porta hepatica, terdapat beberapa vaskuler yaitu, vena porta hepatica, arteri hepatica propria, serta duktus hepatikus komunis. Aliran darah vena hepar dimulai dari vena mesentrica superior dan vena splenicus menuju vena porta hepatica untuk mencapai hepatosit. Setelah itu, drainase aliran vena dari lobulus hepar melewati sinusoid, vena kolektivus, vena hepatica dekstra dan sinistra dan akan dialirkan keluar dari hepar ke vena kava inferior. Vaskularisasi darah arteri hepar dimulai dari arteri hepatica komunis kemudian menjadi arteri hepatica propria dan bercabang menjadi arteri hepatica dekstra dan sinistra. Inervasi pada hepar berasal dari pleksus hepatikus yang mendapat persarafan simpatetis dari pleksus celiac dan persarafan parasimpatetis dari trunkus vagal anterior dan posterior (Martini, 2012).



Sumber: Tortora & Derrickson, 2014

Gambar 1. Anatomi Hepar

2.1.2 Fisiologi Hepar

Mayoritas suplai darah di hepar merupakan darah vena dari traktus gastrointestinal (lien, gaster, kolon, dan pankreas) yang memasuki hepar melalui vena porta sehingga hepar berfungsi sebagai tempat absorpsi nutrien dan detoksifikasi obat dan racun. Selama puasa, hepar memproduksi sebagian besar glukosa melalui glikogenolisis dan glukoneogenesis, menyimpan glikogen, mendetoksifikasi zat beracun, dan menghasilkan empedu (Costanzo, 2018).

Menurut Guyton & Hall (2014) dan Tortora & Derrickson (2014), pembagian fungsi metabolisme hepar dibagi menjadi:

1. Metabolisme protein

Hepar memainkan peran penting dalam metabolisme protein karena mendeaminasi asam amino sehingga asam amino dapat digunakan untuk memproduksi ATP atau dikonversi menjadi karbohidrat atau lemak. Hasil dari proses ini adalah amonia toksik yang dikonversi menjadi urea yang akan dieksresi urin. Hepatosit hepar juga mensintesis protein plasma seperti, α dan β globulin, albumin, prothrombin, dan fibrinogen.

2. Metabolisme lipid

Sebagian besar sel dalam tubuh memetabolisme lipid, tetapi metabolisme lipid primer terjadi di hepar. Fungsi metabolisme lipid hepar meliputi oksidasi asam lemak, sintesis kolesterol, mengubah kolesterol menjadi garam empedu, sintesis fosfolipid dan sebagian besar lipoprotein. Sel menggunakan fosfolipid dan sebagian besar lipoprotein untuk membentuk membran, struktur intraseluler, dan berbagai bahan kimia yang penting untuk fungsi sel. Hampir seluruh sintesis lipid tubuh dari karbohidrat dan protein juga terjadi di hepar. Setelah lipid disintesis di hepar, lipid diangkut sebagai lipoprotein ke jaringan adiposa untuk disimpan.

3. Metabolisme karbohidrat

Dalam proses metabolisme karbohidrat, hepar memiliki peran sangat krusial untuk menjaga kadar glukosa dalam darah tetap dalam rentang normal. Hepar dapat mengubah glukosa menjadi glikogen dan trigliserida untuk disimpan dalam keadaan glukosa darah tinggi atau kondisi setelah makan yang disebut sebagai glikogenesis. Pada saat kadar gula darah rendah dan tidak ada *intake* glukosa tambahan, hepar dapat memecah glikogen menjadi glukosa atau disebut sebagai glikogenolisis. Ketika kadar glukosa tetap tidak mencukupi, hepar juga dapat mengubah asam amino dan asam laktat menjadi glukosa atau glukoneogenesis yang membantu menjaga kadar glukosa dalam darah dalam kisaran yang relatif normal.

4. Penyimpanan vitamin

Vitamin yang disimpan dalam jumlah besar di hepar adalah vitamin A yang dapat disimpan selama 10 bulan, vitamin D yang dapat disimpan selama 3 hingga 4 bulan untuk mencegah defisiensi, dan vitamin B12 yang dapat disimpan lebih lama, yaitu dari satu tahun hingga beberapa tahun.

5. Detoksifikasi substansi toksin

Hepar melindungi tubuh dari zat-zat yang berpotensi beracun yang diserap dari traktus gastrointestinal. Zat tersebut masuk melalui sirkulasi vena porta dan dimodifikasi oleh enzim hepar sehingga zat tersebut dapat larut dalam air dan akan diekskresikan melalui empedu atau urin. Reaksi fase 1, yaitu katalase substansi oleh enzim *cytochrome P-450* dan diikuti reaksi fase 2, yaitu konjugasi substansi oleh glukoronide, sulfat, asam amino, atau glutathione.

6. Eksresi bilirubin

Bilirubin yang berasal dari heme sel darah merah akan diabsorpsi hepar dari darah dan disekresi lewat empedu yang akan

dimetabolisme oleh instestinal oleh bakteri dan tereliminasi melalui feses.

7. Sintesis garam empedu

Garam empedu dibutuhkan usus halus untuk emulsifikasi dan absorpsi lipid.

2.2 Alkohol

2.2.1 Pengertian Alkohol

Menurut (Manela & Hidayat, 2018) alkohol merupakan senyawa organik yang memiliki ciri khas, yaitu memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada salah satu gugus karbon dalam rumus kimia molekulnya. Sumber alkohol yang paling umum beredar termasuk etanol, metanol, isopropanol, dan dietilen glikol. Alkohol merupakan produk olahan yang diperoleh dengan memfermentasi bahan baku yang banyak mengandung pati dan gula. Bahan-bahan yang biasa digunakan dalam produksi alkohol antara lain biji-bijian (gandum, beras, dan jagung), umbi-umbian (singkong dan kentang), buah-buahan (apel, anggur, ceri dan pir), tanaman palem, gula bit, gula alkohol, molase. Alkohol adalah zat aditif atau zat yang dapat menyebabkan ketergantungan. Dalam bentuk murni, etanol berbentuk bening, tidak berwarna, mudah menguap, dengan titik didih 78°C dan berbau khas.

Alkohol diklasifikasikan menjadi beberapa golongan berdasarkan posisi gugus -OH dalam rantai atom karbon. Berdasarkan golongan tersebut, alkohol diklasifikasikan menjadi alkohol primer, alkohol sekunder, dan alkohol tersier. Alkohol memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen antara molekulnya dan dengan air. Hal ini disebabkan oleh titik didih alkohol dan kelarutan yang tinggi dalam air. Titik didih alkohol meningkat seiring dengan bertambahnya

panjang gugus alkil, jumlah cabang, dan jumlah gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon (Nahak *et al.*, 2021).

Berdasarkan Peraturan Menteri Perindustrian No.71/M-Ind/PER/7/2012 tentang Pengendalian dan Pengawasan Industri Minuman Beralkohol, batas maksimum etanol yang diizinkan adalah 55% (Kemenperin, 2014). Sehubungan dengan kadar batas maksimum tersebut, Badan Pengawasan Obat & Makanan (BPOM) mengelompokkan minuman beralkohol dalam beberapa golongan, yaitu:

- a. Golongan A adalah minuman dengan kadar etanol (C_2H_5OH) sebanyak 5%
- b. Golongan B adalah minuman dengan kadar etanol (C_2H_5OH) lebih dari 5% sampai dengan 20%
- c. Golongan C merupakan minuman dengan kadar etanol (C_2H_5OH) lebih dari 20% sampai dengan 55% (BPOM RI, 2016).

Jenis golongan minuman alkohol tersebut banyak dijumpai di masyarakat, berbagai jenis minuman yang dijual di pasaran terbagi menjadi:

- a. Tuak adalah alkohol dengan kandungan alkohol tertinggi yaitu sekitar 50-60%. Apabila konsumsi tuak sekitar 2-3 gelas atau lebih dalam sehari dapat mempengaruhi tekanan darah.
- b. Bir adalah alkohol terbuat dari proses fermentasi yang menghasilkan alkohol dengan kadar alkohol mencapai 4-8%. Pembuatan bir menggunakan campuran cairan yang dikenal dengan *wort* dan ditambah dengan campuran ragi dan biji-bijian. Fermentasi cairan ini dihentikan sebelum dilakukan batas kadar alkohol.
- c. *Wine* adalah olahan alkohol dengan kandungan 12-15% yang kebanyakan bersumber dari anggur, tetapi juga dapat dihasilkan

oleh beragam jenis buah-buahan lain, seperti apricot, persik, atau plum.

- d. Arak adalah minuman dengan kadar alkohol 20-55% yang dihasilkan melalui fermentasi bahan pangan, seperti tebu, sorgum, beras, nira atau buah-buahan. Hasil fermentasi tersebut kemudian disuling untuk mendapatkan cairan alkoholnya.
- e. *Brandy* adalah minuman alkohol dengan kadar 30-60% yang terbuat dari fermentasi sulingan sari buah dan ditambahkan karamel kemudian disimpan dalam wadah kayu.
- f. *Whisky* adalah minuman alkohol dengan kadar 40-50% yang dibuat dari fermentasi biji-bijian, yaitu gandum dan jagung dan disuling untuk mendapatkan hasil akhirnya.
- g. *Rum* adalah minuman dengan kadar alkohol 40% yang merupakan hasil dari fermentasi air tebu atau sirup gula yang disuling dengan rentang waktu minimal tiga tahun dan ditambahkan pewarna karamel (Lestari, 2016).

2.2.2 Metabolisme Alkohol di Hepar

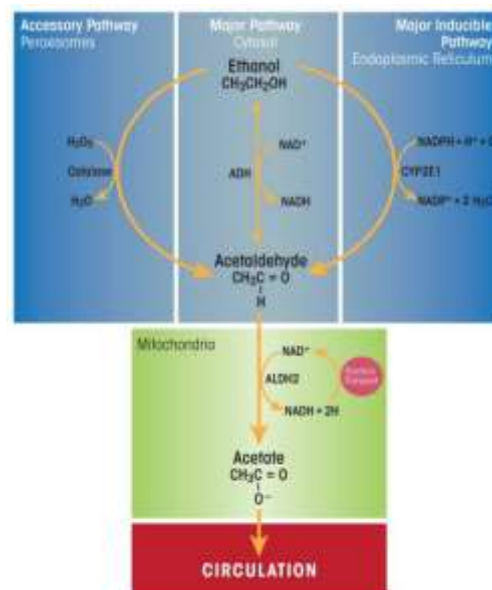
Metabolisme utama alkohol berada di sel parenkim hepar, yaitu hepatosit yang membentuk sekitar 70 persen massa hepar. Sel-sel ini memiliki kadar tertinggi enzim pengoksidasi alkohol utama, alkohol dehidrogenase (ADH) di dalam sitosol, dan sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) di dalam retikulum endoplasma. Hepatosit juga memiliki kadar katalase yang sangat tinggi. Katalase biasanya melakukan detoksifikasi hidrogen peroksida H_2O_2 menjadi air dan oksigen. Namun, ketika ada etanol, katalase mempunyai peran tambahan dalam metabolisme etanol dengan menggunakan H_2O_2 untuk mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid. Oksidasi etanol oleh katalase merupakan jalur yang relatif kecil di hepar, tetapi memiliki fungsi pengoksidasi etanol yang lebih besar di otak (Donohue *et al.*, 2017).

ADH adalah enzim paling efisien yang memetabolisme etanol. Oksidasi etanol yang dikatalisis ADH menggunakan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD⁺) sebagai kofaktor, menghasilkan NADH dan asetaldehid. Senyawa terakhir ini sangat reaktif dan toksik karena dapat berikatan kovalen dengan protein, lipid, dan asam nukleat untuk membentuk produk tambahan asetaldehid. Asetaldehid dapat mengganggu struktur dan fungsi makromolekul ini. Salah satu cara hepatosit meminimalkan toksisitas asetaldehid adalah dengan mengoksidasi asetaldehid secara cepat menjadi asetat menggunakan enzim aldehyd dehidrogenase 2 (ALDH2) di dalam mitokondria (Donohue *et al.*, 2017).

Reaksi ALDH2 adalah reaksi oksidasi-reduksi yang menghasilkan NADH dan asetat, yang akan berdifusi ke dalam sirkulasi untuk digunakan dalam jalur metabolisme lainnya. Alur metabolisme alkohol ini secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 2. Peningkatan pembentukan NADH melalui reaksi yang dikatalisis ADH dan ALDH2 menurunkan rasio normal NAD⁺/NADH intrahepatosit, yang disebut potensial redoks seluler. Perubahan ini menyebabkan pergeseran metabolisme yang penting dari metabolisme oksidatif ke sintesis reduktif, yaitu peningkatan pembentukan asam lemak (Donohue *et al.*, 2017).

Ketika konsumsi alkohol berlebih, sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) adalah enzim hepar utama yang mengkatalisis oksidasi etanol menjadi asetaldehid karena CYP2E1 memiliki kapasitas 10 kali lipat lebih tinggi untuk mengikat etanol. Peningkatan kadar sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) memiliki beberapa efek besar pada peminum alkohol karena CYP2E1 akan lebih banyak mengoksidasi etanol sehingga toleransi metabolik peminum alkohol untuk mencapai tingkat intoksikasi alkohol menjadi lebih tinggi. Selain itu, kadar CYP2E1 yang lebih tinggi akan memetabolisme alkohol lebih cepat sehingga

sel-sel hepar akan lebih rentan terhadap bahaya metabolik karena enzim CYP2E1 tidak hanya menghasilkan lebih banyak asetaldehida, tetapi enzim ini juga menghasilkan berbagai *reactive oxygen species* (ROS) lainnya dalam jumlah yang lebih besar, termasuk radikal hidroksietil (bentuk radikal bebas etanol), anion superoksida (O_2^-) dan radikal hidroksil (OH). Pembentukan molekul reaktif yang terus menerus pada peminum alkohol pada akhirnya menciptakan kondisi yang dikenal sebagai stres oksidatif. Dalam kondisi ini, laju pembentukan ROS melebihi kapasitas hepar untuk menetralsirnya dengan antioksidan alami. Stres oksidatif semakin memburuk ketika ROS yang dihasilkan mengalami reaksi sekunder dengan protein dan lipid tak jenuh. Reaksi terakhir menghasilkan pembentukan peroksida lipid (Dong *et al.*, 2014).



Sumber: Donohue *et al.*, 2017

Gambar 2. Metabolisme Alkohol

Peroksidasi lipid adalah proses di mana radikal bebas berinteraksi dengan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) membran sel dan lipoprotein plasma. Seiring dengan peningkatan produksi radikal bebas akan terjadi peningkatan peroksidasi lipid. Proses ini terjadi

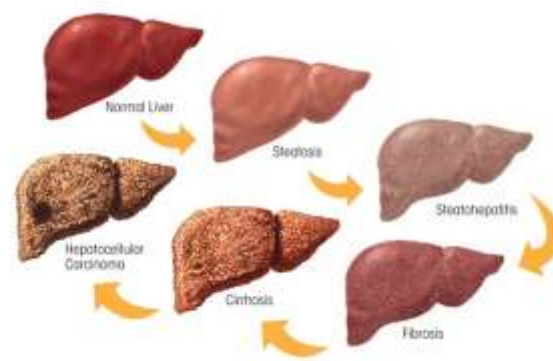
terus-menerus dan mengakibatkan terbentuknya serangkaian oksidasi lipid. Peningkatan produksi peroksidasi lipid dapat dinilai dengan beberapa cara, termasuk pengukuran produk peroksidasi primer atau sekunder. Produk utama peroksidasi lipid meliputi hidroperoksida lipid (LOOH) dan produk sekundernya meliputi malondialdehid (MDA), propanal, heksanal, dan 4-hidroksinonenal (4-HNE) (Ayala *et al.*, 2014).

2.2.3 *Binge Drinking* Alkohol

Menurut WHO (2018) dan NIAA (2023), *Binge drinking* merupakan konsumsi alkohol dalam jumlah berlebih di satu periode waktu. Jumlah alkohol yang dimaksud adalah ≥ 60 gram etanol murni dan membuat kadar konsentrasi alkohol dalam darah 0,08% atau lebih. Pada orang dewasa, pola ini setara dengan konsumsi 5 gelas atau lebih pada pria atau empat gelas atau lebih pada wanita dalam kurun waktu 2 jam. *Binge drinking* alkohol jelas berbahaya bagi peminum dan masyarakat karena akan meningkatkan kadar alkohol dalam darah maksimal 60 menit setelah konsumsi alkohol dan kemudian menurun secara bertahap.

Rimmer, (2022) mengatakan bahwa orang-orang melakukan *binge drinking* alkohol karena beberapa alasan umum, seperti pengaruh lingkungan sosial atau tekanan sosial, perasaan gugup atau canggung dalam lingkungan sosial, melupakan sejenak perasaan tidak bahagia, mencoba menjauhkan diri dari stres, mood yang buruk, dan ansietas. Mereka menjadikan alkohol sebagai strategi *coping mechanism* yang tidak sehat untuk mencoba mengatasi emosi negatif yang dirasakan meski sebenarnya alkohol hanya menjauhkan diri dari emosi negatif sesaat bukan menyelesaikan masalah yang menjadi penyebab perasaan negatif tersebut.

Efek toksik alkohol disebabkan hasil dari metabolisme alkohol menjadi asetaldehid, pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dan penurunan jumlah ko-faktor seperti NAD⁺, dan penurunan fungsi homeostasis tubuh. Kerusakan ini terjadi karena asetaldehid dan ROS adalah molekul yang sangat reaktif sehingga merusak DNA, protein, dan lipid. Perubahan metabolisme lipid menyebabkan hipoksia jaringan dan kerusakan fungsi mitokondria. Fungsi mitokondria yang rusak akan mengganggu fungsi transport seluler, kanal ion, produksi protein, stres oksidatif, dan mengaktifasi respon imun adaptif yang berujung pada nekrosis sel. Penyakit hepar yang disebabkan alkohol atau lebih dikenal sebagai *alcoholic liver disease* (ALD) Gambaran hepar akibat penyakit-penyakit tersebut tertera pada Gambar 3.



Sumber: Donohue *et al.*, (2017)

Gambar 3. Efek *binge drinking* alkohol pada hepar

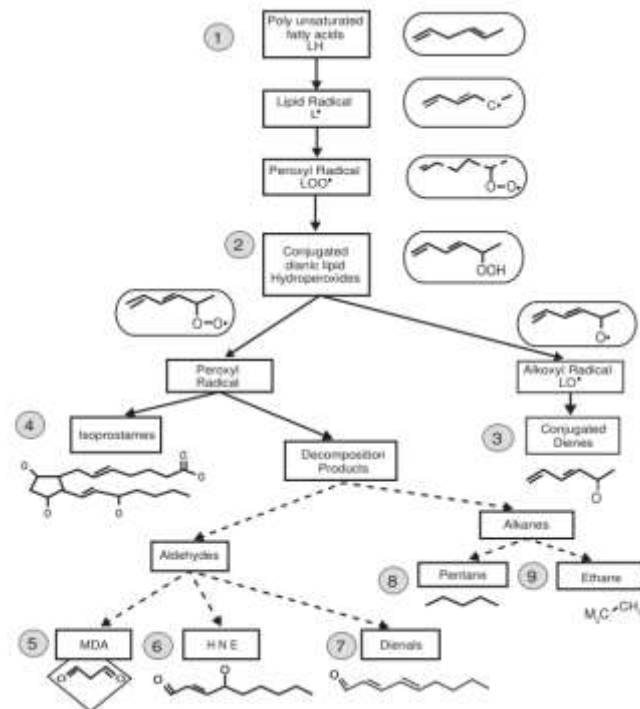
Faktor-faktor lain yang mempengaruhi kerentanan terhadap toksisitas alkohol meliputi jenis kelamin, pola minum alkohol, pola makan, gaya hidup, genetik, kebiasaan merokok, paparan bahan kimia, serta penyakit penyerta. Dampak gender bervariasi berdasarkan hasil penyakit, di mana perempuan lebih rentan terhadap ALD, tetapi sebagian besar kematian akibat alkohol terjadi pada laki-laki. Faktor pola makan (misalnya konsumsi makanan tinggi lemak dan pola *binge drinking* alkohol rutin), dan gaya hidup (misalnya merokok dan

penyalahgunaan obat-obatan) pada laki-laki yang lebih tinggi juga mempengaruhi morbiditas dan mortalitas yang berhubungan dengan penyalahgunaan alkohol (Donohue *et al.*, 2017).

2.3 Malondialdehid

Analisis langsung terhadap radikal bebas sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal tersebut sangat tidak stabil dan cenderung mengambil elektron dari senyawa lain agar lebih stabil. Reaksi ini terjadi sangat cepat sehingga sangat sulit diukur. Oleh karena itu, diperlukan produk sekunder dari proses peroksidasi lipid sebagai marker stres oksidatif. Malondialdehid (MDA) adalah produk peroksidasi lipid yang termasuk aldehid reaktif, yaitu spesies elektrofilik reaktif yang menyebabkan stres toksik dalam sel dan membentuk produk protein kovalen yang disebut *advanced lipoxidation end products* (ALE). Pembentukan MDA dapat dilihat pada Gambar 4. MDA dapat bereaksi dengan deoksiganosin dan deoksiadenosin dalam DNA membentuk zat MIG yang bersifat mutagenik (Jové *et al.*, 2020).

Uji MDA merupakan uji radikal bebas tidak langsung dan jumlah radikal bebas yang terbentuk cukup mudah ditentukan. Selain itu, MDA juga dipilih sebagai marker stres oksidatif karena MDA adalah produk oksidasi lipid yang lebih stabil secara kimiawi dibandingkan HNE sehingga MDA cenderung bertahan lebih lama dalam tubuh sebelum mengalami degradasi yang dapat menyebabkan perubahan hasil analisis (Ayala *et al.*, 2014).



Sumber: Mulianto, 2020

Gambar 4. Produk Peroksidasi Lipid

Setelah terbentuk, MDA dapat dimetabolisme secara enzimatik atau bereaksi dengan protein/DNA dalam sel dan jaringan untuk membentuk produk sampingan yang menyebabkan kerusakan biomolekuler. Jalur biokimia metabolisme MDA melibatkan oksidasi oleh aldehid dehidrogenase mitokondria, diikuti dengan dekarboksilasi menjadi asetaldehida dan kemudian menjadi asetat, yang selanjutnya terdegradasi menjadi CO₂ dan H₂O.

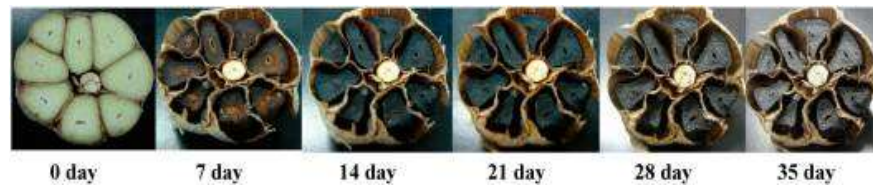
Menurut Mulianto, (2020) malondialdehid (MDA) adalah pilihan yang tepat untuk menjadi biomarker stres oksidatif karena MDA merupakan produk spesifik dari peroksidasi lipid, kadar MDA meningkat seiring dengan peningkatan stres oksidatif, MDA dapat diukur secara akurat dan memiliki sifat yang stabil, dan tidak dipengaruhi waktu. Prinsip pengukuran MDA didasari oleh reaksi 1 molekul MDA dengan 2 molekul asam tiobarbiturat (TBA). Uji TBA didasarkan pada reaktivitas TBA terhadap MDA membentuk kompleks senyawa MDA-TBA dengan hasil tambahan merah muda fluoresen kromogen. Kuantitas hasilnya dapat dibaca dengan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Aguilar Diaz De Leon & Borges, 2020).

2.4 Bawang Hitam

Bawang hitam yang juga dikenal sebagai *black garlic* merupakan produk yang dihasilkan dari bawang putih melalui proses pemanasan melalui reaksi Maillard pada suhu tinggi (60–90 °C) dan kelembapan (70–90%). Perubahan dari bawang putih menjadi bawang hitam seiring dengan proses pemanasan ini dapat dilihat dalam Gambar 5. Bawang putih dalam kondisi segar memiliki γ -Glutamyl-S-allylcysteine yang dapat mengalami hidrolisis dan oksidasi untuk membentuk alliin. Alliin kemudian diubah menjadi allicin oleh enzim allinase setelah melalui proses pemotongan, kunyahan, penghancuran, atau pemanasan. Proses pengolahan bawang putih menjadi bawang hitam melalui pemanasan mengakibatkan perubahan karakteristik, termasuk perubahan warna dari bawang putih menjadi hitam, perubahan rasa menjadi manis, tekstur yang lebih kenyal dan lembut, serta hilangnya aroma tajam yang biasanya terdapat pada bawang putih. Hilangnya aroma bawang putih terjadi karena adanya perubahan pada senyawa allicin, yang kemudian terurai menjadi senyawa-senyawa antioksidan seperti S-allylcystein (SAC), polifenol, dan flavonoid melalui proses pemanasan (Ahmed & Wang, 2021).

Pemanasan dalam proses pembuatan bawang hitam juga dapat mengubah warna bawang putih menjadi hitam. Perubahan warna dari bawang putih menjadi bawang hitam disebabkan oleh proses pencokelatan non-enzimatis yang terjadi, yang dikenal sebagai reaksi Maillard. Reaksi Maillard ini terdiri dari tiga tahap. Pada tahap pertama, terjadi reaksi kondensasi antara gula reduksi dan amina saat warna bawang masih putih. Pada tahap kedua, terjadi dehidrasi, fragmentasi gula, dan degradasi asam amino yang menghasilkan warna coklat muda pada bawang. Tahap ketiga melibatkan reaksi kondensasi antara aldehid dan amina serta pembentukan senyawa Hydroxymethyl 2-furfuraldehid, yang merupakan penyebab warna coklat pada makanan tersebut (Choi *et al.*, 2014).



Sumber: Choi *et al.*, 2014

Gambar 5. Bawang Hitam

Pada bawang hitam, terjadi penurunan tingkat asam amino, sementara tingkat polifenol dan flavonoid meningkat. Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan dalam struktur tanaman. Flavonoid termasuk dalam kategori senyawa fenolik dan memiliki gugus -OH. Flavonoid memiliki berbagai cara untuk bertindak sebagai antioksidan, seperti memberikan atom hidrogen dari gugus -OH, membentuk kompleks dengan logam, membentuk glukosida dan aglikon. Flavonoid juga memiliki kapasitas untuk mengikat radikal bebas, termasuk radikal alkohoksil, radikal peroksil, dan anion superoksida. Selain itu, mereka dapat menghambat enzim oksidatif atau pembentukan radikal bebas di tingkat seluler, mengembalikan α -tokoferol dari radikal α -tokoferoksil, dan mengurangi oksidasi nitrat. Ini adalah beberapa fungsi antiinflamasi dan antioksidan yang dimiliki oleh flavonoid (Kamilatussaniah & Yuniastuti, 2015).

2.5 Ekstrak Bawang Hitam

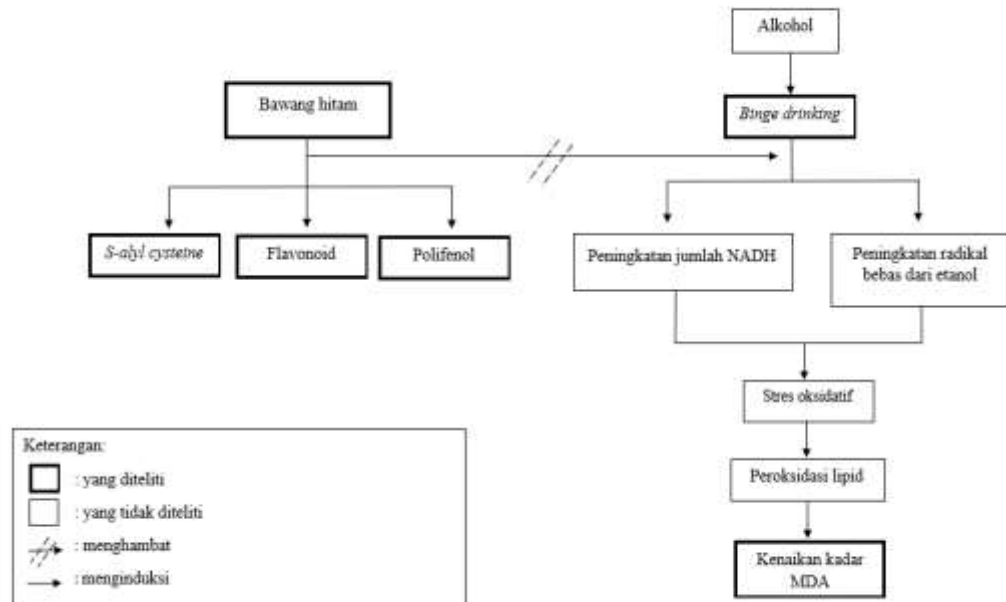
Ekstraksi merupakan suatu cara untuk memisahkan campuran dari beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Proses ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan suhu tinggi atau pemanasan perlu memperhatikan waktu dan juga suhu yang digunakan agar tidak banyak kandungan senyawa aktif, seperti antioksidan yang hilang atau mengalami kerusakan selama proses. Ekstrak bawang hitam didapatkan melalui metode ekstraksi yang paling sederhana yaitu dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 hari. Cara pembuatan ekstrak bawang hitam dilakukan dengan memasukkan bawang hitam ke dalam botol maserasi, kemudian ditambahkan etanol 96% ke dalam botol maserasi sampai larutan menutupi bawang hitam, diamkan selama 5 hari. Setelah itu, maserat tersebut

akan diuapkan etanol menggunakan destilasi vakum (*rotatory evaporator*) hingga pelarut berkurang, kemudian ekstrak dipanaskan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental (Indraswari *et al.*, 2022).

Proses ekstraksi bawang hitam dilakukan dengan menggunakan variasi suhu dan waktu ekstraksi. Kondisi proses ekstraksi yang baik dipilih berdasarkan pada karakteristik ekstrak bawang hitam yang memiliki nilai aktivitas antioksidan tinggi serta sifat organoleptik (warna, rasa, dan aroma) yang baik. Proses ekstraksi pada pembuatan minuman fungsional bawang hitam dilakukan dengan cara yang sederhana untuk mempermudah penerapannya pada skala produksi yang lebih besar. Produk pangan fungsional diartikan sebagai suatu produk yang dapat memberikan efek fungsional seperti halnya mampu meningkatkan kesehatan tubuh seseorang. Efek fungsional suatu bahan pangan erat kaitannya dengan senyawa fitokimia yang terdapat pada bahan pangan tersebut. Adanya pencampuran beberapa bahan pada pembuatan minuman fungsional bawang hitam ini diharapkan mampu menghasilkan sinergisme yang berdampak pada peningkatan aktivitas antioksidan pada produk akhir yang dihasilkan (Indraswari *et al.*, 2022).

2.6 Kerangka Teori

Kerangka teori penelitian ini tertera pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Kerangka Teori Pengaruh Ekstrak Bawang Hitam (*Allium Sativum L.*) Terhadap Kadar MDA Hepar

2.7 Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ini terdiri dari variabel independen (ekstrak bawang hitam) dan variabel dependen (kadar malondialdehid hepar) yang tertera pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Kerangka Konsep Pengaruh Ekstrak Bawang Hitam (*Allium Sativum L.*) Terhadap Kadar MDA Hepar

2.8 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil berdasarkan penelitian ini adalah:

H0 = Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak bawang hitam (*Allium sativum L.*) terhadap kadar malondialdehid (MDA) hepar tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

H1 = Terdapat pengaruh pemberian ekstrak bawang hitam (*Allium sativum L.*) terhadap kadar malondialdehid (MDA) hepar tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan metode *randomized controlled design* dan pola penelitian *post-test control only group design*. Penelitian dilakukan dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kontrol menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2023 dan bertempat di:

1. *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sebagai tempat aklimatisasi dan tempat pemeliharaan tikus sebelum mendapat perlakuan.
2. Balai Veteriner Lampung Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan sebagai tempat dilakukannya terminasi dan pembedahan untuk mengambil organ hepar tikus.
3. Laboratorium Biokimia, Biomolekuler dan Fisiologi sebagai tempat terminasi tikus, pembedahan untuk mengambil organ hepar, dan pengukuran kadar Malondialdehid (MDA).
4. Laboratorium Mikrobiologi sebagai tempat penyimpanan organ hepar.
5. Laboratorium Farmasi sebagai tempat perhitungan kadar Malondialdehid (MDA).

3.3 Subjek Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar berusia 5-9 minggu, dengan berat badan 140-170 gram yang diperoleh dari *Animal Vet Laboratory* Institut Pertanian Bogor (IPB)

3.3.2 Sampel

Total sampel yang diambil dihitung dengan rumus Frederer:

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

Keterangan:

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok sehingga;

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

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

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

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

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah sampel yang digunakan adalah 6 ekor tikus putih betina. Kemudian dilakukan penambahan 30% dari jumlah anggota tiap kelompok untuk mengatasi *drop out*, yaitu:

$$N = \frac{n}{1 - F}$$

$$N = \frac{6}{1 - 30\%}$$

$$N = 8$$

Keterangan:

N = besar sampel hasil penambahan

n = besar sampel awal

F = perkiraan proporsi *drop out* 30%

Berdasarkan perhitungan rumus di atas, sampel yang digunakan pada penelitian ini tiap kelompoknya adalah 8 ekor tikus. Pada penelitian terdapat 4 kelompok sehingga jumlah total yang digunakan adalah 32 ekor tikus putih. Teknik pemilihan sampel yang digunakan menggunakan teknik *simple random sampling* untuk mengetahui tingkat kadar malondialdehid (MDA) hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang diinduksi alkohol dan untuk mengetahui pengaruh bawang hitam terhadap stress oksidatif akibat konsumsi alkohol dengan pengukuran malondialdehid (MDA).

3.3.3 Kelompok Perlakuan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 32 ekor, dikelompokkan ke dalam 4 kelompok yaitu:

1. Kelompok kontrol 1(K1), tikus putih betina yang hanya diberikan aquadest dan tidak diberikan alkohol ataupun ekstrak bawang hitam selama tiga hari.
2. Kelompok kontrol 2(K2), tikus putih betina diberikan alkohol konsentrasi 20% (m/v) dan dosis 3 g/kgBB/hari dengan metode *binge drinking* selama tiga hari.
3. Kelompok perlakuan 1 (P1), tikus putih betina diberikan alkohol pemberian alkohol konsentrasi 20% (m/v) dengan dosis 3 g/kgBB/hari menggunakan metode *binge drinking* selama tiga hari, kemudian diberikan ekstrak bawang hitam dengan dosis 400 mg/kgBB per oral selama tiga hari.
4. Kelompok perlakuan 2 (P2), tikus tikus putih betina diberikan alkohol pemberian alkohol konsentrasi 20% (m/v) dengan dosis

3 g/kgBB/hari menggunakan metode *binge drinking* selama tiga hari, kemudian diberikan ekstrak bawang hitam dengan dosis 800 mg/kgBB per oral selama tiga hari.

3.4 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar
- b. Usia 5-9 minggu
- c. Berat badan 140-170 gram
- d. Tikus memiliki tubuh sehat yang ditandai dengan rambut tidak rontok, botak, ataupun kusam dan tidak memiliki kelainan anatomis sehingga dapat bergerak aktif

3.4.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus dengan penurunan berat badan >10% setelah masa aklimatisasi
- b. Tikus yang terdapat kelainan anatomis
- c. Tikus yang mati selama pemberian perlakuan

3.5 Identifikasi Variabel

3.5.1 Variabel Independen

Variabel independen pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak bawang hitam.

3.5.2 Variabel Dependen

Variabel dependen pada penelitian ini adalah kadar Malondialdehid (MDA) hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking*.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Hasil ukur	Skala
Bawang hitam	Bawang hitam adalah bahan makanan hasil fermentasi yang diproses dari bawang putih dalam suhu 30–90 °C dan kelembaban 50-90% selama 10-80 hari (Ahmed & Wang, 2021)	Pemberian ekstrak bawang hitam ke tikus putih (<i>Rattus novergicus</i>) betina galur Wistar dengan dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB <ul style="list-style-type: none"> • Dosis 400 mg/kgBB=1 • Dosis 800 mg/kgBB=2 	Ordinal
Malondialdehid (MDA)	Malondialdehid adalah produk peroksidasi lipid berjenis aldehyd reaktif yang menyebabkan stres toksik pada sel sehingga dijadikan <i>marker</i> tingginya kadar stres oksidatif (Muliando, 2020)	Kadar MDA hepar diukur dengan spektrofotometri dan dinyatakan dengan satuan nmol/g.	Numerik
Induksi alkohol <i>binge drinking</i>	Pola konsumsi alkohol dengan jumlah berlebihan sehingga menyebabkan konsentrasi alkohol dalam darah menjadi 0,08% atau 0,08gram alkohol per desiliter atau lebih (NIAA, 2023). Penelitian ini dilakukan selama 3 hari secara berturut-turut.	Alkohol diberikan dengan konsentrasi 20% m/v dan dosis 3g/KgBB/Hari per oral.	Ordinal

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang diperlukan:

- a. Neraca analitik untuk menimbang tikus
- b. Tempat makan dan minum tikus
- c. Sduit oral 1cc dan 3cc
- d. Kandang tikus
- e. Minor set untuk membedah tikus
- f. Kipas dan alkohol
- g. Sonde lambung tikus
- h. Gelas ukur
- i. Alat pemeriksaan kadar malondialdehid (MDA): Mikrotube 2,5 ml dan 5 ml; Mikropipet; *Whitetips, bluetips, yellowtips*; Vorteks; Spektrofotometer; Kuvets; *Sentrifuge*; Penangas Air; *Cooler Box*
- j. Spektrofotometer

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang diperlukan:

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar
- b. Air/Aquadest
- c. Etanol 70%
- d. Ekstrak bawang hitam
- e. Pakan dan minum tikus
- f. *Ketamine hydrochloride* dan *xylazine*

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Aklimatisasi Tikus

Adaptasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar sebanyak 32 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok dilakukan penimbangan dan

penandaan untuk menentukan perlakuan per kelompok. Tikus ditempatkan secara acak ke dalam 4 kelompok dan ditempatkan di kandang dengan penutup terbuat dari kawat dan diberikan sekam di dasar kandang. Pemberian makan diberikan pakan standar berupa pellet di dalam wadah makan tikus dan minum melalui *ad libitum*. Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.8.2 Pemilihan dan Penentuan Dosis Alkohol

a. Pemilihan Alkohol

Alkohol yang digunakan adalah etanol murni dengan konsentrasi 70% dalam 100 ml. Konsentrasi 70% digunakan karena alkohol jenis ini mudah dicari dan banyak dijual apotek atau toko kesehatan lainnya. Kemudian larutan alkohol akan dilarutkan dengan air sehingga konsentrasinya menjadi 20% dengan menambahkan air sebanyak 250 ml sehingga jumlah larutan secara keseluruhannya 350 ml.

b. Penentuan Dosis Alkohol

Dosis alkohol yang diberikan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina menggunakan metode *binge drinking* oleh Majhrowicz tahun 1975 karena telah terbukti memiliki efek merusak akibat konsumsi alkohol berlebih di jangka waktu yang pendek. Tikus putih akan diinduksikan alkohol dengan konsentrasi 20% (m/v) diberikan selama 3 hari berturut-turut dengan dosis 3g/KgBB/hari.

Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah larutan alkohol yang akan digunakan pada penelitian ini menggunakan rumus konsentrasi massa per volume dari konsentrasi etanol yang diperlukan:

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

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

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

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

$$V \text{ (ml)} = 15 \times 01 = 1,5 \text{ ml}$$

Sehingga dosis alkohol yang diperlukan sebanyak 1,5ml.

3.8.3 Pemilihan Bawang Hitam

a. Pemilihan Bawang Hitam

Bawang hitam yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak bawang hitam cair dengan merk Herbalen dari Serambi Botani. Bawang hitam serambi botani memiliki sediaan 33 ml dengan kandungan bawang hitam sebanyak 50% dan air 50% (Gambar 8)



Sumber: Astari, 2020

Gambar 8. Ekstrak Bawang Hitam Herbalen

b. Penentuan Dosis Bawang Hitam

Dosis bawang hitam yang digunakan untuk penelitian ini adalah 400 mg/KgBB dan 800 mg/kgBB berdasarkan penelitian Astari (2021) karena sudah terbukti memiliki efek hepatoprotektor pada histologi hepar tikus yang telah diinduksi minyak jelantah. Untuk menghitung larutan ekstrak bawang hitam, diperlukan rumus konsentrasi massa per volume dari bawang hitam cair yang digunakan, yaitu:

Dosis kelompok perlakuan 1:

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

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

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

$$V \text{ (ml)} = 1,6 \times 0,1 = 0,08 \text{ ml}$$

Dosis kelompok perlakuan 2:

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

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

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

$$V \text{ (ml)} = 2 \times 0,1 = 0,16 \text{ ml}$$

3.8.4 Uji Analisis Fitokimia Bawang Hitam

Ekstrak bawang hitam dengan merk Herbalen dilakukan uji analisis fitokimia pada Laboratorium Kimia Organik, FMIPA, Universitas Lampung yang prosedurnya tercantum dalam Tabel 2:

Tabel 2. Prosedur Analisis Fitokimia Bawang Hitam

No.	Jenis Uji	Perlakuan	Hasil Positif
1.	Saponin	0,5 ml sampel + 0,5 ml aquades kemudian dikocok selama 30 detik	Adanya buih stabil
2.	Steroid	0,5 ml sampel + 0,5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H ₂ SO ₄	Sampel hijau kebiruan
3.	Terpenoid	0,5 ml sampel + 0,5 ml asam asetat glacial + 0,5 ml H ₂ SO ₄	Sampel merah/kuning
4.	Tanin	1 ml sampel + 3 tetes larutan FeCl ₃ 10%	Larutan hitam kebiruan
5.	Alkaloid	0,5 ml sampel + 5 tetes kloroform + 5 tetes pereaksi Mayer	Larutan putih kecoklatan
6.	Flavonoid	0,5 ml sampel + 0,5 g serbuk Mg + 0,5 ml HCl pekat (tetes demi tetes)	Larutan merah/kuning/coklat + busa
7.	Fenolik	1 ml sampel + 3 tetes larutan FeCl ₃ 2%	Larutan hitam kebiruan

3.8.5 Prosedur Intervensi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 32 ekor, dikelompokkan dalam 4 kelompok yaitu:

1. Kelompok Kontrol (K1), hanya diberikan aquadest dengan dosis 3g/kgBB selama 3 hari.
2. Kelompok Kontrol (K2), diberikan alkohol konsentrasi 20% (m/v) dengan dosis 3 g/KgBB/hari.
3. Kelompok Perlakuan 1 (P1), diberikan ekstrak bawang hitam dengan dosis 400 mg/kgBB kemudian diberikan alkohol konsentrasi 20% (m/v) dengan dosis 3 g/kgBB/hari.
4. Kelompok Perlakuan 2 (P2), diberikan ekstrak bawang hitam dengan dosis 800 mg/kgBB kemudian diberikan alkohol konsentrasi 20% (m/v) dengan dosis 3 g/kgBB/hari.

3.8.6 Prosedur Terminasi Hewan Coba

Setelah tikus diberi perlakuan selama 3 hari, seluruh tikus dari 4 kelompok diterminasi pada hari ke-lima. Tikus awalnya akan dianastesi menggunakan *ketamine hydrochloride* 90 mg/kgBB dan *xylazine* dengan dosis 10 mg/kgBB. Selanjutnya tikus diterminasi dengan metode dislokasi servikal dibedah untuk pengambilan hepar di bagian dekstra tikus dan dibuat homogenat untuk pemeriksaan kadar malondialdehid.

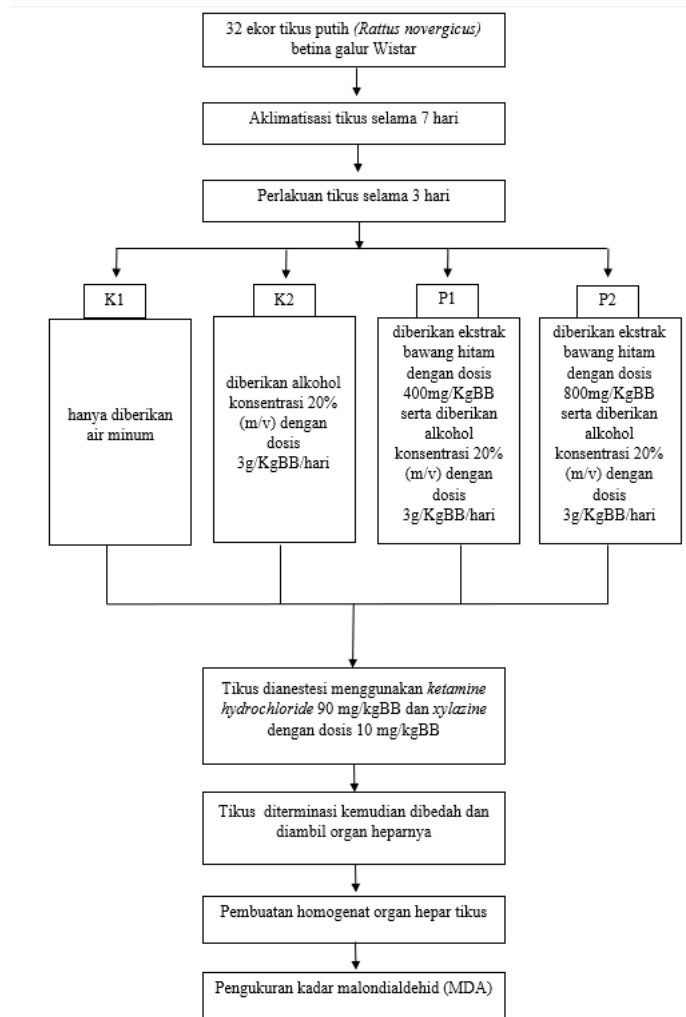
3.8.7 Prosedur Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)

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

Sampel plasma/homogenat 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 96°C selama 10 menit. Setelah itu larutan disentrifugasi kembali pada 5000 rpm selama 5 menit dan dibaca serapannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm.

3.8.8 Alur Penelitian

Tahapan penelitian ini dibagi menjadi empat tahap, yaitu aklimatisasi, perlakuan, terminasi, dan pembuatan homogenat dari hepar tikus dengan alur tertera pada Gambar 9.



Gambar 9. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data yang didapat dari penelitian ini diuji analisis statistik dengan menggunakan program pengolah data statistik. Data penelitian tersebut dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena penelitian ini memiliki sampel <50 . Data kemudian diuji homogenitasnya menggunakan uji *Levene*. Hasil data terdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik *One-Way ANOVA*. Uji ini memiliki hasil nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan antar kelompok sehingga H_0 dinyatakan ditolak

dan dilanjutkan uji *Post-Hoc LSD* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan.

3.10 Etik Penelitian

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang tertera pada persetujuan etik nomor 3975/UN26.18/PP.05.02.00/2023.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah kadar MDA hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar yang diinduksi alkohol dengan metode *binge drinking* dapat menurun signifikan dipengaruhi oleh pemberian ekstrak bawang hitam dengan dosis 800 mg/kgBB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran dari penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukannya pengukuran *marker* antioksidan lain, untuk mengetahui jenis antioksidan yang meningkat sebagai efek dari ekstrak bawang hitam.
2. Perlu dilakukan uji HPLC untuk mengetahui kadar pasti kandungan dari ekstrak bawang hitam.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar Diaz De Leon, J., & Borges, C. R. 2020. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 159.
- Ahmed, T., & Wang, C.-K. 2021. Black Garlic and Its Bioactive Compounds on Human Health Diseases: A Review. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(16). 5028
- Anggraini, W., Rousdy, D. W., Rusmiyanto, E., Wardoyo, P., Biologi, P. S., Tanjungpura, U., & Barat, K. 2021. Parasetamol Pada Pemberian Ekstrak Metanol Kulit Kayu. *Vitex pubescens Vahl*. 10, 6–11.
- Astari PDS, Hanriko R. 2020. Black Garlic (*Allium sativum L.*) Sebagai Terapi Adjuvan Potensial pada Kerusakan Hepar yang Diinduksi Minyak Jelantah. *Majority*. 9(1): 1-6.
- Ayala, A., Muñoz, M. F., & Argüelles, S. 2014. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014.
- Badan Pusat Statistik. 2022. Konsumsi Alkohol Oleh Penduduk Umur ≥ 15 Tahun Dalam Satu Tahun Terakhir (Liter Per Kapita). [Online Website] [diakses 10 September 2023].
Tersedia dari:
<https://www.bps.go.id/indicator/30/1475/1/konsumsialkohololeh-penduduk-umur-15-tahun-dalam-satu-tahun-terakhir.html>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2016. Standar keamanan dan mutu minuman beralkohol. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI Nomor 14 tentang Standar keamanan dan mutu minuman beralkohol. [Online Website] [diakses 10 September 2023].
Tersedia dari:
https://standarpangan.pom.go.id/dokumen/peraturan/2016/PerKa_BPOM_No_14_Tahun_2016_tentang_Keamanan_Mutu_Alkohol.pdf
- Ceni, E., Mello, T., & Galli, A. 2014. Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World Journal of Gastroenterology*, 20(47), 17756–17772.
- Chen, P., Hu, M., Liu, F., Yu, H., & Chen, C. 2019. S-allyl-L-cysteine (SAC) protects hepatocytes from alcohol-induced apoptosis. *FEBS Open Bio*, 9(7), 1327–1336.

- Choi, I. S., Cha, H. S., & Lee, Y. S. 2014. Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(10), 16811–16823.
- Costanzo, L. 2018. *Physiology 6th edition*. Elsevier: Philadelphia
- Devifatimah, R. Z. 2019. Kajian Kadar SOD, MDA Serum Dan Histopatologi Hepar. *Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang*, 122, 18–23.
- Dong, X., Liu, H., Chen, F., Li, D., & Zhao, Y. 2014. MiR-214 Promotes the Alcohol-Induced Oxidative Stress via Down-Regulation of Glutathione Reductase and Cytochrome P450 Oxidoreductase in Liver Cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38(1), 68–77.
- Donohue, T. M., Kharbanda, K. K., & Osna, N. A. 2017. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and Current Management. *Alcohol Research: Current Reviews*, 38(2), 147–161.
- Dunn, W., & Shah, V. H. 2016. Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease. *Clinics in Liver Disease*, 20(3), 445–456.
- Fernandes, L. M. P., Lopes, K. S., Santana, L. N. S., Fontes-Júnior, E. A., Ribeiro, C. H. M. A., Silva, M. C. F., *et al.* 2018. Repeated Cycles of Binge-Like Ethanol Intake in Adolescent Female Rats Induce Motor Function Impairment and Oxidative Damage in Motor Cortex and Liver, but Not in Blood. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 3467531.
- Guyton A.C. & Hall J.E. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. EGC: Jakarta.
- Hyun, J., Han, J., Lee, C., Yoon, M., & Jung, Y. 2021. Pathophysiological aspects of alcohol metabolism in the liver. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 11–14.
- Indraswari, N. M. W. S., Setyowati, D. I., & Hamzah, Z. 2022. Efektivitas Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam. *E-Journal Pustaka Kesehatan*, 10(2), 114–119.
- Jové, M., Mota-Martorell, N., Pamplona, R., Pradas, I., Martín-Gari, M., & Ayala, V. 2020. The advanced lipoxidation end-product malondialdehyde-lysine in aging and longevity. *Antioxidants*, 9(11), 1–20.
- Kamilatussaniah, & Yuniastuti, A. 2015. Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar TSA dan MDA Tikus Putih yang Diinduksi Timbal (Pb). *Jurnal MIPA*, 38(2), 108–114.

- Kartikasari, D., Ristia Rahman, I., & Ridha, A. 2022. Uji Fitokimia Pada Daun Kesum (*Polygonum minus Huds.*) dari Kalimantan Barat. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 35–42.
- Kemenperin. 2014. *Pengendalian dan Pengawasan Minuman Beralkohol*. [Online Article] [diakses 5 September 2023. Tersedia dari: <https://kemenperin.go.id/artikel/8338/Minuman-Alkohol-Pakai-Label-SNI>
- Lee, K.-C., Teng, C.-C., Shen, C.-H., Huang, W.-S., Lu, C.-C., Kuo, H.-C., *et al.* 2018. Protective effect of black garlic extracts on tert-Butyl hydroperoxide-induced injury in hepatocytes via a c-Jun N-terminal kinase-dependent mechanism. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15(3), 2468–2474.
- Lestari, T. R. P. 2016. Questioning the Regulation on Consumption of Alcoholic Beverages in Indonesia. *Aspirasi*, 86, 127–141.
- Li, S., Tan, H. Y., Wang, N., Zhang, Z. J., Lao, L., Wong, C. W., *et al.* 2015. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26087–26124.
- Manela, C., & Hidayat, T. 2018. Artikel Penelitian Korelasi Kadar Alkohol dengan Derajat Luka Dalam Hal Pembuatan Visum Et Repertum pada Pasien Kecelakaan Lalu. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(3), 370–374.
- Martini. 2012. *Fundamentals of Anatomy & Physiology. 9th edition*. San Fransisco: Pearson Education
- Mellinger, J. L. 2019. Epidemiology of Alcohol Use and Alcoholic Liver Disease. *Clinical Liver Disease*, 13(5), 136–139.
- Moraes, L., Dries, S. S., Seibert, B. S., Linden, R., & Perassolo, M. S. 2023. Evaluation of oxidative stress markers in ethanol users. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 56, 1–8.
- Mulianto, N. 2020. Malondialdehid sebagai Penanda Stres Oksidatif pada Berbagai Penyakit Kulit. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(1), 39–44.
- Nahak, B. R. ., Aliah, A. I., & Karim, S. F. 2021. Analisis Kadar Alkohol pada Minuman Beralkohol Tradisional (Arak) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(4), 448–454.
- National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAA). 2023. Drinking Levels Defined. [Online Article] [diakses 7 September 2023]. Tersedia dari: <https://www.niaaa.nih.gov/alcoholhealth/overviewalcoholconsumption/mode-rate-bingedrinking#:~:text=NIAAA%20defines%20binge%20drinking%20as,%20C%20in%20about%202%20hours>

- Patel R, & Mueller M. 2023. Alcoholic Liver Disease. [Online Article] [diakses 8 September 2023]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546632/>
- Puspitasari, L., Rijai, L., & Herman, H. 2019. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Eksstrak Daun Brotowali (*Tinospora tuberculata* Beumee). *Sainstech Farma: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 11(1), 18-24.
- Rimmer, C. 2022. *Binge Drinking: What it is, the Effects and How to Stop*. [Online Article] [diakses 11 September 2023]. Tersedia dari: <https://www.priorygroup.com/addiction-treatment/alcoholrehab/bingedrinking>
- Rumbolt, C., & Minuk, G. Y. 2021. The effects of binge drinking on healthy and diseased livers. *Canadian Liver Journal*, 4(2), 93–98.
- Ryu, J. H., & Kang, D. 2017. Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A review. *Molecules*, 22(6).
- Safe, S., Jayaraman, A., Chapkin, R. S., Howard, M., Mohankumar, K., & Shrestha, R. 2021. Flavonoids: structure-function and mechanisms of action and opportunities for drug development. *Toxicological research*, 37(2), 147–162
- Sidjabat, F. N. 2022. Penggalian Perubahan Perilaku Remaja Selama Pandemi Covid-19. *Jurnal Keshatan Masyarakat*, 10, 462–468.
- Spear, L. P. 2014. Adolescents and alcohol: acute sensitivities, enhanced intake, and later consequences. *Neurotoxicology and Teratology*, 41, 51–59.
- Stickel, F., Datz, C., Hampe, J., & Bataller, R. 2017. Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut and Liver*, 11(2), 173–188.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. 2014. Principles of Anatomy & Physiology 14th Edition. In *Wiley*.
- Tsai, J.-C., Chen, Y. A., Wu, J. T., Cheng, K. C., Lai, P. S., Liu, K. F., *et al.* 2019. Extracts from Fermented Black Garlic Exhibit a Hepatoprotective Effect on Acute Hepatic Injury. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(6).
- Wang, F., Liu, J. C., Zhou, R. J., Zhao, X., Liu, M., Ye, H., *et al.* 2017. Apigenin protects against alcohol-induced liver injury in mice by regulating hepatic CYP2E1-mediated oxidative stress and PPAR α -mediated lipogenic gene expression. *Chemico-biological interactions*, 275, 171–177.

- Wu, C., & Sun, D. 2015. GABA receptors in brain development, function, and injury. *Metabolic Brain Disease*, 30(2), 367–379.
- WHO. 2023. Overview of Alcohol [Online Article] [diakses 5 September 2023]. Tersedia dari: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>
- WHO. 2022. Harmful Use of Alcohol [Online Article] [diakses 5 September 2023]. Tersedia dari: https://www.who.int/health-topics/alcohol#tab=tab_1
- WHO. 2018. Global Status Report on Alcohol and Health. Geneva: WHO Library Cataloguing Data.
- Zhao, L., Zhang, N., Yang, D., Yang, M., Guo, X., He, J., *et al.* 2018. Protective Effects of Five Structurally Diverse Flavonoid Subgroups against Chronic Alcohol-Induced Hepatic Damage in a Mouse Model. *Nutrients*, 10(11).