

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Penggunaan minyak goreng bekas sering dilakukan oleh masyarakat. minyak goreng yang terbuat dari kelapa adalah salah satu bahan makanan sumber lemak nabati yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh yang relatif tinggi dan mudah rusak karena pemanasan pada suhu tinggi. Oksidasi lemak akan menghasilkan senyawa peroksida sebagai produk primer dan jika teroksidasi lebih lanjut akan menjadi senyawa aldehid, keton, alkohol, dan karbonil yang dapat membahayakan kesehatan tubuh (Sumitro *et al.*, 1998). Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan senyawa dalam tubuh membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif (Bagiada, 1995). Radikal hidroksil akan memisahkan atom hidrogen dari rantai asam lemak tidak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acids*) dalam membran atau lipoprotein, sehingga terjadi peroksidasi lipid (Widjaja, 1997). Peroksidasi lipid menyebabkan destruksi membran yang kemudian mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal sehingga merusak fungsi sel (Kartawiguna, 1998). Peroksidasi lipid juga dapat menyebabkan penekanan pompa  $Ca^{2+}$  mikrosom hati yang akan menyebabkan gangguan homeostasis. Keadaan tersebut mengakibatkan nekrosis hati karena tidak terbentuknya ATP pada sel hati yang berfungsi sebagai sumber energi (Wenas, 1996).

Karena alasan itulah, maka penggunaan minyak goreng bekas secara berulang berbahaya bagi kesehatan (Anandito, 2000). Salah satu cara pertahanan terbaik untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas adalah meningkatkan pertahanan tubuh dengan mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan (Cooper, 2001).

*Psidium guajava* L. merupakan salah satu tanaman obat yang dijadikan sebagai terapi. Buah, daun, kulit, batang dapat digunakan dalam berbagai pengobatan. Secara tradisional, tanaman buah jambu biji merah biasa digunakan untuk mengobati sakit maag, luka, sakit kulit, perut kembung pada anak, diare akut dan kronis, sariawan, kencing manis, keputihan, disentri. (Tabulampot, 2007).

Buah jambu biji merah kaya akan tanin, fenol, triterpen, flavonoid, essential oils, saponin, carotenoid, asam amino (triptofan, lisin), pectin, kalsium, fosfor, besi, mangan, magnesium, belerang dan vitamin B1 dan C. Buah jambu biji merah juga kaya dengan serat yang larut dalam air, terutama di bagian kulitnya sehingga dapat mengganggu penyerapan glukosa dan lemak yang berasal dari makanan dan membuangnya ke luar tubuh (Pdpersi, 2004).

Minyak goreng bekas mengandung radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel, sedangkan buah jambu biji merah mengandung flavonoid, carotenoid, vitamin A dan vitamin C yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat mengurangi efek radikal bebas dari minyak goreng bekas. Berdasarkan hal tersebut, buah jambu biji merah diperkirakan dapat mengurangi kerusakan sel hepar yang diakibatkan oleh pemberian minyak

goreng bekas. Alasan inilah yang mendorong penulis untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) terhadap kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas.

## **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) dapat mengurangi kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas?
2. Apakah peningkatan dosis jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) efektif dalam mengurangi kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui efek jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) dalam mengurangi kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas.
2. Untuk mengetahui efektivitas peningkatan dosis jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) dalam mengurangi kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Aspek teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) dalam mengurangi kerusakan sel hati tikus setelah dipapar dengan minyak goreng bekas. Selain itu penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan penelitian lebih lanjut, misalnya penelitian dengan menggunakan parameter selain gambaran histologis seperti dengan parameter imunologis.

### **2. Aspek aplikatif**

Sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat dalam mengembangkan buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn) menjadi obat (fitofarmaka) yang berkhasiat sebagai antioksidan.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Jambu biji merah (*Psidium guajava* L.)

###### a. Deskripsi

Jambu biji merah berasal dari Amerika tropik, tumbuh pada tanah yang gembur maupun liat, pada tempat terbuka dan mengandung air yang cukup banyak. Pohon ini banyak ditanam sebagai pohon buah-buahan, dan sering tumbuh liar dan dapat ditemukan pada ketinggian 1-1200 m dari permukaan laut. Jambu biji merah berbuah sepanjang tahun, berupa pohon kecil, tinggi 2-10 m, percabangan banyak, batangnya berkayu, keras, kulit batang licin, mengelupas, berwarna cokelat kehijauan. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, berambut halus, permukaan atas daun licin. Helai daun berbentuk bulat telur agak jorong, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 6-14 cm, lebar 3-6 cm, berwarna hijau. Bunga tunggal, bertangkai, keluar dari ketiak daun, berkumpul 1-3 bunga, berwarna putih. Buahnya buah buni, berbentuk bulat sampai bulat telur, berwarna hijau sampai hijau kekuningan. Daging buah tebal, buah yang masak bertekstur lunak, berwarna putih kekuningan / merah jambu. Biji buah banyak mengumpul ditengah, kecil-kecil, keras dan berwarna kuning kecokelatan (Gotama, 1999).

**b. Klasifikasi**

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Subkelas	: Dialypetalae
Ordo / Bangsa	: Myrtales
Famili / Suku	: Myrtaceae
Marga / Genus	: Psidium
Jenis / Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L.

(Dalimartha, 2000)

**c. Nama lain**

## Nama Daerah

- 1) Sumatra : glima breueh (Aceh) , glimeu beru (Gayo), galiman (Batak Karo), masiambu (Nias), biawas, jambu biawas, jambu batu, jambu biji, jambu Klutuk (Melayu).
- 2) Jawa : jambu klutuk (Sunda), jambu krutuk, jhambu bhender (Madura).
- 3) Maluku : kayawase (Seram barat), kujawase (Seram selatan), laine hatu, lutu hatu (Ambon), gayawa (Ternate, Halmahera).

- 4) Nusa tenggara : guawa (Flores), goihawas (Sika), kojabas
- 5) Sulawesi : gayawas (Manado), boyawat (Mongondow), koyawas (Tonsaw), dambu (Gorontalo), jambu paratugala (Makasar), jambu parakutala (Bugis), jambu (Baree), kujabas (Roti), biabuto (Buol).

(Muchlisah, 2004)

#### **d. Kandungan kimia**

Daun jambu biji mengandung tanin, minyak atsiri, asam ursolat, asam psidiolat, asam kratogolat, asam oleanolat, asam guajaverin dan vitamin. Buah, daun dan kulit batang tanaman jambu biji merah banyak mengandung tanin (senyawa fenolik), sedang pada bunganya tidak banyak mengandung tanin (Tabulampot, 2007).

Tanin dinamakan juga asam tanat dan asam galotanat, ada yang tidak berwarna tapi ada juga yang berwarna kuning/ cokelat. Asam tanat mempunyai berat molekul  $1701g/mol$ . Tanin terdiri dari 9 molekul asam galat dan molekul glukosa (Harborse, 1987). Didalam buah dan tanaman, tanin berperan dalam proses pemasakan buah, menimbulkan rasa sepat pada buah dan sebagai pelindung dari serangan serangga atau jamur. Selain itu tanin juga berfungsi memperlancar sistem pencernaan. Buah jambu biji merah yang tidak terlalu matang memiliki kadar tanin yang relatif lebih tinggi dibandingkan buah yang sudah matang (Astawan, 2006).

Kandungan kimia buah jambu biji merah yang masih muda adalah kuersetin, guajaverin, asam galat, leukosianida 0,1% heksahidroksidifenil ester dalam bentuk glikosida 0,1% asam elagat. Buah jambu biji merah yang sudah masak mengandung asam elagat dalam bentuk bebas, sedikit leukosianidin,  $\beta$ -sitosterol, asam ursolat, asam oleanolat, asam krategolat, asam guaiavolat, senyawa fenolik [kuersetin, avikularin (kuersetin-3- $\alpha$ -L-arabinofuranosida), guajaverin (kuersetin-3- $\alpha$ -L-arabinopiranosida), leukosianida, asam elagat, asam psidiolat, amritosid, zat samak, pirogalol] dan minyak atsiri yang terdiri dari limonen, karofilen, seskuioterpen alkohol, d-limonen dan triterpenoid (Sudarsono, 2002).

Buah jambu biji merah juga kaya akan lutein, zeaxanthine, lycopene, fenol, flavonoid, essential oils, saponin, carotenoid, pectin, kalsium, fosfor, besi, mangan, magnesium, belerang, vitamin B1, vitamin A, vitamin C dan asam amino (triptofan, lisin) (Pdpersi, 2004). Biji buah jambu biji merah mengandung minyak lemak 10% yang terdiri atas 15% asam lemak jenuh (Sudarsono, 2002).

Diantara berbagai jenis buah, jambu biji merah mengandung vitamin C yang paling tinggi. Kandungan vitamin C buah jambu biji merah sekitar 87mg/100gr, 2 kali lipat dibandingkan jeruk manis (49mg/100gr), lima kali lipat dibandingkan buah jeruk, serta 8 kali lipat dibanding lemon (10,5mg/100gr). Kadar vitamin C pada buah jambu biji merah jauh lebih besar dibanding jambu air dan jambu bol,



yakni 17 kali lipat dibanding jambu air ( $5\text{mg}/100\text{gr}$ ) dan 4 kali lipat dibanding jambu bol ( $22\text{mg}/100\text{gr}$ ) (Hariyadi, 2005).

Buah jambu biji merah bebas dari asam lemak jenuh dan sodium, rendah lemak dan energi, tapi tinggi akan serat pangan khususnya pektin yang larut dalam air, terutama di bagian kulitnya sehingga dapat mengganggu penyerapan glukosa dan lemak yang berasal dari makanan dan membuangnya ke luar tubuh (Taylor, 1998). Manfaat pektin lainnya adalah untuk menurunkan kolesterol yakni mengikat kolesterol dan asam empedu dalam tubuh dan membantu pengeluarannya (Achyad dan Rasidah, 2000).

*Psidium guajava* kaya akan zat-zat antioksidan dan vitamin. Kandungan gizi buah jambu biji merah dalam  $100\text{gram}$  buah yaitu : kalori  $49\text{kal}$ , vitamin A  $25\text{SI}$ , vitamin B1  $0,02\text{mg}$ , vitamin B2  $0,04\text{mg}$ , vitamin C  $87\text{mg}$ , niasin  $1,10\text{mg}$ , kalsium  $14\text{mg}$ , hidrat arang  $12,2\text{gram}$ , fosfor  $28\text{mg}$ , besi  $1,1\text{mg}$ , protein  $0,9\text{mg}$ , lemak  $0,3\text{gram}$ , serat  $5,60\text{gram}$ , air  $86\text{gram}$ , karoten  $59,5\mu\text{g}$ , retinol  $9,9\mu\text{g}$  (Tabulampot, 2007).

#### e. Khasiat dan kegunaan

Daun digunakan untuk pengobatan diare akut kronis, disentri, perut kembung pada anak, kadar kolesterol darah meninggi, haid tidak lancar, sering buang air kecil, luka berdarah dan sariawan. Ranting muda digunakan untuk pengobatan keputihan (*leukorea*). Sedangkan buahnya digunakan untuk pengobatan kencing manis, kadar kolesterol darah tinggi (*hiperkolesterolemia*) dan sembelit (Dalimartha, 2000)

Buah jambu biji merah dapat dijadikan sebagai obat alternatif karena mengandung diantaranya jenis flavonoid, minyak atsiri, dan juga terdapat saponin berkombinasi dengan asam oleanolat, Morin-3-O  $\pm$  L-lyxopyranoside, morin-3-O  $\pm$  L-arabopyranoside guaijavarin dan querce-tin (Anthony, 2001).

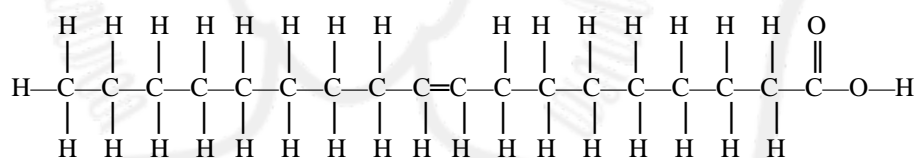
Flavonoid adalah senyawa antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan vitamin E (Kardinan *et al.*, 2004). Flavonoid bertindak sebagai penampung radikal hidroksi dan superoksida, dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson, 1995).

## 2. Minyak goreng

Minyak goreng yang terbuat dari bahan baku kelapa mengandung sejumlah besar asam lemak tak jenuh dalam molekul trigliserida (Ketaren, 1986). Asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang memiliki atom karbon yang terikat secara ganda dengan sebuah atom hidrogen. Asam lemak tak jenuh dapat dibedakan menjadi:

### a. Mono-Unsaturated Fatty acid (Asam lemak tak jenuh tunggal)

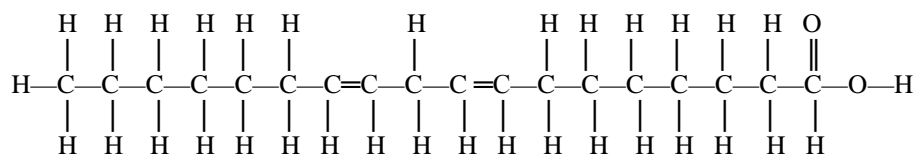
Asam lemak tak jenuh tunggal adalah asam lemak tak jenuh yang memiliki satu ikatan ganda, di mana satu pasang atom hidrogen diganti oleh satu ikatan ganda (Asam Oleik). Adapun rumus kimianya adalah  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CHCH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$  dan struktur kimianya adalah sebagai berikut :



**Gambar 1.** Struktur kimia asam lemak tak jenuh tunggal  
(Budiarso, 2003)

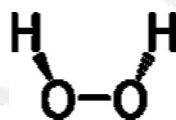
### b. Poly-Unsaturated Fatty Acid (Asam lemak tak Jenuh Ganda)

Asam lemak tak jenuh ganda adalah asam lemak tak jenuh yang memiliki banyak ikatan ganda, di mana dua pasang atom karbon, masing-masing diikat oleh satu ikatan ganda (Asam Linoleik). Adapun rumus kimianya adalah  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CHCHCH}_2\text{CHCH}(\text{CH}_2)_6\text{CHOOH}$  dan struktur kimianya adalah sebagai berikut :



**Gambar 2.** Struktur kimia asam lemak tak jenuh ganda  
(Budiarso, 2003)

Lemak tidak jenuh ganda dibagi menjadi dua jenis yaitu lemak omega-3 dan lemak omega-6. Asam lemak tak jenuh ganda mudah bereaksi dengan oksigen sehingga mudah teroksidasi. Proses oksidasi dari asam lemak tak jenuh ganda bisa terjadi melalui proses pemanasan (Fife, 2001). Asam lemak tak jenuh biasanya mengalami oksidasi pada ikatan rangkapnya dan sebagai hasil oksidasi adalah hidrogen peroksida. Senyawa hidrogen peroksida adalah suatu gugus fungsional dari sebuah molekul organik yang mengandung ikatan tunggal oksigen-oksigen dan berikatan dengan atom hidrogen. Adapun rumus kimia hidrogen peroksida adalah  $\text{H}_2\text{O}_2$  dan struktur kimianya adalah sebagai berikut:



**Gambar 3.** Struktur kimia hidrogen peroksida  
(Wikipedia, 2009)

Jika peroksida teroksidasi lebih lanjut akan menjadi senyawa aldehid, keton, alkohol, dan karbonil yang dapat membahayakan kesehatan tubuh dan merangsang tumbuhnya tumor dan kanker (Sumitro S. *et al*, 1998). Gugus karbonil adalah sebuah gugus fungsi yang terdiri dari sebuah atom karbon yang berikatan rangkap dengan sebuah atom oksigen. Oksigen lebih elektronegatif daripada karbon, sehingga rapatannya elektron

akan tertarik dari karbon dan meningkatkan polaritas ikatan. Oleh karena itu, karbon karbonil bersifat elektrofilik, sehingga lebih reaktif terhadap nukleofil. Selain itu, oksigen yang elektronegatif juga dapat bereaksi dengan elektrofil. Adapun gugus karbonil adalah C=O ( Wikipedia, 2009).

Aldehid dan keton adalah senyawa-senyawa sederhana yang mengandung sebuah gugus karbonil. Ini berarti bahwa reaksi keduanya sangat mirip jika ditinjau berdasarkan gugus karbonilnya. Aldehida dan keton sangat reaktif. Aldehid berbeda dengan keton karena memiliki sebuah atom hidrogen yang terikat pada gugus karbonilnya. Ini menyebabkan aldehid sangat mudah teroksidasi. Adapun rumus kimia gugus aldehid adalah RCHO dimana R adalah atom hidrogen lain atau sebuah gugus hidrokarbon yang bisa berupa gugus alkil atau gugus yang mengandung sebuah cincin benzen sedangkan pada keton adalah RCOR' dimana R dan R' adalah gugus hidrokarbon yang bisa berupa gugus alkil atau gugus yang mengandung cincin benzen. Adapun struktur-struktur kimianya adalah sebagai berikut :



**Gambar 4.** Struktur kimia keton dan aldehid ( Wikipedia, 2009)

Alkohol adalah senyawa-senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon (C-OH), dimana C-OH juga terikat pada atom hidrogen atau atom karbon lain. Adapun rumus kimia umum alkohol adalah  $C_nH_{2n+1}OH$  ( Wikipedia, 2009).

Peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan ion logam Cu dan Fe dalam tubuh membentuk radikal hidroksil. Radikal hidroksil sangat reaktif, memicu peroksidasi lipid melalui reaksi dengan asam lemak tak jenuh pada membran sel sehingga kerentanannya meningkat dan sel menjadi rusak (Bagiada, 1995). Peroksidasi lipid juga dapat menyebabkan penekanan pompa  $\text{Ca}^{2+}$  mikrosom hepar yang akan menyebabkan nekrosis hepar karena tidak terbentuknya ATP pada sel hepar yang berfungsi sebagai sumber energi (Wenas, 1996).

### 3. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat oksidasi yang diperantarai oksigen. Senyawa antioksidan dapat mencegah pengaruh buruk yang disebabkan oleh senyawa-senyawa radikal bebas dengan cara menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada tahap propagasi. Radikal bebas adalah suatu molekul atau atom yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada kulit luarnya, yang mungkin terbentuk melalui reaksi oksidasi atau reduksi satu elektron atau hemolisis ikatan rangkap (Donatus, 2005).

Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas bersifat sangat reaktif. Jika dua radikal bebas bertemu, radikal-radikal tersebut dapat menggabungkan masing-masing elektron yang tidak berpasangan membentuk ikatan kovalen dan energinya berkurang

(Halliwell dan Gutteridge, 2000). Ketika radikal bebas bereaksi dengan senyawa non-radikal atau senyawa biologis, radikal baru akan terbentuk dan jika menjumpai molekul lain akan membentuk radikal bebas kembali sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*) (Widjaja, 1997).

Tanpa adanya antioksidan, reaksi tersebut akan berlangsung terus-menerus dan dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh. Di satu sisi radikal bebas bermanfaat bagi tubuh, yaitu untuk pertahanan tubuh terhadap penyakit, di sisi lain jika berlebihan justru dapat mengakibatkan kerusakan dalam tubuh. Radikal bebas dalam tubuh dapat dihasilkan secara internal yaitu melalui proses metabolisme normal dan proses peradangan. Selain itu radikal bebas dapat dihasilkan secara eksternal, yaitu karena pengaruh polusi, radiasi, dan lain-lain (Wijaya, 1996).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat reaksi berantai pada radikal bebas dapat disebabkan oleh 4 macam mekanisme, yaitu :

- a. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
- b. Pelepasan elektron dari antioksidan
- c. Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan
- d. Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Wijaya, 1996).

Antioksidan bekerja dengan cara bereaksi dengan radikal bebas, menghentikan reaksi rantai. Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 3, yaitu :

a. Antioksidan primer

Antioksidan primer ini bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa bebas baru. Ia mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya, sebelum radikal bebas ini sempat bereaksi. Contoh antioksidan ini adalah SOD (*Superoksida Dismutase*) yang berfungsi sebagai pelindung hancurnya sel-sel dalam tubuh serta mencegah proses peradangan karena radikal bebas.

b. Antioksidan sekunder

Antioksidan ini menangkap senyawa serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder : vitamin E, vitamin C, beta karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan jenis ini memperbaiki kerusakan sel-sel jaringan yang disebabkan radikal bebas. Contoh enzim yang dapat memperbaiki DNA pada inti sel adalah metionin sulfoksidan reduktase. Adanya enzim-enzim perbaikan DNA ini berguna untuk mencegah penyakit kanker (Some, 2002).

Antioksidan secara alami telah ada di dalam tubuh, berupa enzim yang dapat aktif dengan didukung oleh nutrisi atau mineral yang disebut ko-faktor. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh antara lain adalah :

a. Superoksida Dismutase (SOD)

SOD didalam jaringan hati memiliki peran utama dalam sistem pertahanan melawan stres oksidatif yaitu mengubah radikal



superoksida menjadi ion-ion yang lebih tidak reaktif. Ion-ion yang kurang reaktif ini selanjutnya diubah oleh katalase dan glutathion peroksidase. Perubahan ini dinamakan dismutasi, sehingga namanya superoksida dismutase. Antioksidan ini merupakan enzim yang bekerja bila ada pembantunya yaitu berupa mineral-mineral seperti tembaga, mangan yang bersumber pada kacang-kacangan dan padi-padian.

b. Glutathion peroksidase

Glutathion peroksidase merupakan tripeptida yang terdiri dari asam amino glisin, asam glutamat dan sistein. Glutathione sangat penting dalam melindungi selaput-selaput sel. Enzim ini dihasilkan oleh hati yang berperan aktif dalam menghilangkan  $H_2O_2$  dalam tubuh dan memergunakannya untuk merubah glutathione (GSH) menjadi glutathine teroksidasi (GSSG). Enzim ini menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan.

c. Katalase

Enzim katalase diproduksi oleh sel di bagian badan mikro, yaitu perioksisom bagi sel, enzim ini adalah berfungsi melindungi bagian dalam sel dari kondisi oksidatif, mendukung aktivitas enzim SOD dan dapat menguraikan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air ( $H_2O$ ) dan oksigen ( $O_2$ ) yang tidak berbahaya bagi tubuh. Selain itu, enzim ini di dalam tubuh manusia juga menguraikan zat-zat oksidatif lainnya seperti fenol, asam format, maupun alkohol yang juga berbahaya bagi

tubuh manusia. Enzim katalase dalam bekerjanya sangat membutuhkan mineral-mineral penyusun yaitu : Copper (Cu), Zinc (Zn), Selenium (Se), Mangan (Mn), dan Besi (Fe) (Some, 2002).

#### 4. Struktur histologis hati

Hati adalah organ tubuh manusia terbesar dan merupakan kelenjar terbesar, beratnya  $\pm 1,5$  kg, konsistensinya lunak dan terletak dibawah diafragma dalam rongga abdomen atas. Sebagian besar darahnya dipasok dari vena porta, dan sebagian kecil dipasok dari arteri hepatica. Posisi hati dalam sirkulasi optimal untuk menampung, mengubah, menimbun metabolit, menetralisasi, dan mengeluarkan substansi toksik (Junqueira *et al.*, 1995).

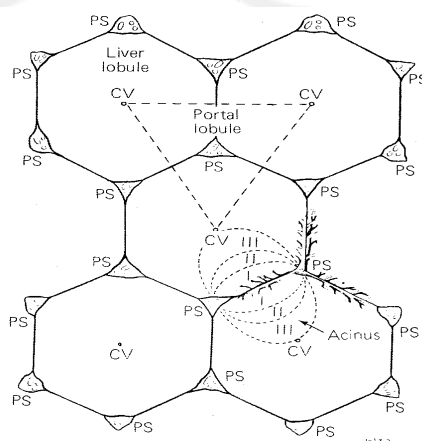
Hati terdiri atas beberapa lobus dan tiap lobus hati terbagi menjadi struktur-struktur yang dinamakan lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri atas lempeng-lempeng sel hati berbentuk kubus, tersusun radial mengelilingi vena sentralis. Diantara lempengan-lempengan sel hati terdapat kapiler-kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatica. Sinusoid ini dibatasi oleh sel fagositik atau sel *kupffer*, yang berfungsi seperti sistem monosit-makrofag. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang melingkari bagian perifer lobulus hati, juga terdapat saluran empedu. (Price dan Wilson, 2006).

### a. Lobulus Hati

Pembagian lobulus hati sebagai unit fungsional dibagi menjadi tiga zona yaitu :

- a) Zona 1 : zona aktif, sel-selnya paling dekat dengan pembuluh darah, akibatnya zona ini yang pertama kali dipengaruhi oleh perubahan darah yang masuk.
- b) Zona 2 : zona intermedia, sel-selnya memberi respon kedua terhadap darah.
- c) Zona 3 : zona pasif, aktifitas sel-selnya rendah dan tampak aktif bila kebutuhannya meningkat.

Lobulus-lobulus hati berbentuk poligonal dan dipisahkan oleh jaringan pengikat dan pembuluh darah. Daerah ini disebut trigonum porta yang berisi arteri hepatica, vena porta, duktus biliferus, dan anyaman pembuluh limfe (Junqueira *et al.*, 1995).



**Gambar 5.** Skema lobulus hepar. Lobulus hepar mempunyai vena centralis (CV) dan dibatasi oleh garis yang menghubungkan celah porta (PS). Pembagian zona asinus hati ditunjukkan oleh angka-angka I, II, III (Leeson *et al.*, 1998).

## **b. Parenkim Hati**

Parenkim hati terdiri atas sel-sel hati (hepatosit). Hepatosit tersusun berderet secara radier dalam lobulus hati. lempeng-lempeng hepatosit mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya dan beranastomosis secara bebas. Celah di antara lempeng-lempeng tersebut mengandung kapiler yang disebut sinusoid hati. Sel-sel hati berbentuk polihedral dengan 6 atau lebih permukaan dan garis tengah lebih kurang 20-30  $\mu$ m. Permukaan setiap sel hati berkontak dengan dinding sinusoid, melalui celah *Disse*, dan dengan permukaan hepatosit lain (Junqueira *et al.*, 1995). Sitoplasma sel hati bervariasi dalam penampakan, tergantung dari nutrisi dan status fungsionalnya. Mengandung sejumlah besar ribonukleoprotein, mitokondria, droplet lipid, lisosom, dan peroksisom. (Bergman *et al.*, 1996)

## **c. Triad Portal**

*Triad Portal* merupakan tempat dimana tiga atau lebih unit lobulus bertemu. Di daerah ini terdapat akumulasi jaringan pengikat. *Triad portal* mengandung cabang dari vena porta, arteri hepatica dan duktus biliverus (Junqueira dan Carneiro, 1995).

## **d. Sinusoid Hati**

Sinusoid merupakan suatu pembuluh yang melebar tidak teratur dan hanya terdiri dari satu lapisan sel endotel yang tidak kontinyu. Sinusoid mempunyai pembatas yang tidak sempurna dan memungkinkan pengaliran makromolekul dengan mudah dari lumen

ke sel-sel hati dan sebaliknya. Sinusoid dikelilingi dan disokong oleh selubung serabut retikuler halus yang penting untuk mempertahankan bentuknya. Sel-sel endotel dipisahkan dari hepatosit yang berdekatan oleh celah sub-endotel yang disebut celah *Disse*. Selain sel-sel endotel, sinusoid juga mengandung sel-sel fagosit dari retikuloendotelial yang dikenal sebagai sel *Kupffer*, berbentuk stelat dengan sifat histologis seperti vakuola jernih, lisosom dan retikuloendoplasma granuler tersebar di seluruh sitoplasma. Ini membedakan sel-sel *Kupffer* dari sel-sel endotel (Junqueira *et al.*, 1995).

**e. Daya Regenerasi Hati**

Hati mempunyai kemampuan regenerasi yang sangat mengagumkan. Daya regenerasi hati setelah trauma atau terpapar zat-zat toksik sangat tinggi (Leeson, *et al.*, 1990). Kehilangan jaringan hati akibat kerja zat-zat toksik atau pembedahan memacu mekanisme pembelahan sel hati dan hal ini akan terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan semula tercapai (Junqueira dan Carneiro, 1995).

**5. Mikroskopis kerusakan sel hati setelah pemberian minyak goreng bekas**

Hati berperan pada hampir setiap fungsi metabolisme tubuh. Hati berfungsi untuk menampung, mengubah, menimbun metabolit, menetralsasi, dan mengeluarkan substansi toksik (Junqueira *et al.*, 1995).

Hati merupakan tempat penyimpanan glikogen dan juga menghasilkan empedu (Moore, 1992). Menurut Guyton (1995), fungsi metabolik yang berlangsung di hati adalah :

- a. Metabolisme lemak, karbohidrat dan protein.
- b. Penyimpanan vitamin, terutama vitamin A, vitamin D dan B12.
- c. Pembentuk faktor koagulasi darah, yaitu fibrinogen, protrombin, *globulin accelerator* dan faktor VII.
- d. Penyimpanan besi dalam bentuk feritin, yang terikat apoferitin.
- e. Pengeluaran atau ekskresi obat-obatan dan hormon melalui empedu.

Berdasarkan penelitian Sumitro *et al.* (1998), pemberian minyak goreng bekas berpengaruh terhadap ukuran diameter vena sentralis dan degenerasi sel hati menciit. Ada beberapa gambaran yaitu :

- a. Vena sentralis mengalami perluasan, perlemakan dan pembendungan.
- b. Sel hati (hepatosit) dengan inti mengalami kerusakan ringan, *pyknosis*
- c. Sel hati (hepatosit) mengalami nekrosis dan peradangan.

Kematian sel dan kematian jaringan pada tubuh yang hidup disebut nekrosis. Nekrosis merupakan kematian sel lokal (Price dan Wilson, 2006). Nekrosis hati adalah perubahan morfologi sebagai akibat tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas letal. Tanda dari nekrosis dapat dilihat dengan jelas melalui perubahan yang terjadi pada inti sel. Pada jejas tahap lanjut tetapi reversible, kromatin sering menggumpal pada membran inti (Robin *et al.*, 1995). Biasanya inti sel yang mati itu menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap dengan

zat warna yang biasanya digunakan oleh para ahli patologi. Proses ini dinamakan *pyknosis*, dan intinya disebut piknotik. Kemungkinan lain, inti dapat hancur, dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Proses ini disebut *karyorrhexis*. Akhirnya pada keadaan tertentu, inti sel yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang, proses ini disebut *karyolisis* (Price dan Wilson, 2006).

#### **6. Mekanisme perlindungan jus buah jambu biji merah sebagai antioksidan terhadap sel hati setelah pemberian minyak goreng bekas**

Penggunaan minyak goreng bekas secara berulang berbahaya bagi kesehatan karena dapat membentuk radikal bebas dan senyawa toksin yang bersifat racun (Anandito, 2000). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbit luarnya (Bagiada, 1995). Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas secara kimiawi sangat reaktif. Jika dua radikal bebas bertemu radikal-radikal tersebut dapat menggabungkan masing-masing elektron yang tidak berpasangan membentuk ikatan kovalen dan energinya berkurang (Halliwell dan Gutteridge, 2000). Ketika radikal bebas bereaksi dengan senyawa non-radikal, radikal baru akan terbentuk dan jika menjumpai molekul lain akan membentuk radikal bebas kembali sehingga terjadilah reaksi rantai (*chain reaction*) (Widjaja, 1997).

Radikal bebas bersifat oksidatif dan dapat bereaksi dengan biomolekul seperti DNA, protein, serta lipid sehingga merusak fungsi

biologisnya (Jansen, 1997). Hasil peroksidasi lipid membran oleh radikal bebas berefek langsung terhadap kerusakan membran sel. Lipid hidroperoksida selanjutnya dapat berubah menjadi produk toksik yaitu aldehid. Aldehid tersebut dapat menimbulkan kerusakan berat pada membran sel (Shirly, 1997).

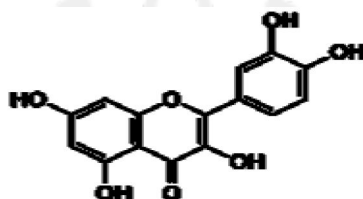
Antioksidan secara kimia adalah senyawa yang mampu memberikan elektron. Dalam arti biologis, antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam dampak negatif dari oksidan. Oksidan dalam pengertian kimia yaitu senyawa-senyawa yang dapat menarik elektron (Bagiada, 1995). Antioksidan mampu mengubah oksidan menjadi molekul yang tidak berbahaya. Antioksidan dapat mengikat berbagai jenis oksigen yang secara biologis bersifat reaktif sehingga mencegah pembentukan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan-kerusakan yang diakibatkannya (Widjaja, 1997). Antioksidan dapat menghambat oksidasi melalui penangkapan radikal bebas (*free radical scavenging*). Antioksidan jenis ini disebut dengan antioksidan primer (Pokornya *et al.*, 2001)

Antioksidan alami yang terdapat di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, alfa tokoferol, beta karoten dan asam askorbat (Ardiansyah, 2007).

Buah jambu biji merah mempunyai kandungan flavonoid, vitamin C dan beta caroten (Dalimartha, 2000). Flavonoid termasuk antioksidan



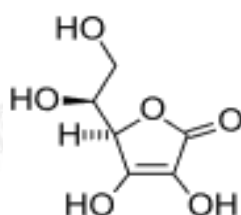
pemutus rantai. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan pada struktur molekulnya terdapat gugus prenil  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2^-$  meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, dan kalkon. Flavonoid akan berikatan dengan radikal peroksil yang terbentuk pada saat terjadinya reaksi rantai pada proses peroksidasi lipid dan menyumbangkan 1 elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga rantai dapat diputus. Flavonoid mempunyai kemampuan untuk mengikat radikal hidroksil, sehingga akan mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Middleton *et al.*, 2000). Flavonol terdiri dari 3-hydroxy-2-phenylchromen-1,4-benzopyrone dengan rumus kimianya adalah  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ , dan struktur kimianya adalah sebagai berikut :



**Gambar 6.** Struktur kimia flavonol sebagai antioksidan (Wikipedia, 2008)

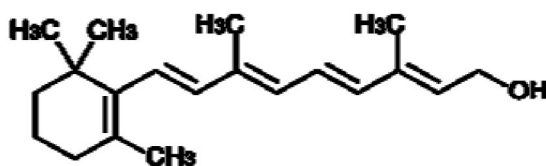
Selain flavonoid buah jambu biji merah juga mengandung vitamin C yang cukup tinggi. Vitamin C disebut juga asam askorbat, berperan dalam banyak proses dalam tubuh manusia, terutama sebagai donor elektron (agen pereduksi). Agen pereduksi adalah substansi yang mendonorkan elektronnya dan sebagai hasilnya dia sendiri teroksidasi (kehilangan elektron). Vitamin C mendonorkan elektron sebagai bagian dari atom hidrogen dan menangkap radikal bebas sebelum mereka dapat mengawali oksidasi LDL (Wardlaw dan Hampl, 2007). Vitamin C mencegah oksidasi pada molekul yang berbasis cairan, misalnya plasma

darah dan mata. Selain itu vitamin C juga menghambat proses perombakan dan merangsang pembentukan interferon yang memerangi sel-sel kanker, vitamin C ternyata dapat memperbaiki kerusakan kolagen dengan membuat kolagen baru lewat hidroksilasi prolin (Astaqauliyah, 2006). Adapun rumus kimia vitamin C adalah  $C_6H_8O_6$  dan struktur kimianya adalah sebagai berikut :



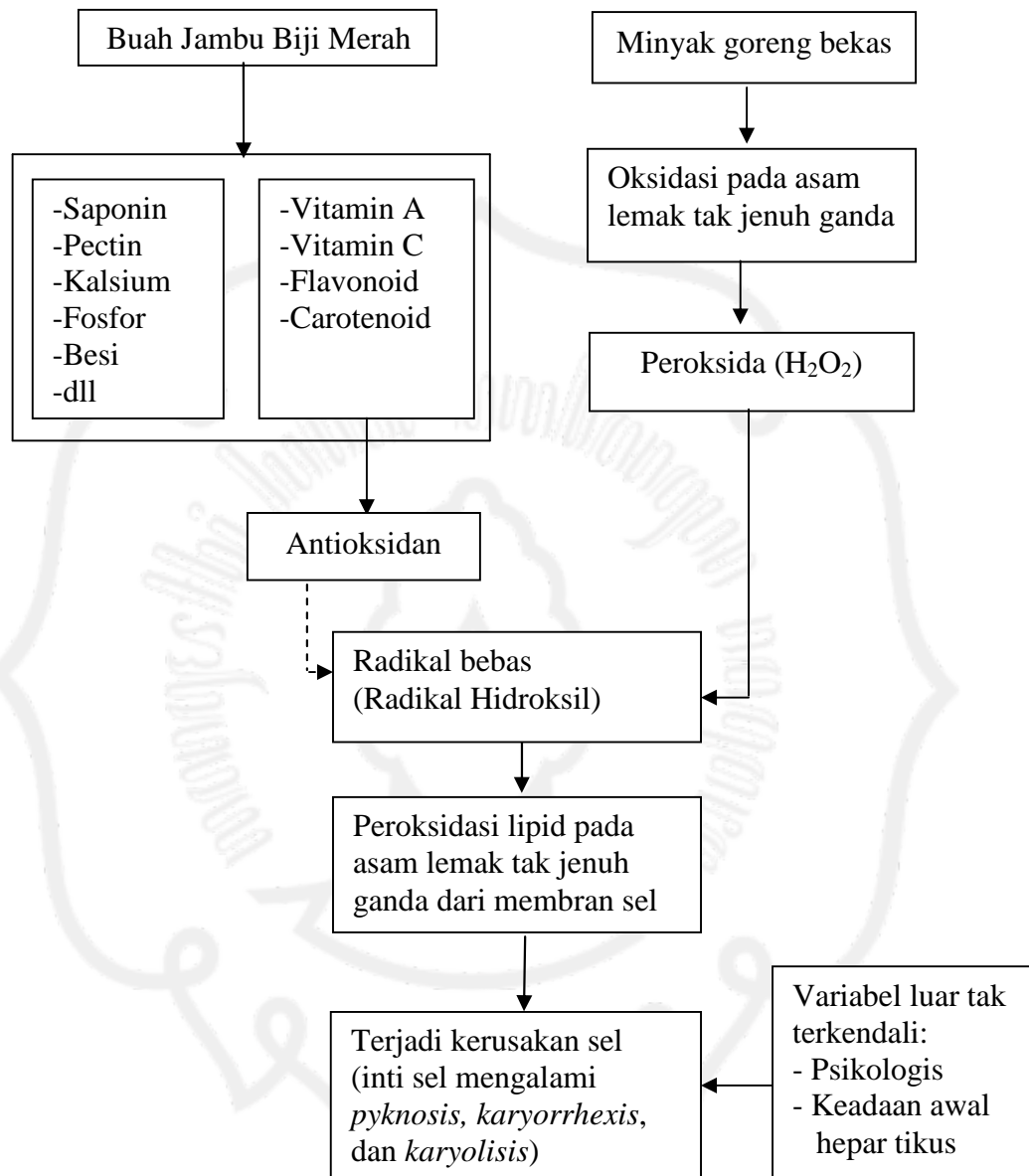
**Gambar 7.** Struktur kimia vitamin C sebagai antioksidan (Wikipedia, 2008)

Buah jambu biji merah juga mengandung vitamin A dan karoten. Beta karoten adalah sumber utama vitamin A yang sebagian besar ada dalam tumbuhan. Golongan senyawa karotenoid antara lain alfa-karoten, zeaxanthin, lutein dan likopen. Berdasarkan hasil estimasi, satu molekul beta-karoten dapat membersihkan 1000 radikal bebas dan mencegah terbentuknya radikal bebas. Karoten berperan dalam meningkatkan sistem immunitas tubuh melalui efek anti oksidan (Sofia, 2005). Adapun rumus kimia vitamin A adalah  $C_{20}H_{30}O$  dan struktur kimianya adalah sebagai berikut :



**Gambar 8.** Struktur kimia vitamin A sebagai antioksidan (Wikipedia, 2008)

## B. Kerangka Pemikiran

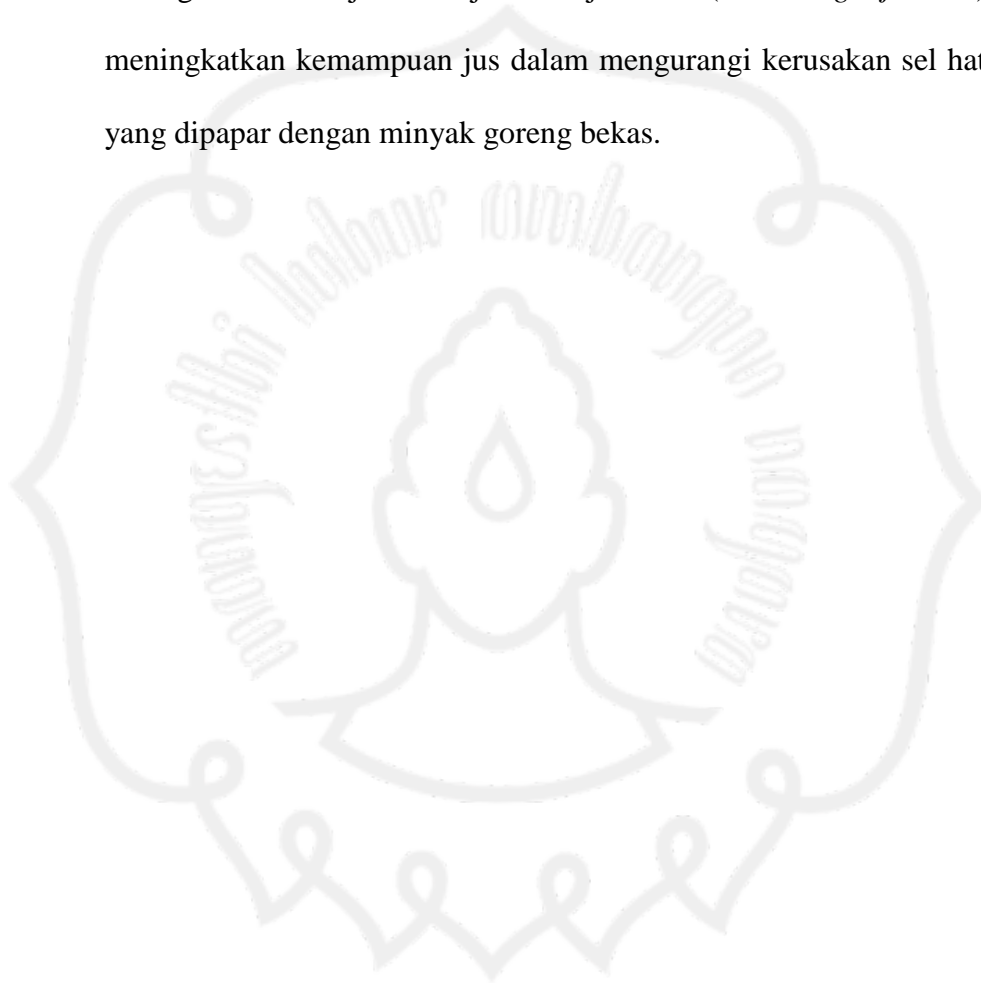


Keterangan : —————> : Memacu

-----> : Menghambat

### C. Hipotesis

1. Pemberian jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) dapat mengurangi kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas.
2. Peningkatan dosis jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* L.) dapat meningkatkan kemampuan jus dalam mengurangi kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini merupakan langkah awal dalam penelitian sebelum hasil penelitian diterapkan pada manusia (*trial clinic*). Peneliti memberikan perlakuan terhadap sampel yang berupa hewan coba di Laboratorium (Taufiqurrohman, 2003).

#### **B. Lokasi Penelitian**

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

#### **C. Subjek Penelitian**

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar berjenis kelamin jantan berusia 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram sebanyak 32 ekor. Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan rumus *Federer*

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

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

$$3(n-1) > 15$$

$$3n > 15+3$$

$$n > 6$$

(Purawisastra, 2001)

Keterangan:

k: Jumlah kelompok

n: Jumlah sampel dalam tiap kelompok (Arkeman dan David, 2005).

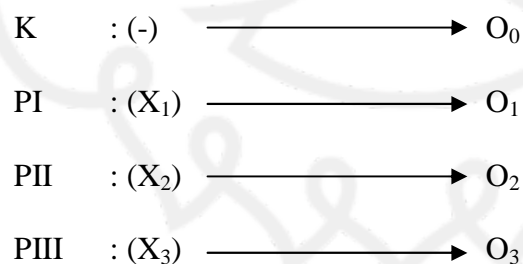
Pada penelitian ini peneliti membagi sampel menjadi 4 kelompok dimana tiap kelompok terdiri dari 8 tikus sehingga dalam penelitian ini membutuhkan 32 ekor tikus dari populasi yang ada.

#### D. Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel dilakukan secara *Accidental Sampling*.

#### E. Rancangan penelitian

Rancangan penelitian menggunakan *The Post Test Only Controlled Group's Design*.



Keterangan :

K : Kelompok kontrol yang hanya diberi diet standar tanpa diberi minyak goreng bekas dan tanpa diberi jus buah jambu biji merah. Pemberian aquades peroral sebanyak 0,7 ml/200 g BB tikus setiap hari selama 14 hari berturut-turut.

- PI : Kelompok perlakuan I yang diberi minyak goreng bekas peroral sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus perhari selama 14 hari berturut-turut tanpa diberi jus buah jambu biji merah.
- PII : Kelompok perlakuan II yang diberi minyak goreng bekas peroral sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus dan jus buah jambu biji merah sebanyak 7,2 g / hari pada hari ke-8 perlakuan selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke-14.
- PIII : Kelompok perlakuan III yang diberi minyak goreng peroral sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus dan jus buah jambu biji merah sebanyak 14,4 g / hari pada hari ke-8 perlakuan selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke-14.
- (-) : Pemberian aquades 0,7 ml / 200 g BB tikus setiap hari selama 14 hari berturut-turut.
- X<sub>1</sub> : Pemberian minyak goreng bekas peroral sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus perhari selama 14 hari berturut-turut.
- X<sub>2</sub> : Pemberian minyak goreng bekas peroral sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tkus setiap hari selama 14 hari dan mulai hari ke-8 diberi jus buah jambu biji merah dosis I selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke-14.
- X<sub>3</sub> : Pemberian minyak goreng bekas peroral sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus setiap hari selama 14 hari dan mulai hari ke-8 diberi jus buah jambu biji merah dosis II selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke-14.

- O<sub>0</sub> : Pengamatan jumlah inti sel hati piknosis, karyoreksis dan karyolisis dari 100 sel sentrilobuler hepar kelompok kontrol.
- O<sub>1</sub> : Pengamatan jumlah inti sel hepar yang *pyknosis*, *karyorrhesis*, dan *karyolisis* dari 100 sel di sentrilobuler hepar pada kelompok perlakuan I.
- O<sub>2</sub> : Pengamatan jumlah inti sel hepar yang *pyknosis*, *karyorrhesis*, dan *karyolisis* dari 100 sel di sentrilobuler hepar pada kelompok perlakuan II.
- O<sub>3</sub> : Pengamatan jumlah inti sel hepar yang *pyknosis*, *karyorrhesis*, dan *karyolisis* dari 100 sel di sentrilobuler hepar pada kelompok perlakuan III.

Pengamatan jumlah hepatosit yang mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhesis*, *karyolisis*) dilakukan pada hari ke-15 setelah perlakuan pertama dikerjakan.

## F. Instrumen dan bahan penelitian

### 1. Instrumen Penelitian

- a. Kandang hewan percobaan (tikus) 4 buah, masing-masing untuk 8 ekor tikus.
- b. Timbangan hewan
- c. Sonde lambung ukuran 1 ml
- d. Alat bedah hewan percobaan (*scalpel*, pinset, gunting, jarum, meja)



- e. Alat untuk pembuatan preparat histologi
- f. Mikroskop cahaya medan terang
- g. Gelas ukur volume 100 ml dan pengaduk
- h. Becker glass 250 cc
- i. Lampu spiritus

## 2. Bahan Penelitian

- a. Makanan hewan percobaan (pellet dan air PAM)
- b. Minyak goreng bekas
- c. Jus buah jambu biji merah
- d. Aquadest
- e. Bahan untuk pembuatan preparat histologis (pencetakan *Hematoxylin Eosin* / HE)

## G. Identifikasi dan Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. **Variabel bebas** : Pemberian jus buah jambu biji merah (*Psidium guajava* Linn.).

Jus buah jambu biji merah diberikan peroral dengan sonde lambung, dengan dosis 7,2 gram /hari selama 7 hari berturut-turut untuk kelompok perlakuan II dan dosis 14,4 gram/hari selama 7 hari berturut-turut untuk kelompok perlakuan III, dimulai pada hari ke-8 perlakuan setelah pemberian minyak goreng bekas (skala pengukuran ordinal). Dosis jus buah jambu biji merah diperoleh dengan mengacu pada dosis jus buah

jambu biji merah untuk menurunkan kadar kolesterol darah pada manusia (Rahmat dalam Saputra, 2007). Skala ukuran variabel ini adalah ordinal.

## 2. Variabel terikat : Kerusakan sel hati tikus.

Yang dimaksud dengan kerusakan sel hati tikus pada penelitian ini adalah gambaran mikroskopis inti sel hati tikus setelah dipapar dengan minyak goreng bekas dan diberi jus buah jambu biji merah.

Kerusakan sel hati tikus akibat pemaparan minyak goreng bekas. Kerusakan sel hati tikus diamati dari jumlah sel yang mengalami *pyknosis*, *karyorrhexis*, *karyolisis* yang dihitung dari 100 sel di zona I. Skala ukuran variabel ini adalah rasio.

Tanda-tanda kerusakan sel :

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

## 3. Variabel luar

### a. Variabel luar yang terkontrol :

- 1) Makanan dan minuman

Makanan yang diberikan berupa pelet dan air PAM yang tidak terbatas (skala pengukuran rasio).

2) Genetik

Tikus putih yang digunakan adalah galur Wistar (skala pengukuran nominal).

3) Jenis kelamin

Tikus berjenis kelamin jantan (skala pengukuran nominal).

4) Umur

Tikus berumur 2-3 bulan (skala pengukuran nominal).

5) Berat badan

Tikus dengan berat badan 150-200 gram (skala pengukuran rasio).

6) Suhu udara

Hewan percobaan ditempatkan di dalam ruangan dengan suhu berkisar antara 25-28°C (skala pengukuran interval).

**b. Variabel luar yang tidak terkendali :** Kondisi psikologis hewan percobaan dan keadaan awal hati tikus.

Kondisi psikologis dipengaruhi oleh lingkungan sekitar. Lingkungan yang terlalu gaduh / ramai, pemberian yang berulang kali dan perkelahian antar tikus dapat mempengaruhi kondisi psikologis tikus. Keadaan awal hati tikus tidak dapat dikendalikan dan peneliti tidak mungkin melakukan pemeriksaan hati tikus sebelum diberi perlakuan.

## H. Cara Kerja

### 1. Persiapan percobaan

#### a. Sampel

Sampel tikus sebanyak 32 ekor dilakukan pengelompokan secara random menjadi 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 8 ekor tikus. Sampel diadaptasikan di laboratorium Histologi selama 1 minggu. Satu hari setelah adaptasi, dilakukan penimbangan dan penanda untuk menentukan dosis.

#### b. Penentuan dosis jus buah jambu biji

Dosis jus buah jambu biji merah yang diberikan dihitung berdasarkan penelitian Rahmat dalam Saputra (2007) yang menyebutkan bahwa pemberian buah jambu biji merah pada manusia sebesar 400 g / hari dapat memberikan efek kadar kolesterol dalam darah. Sehingga dengan konversi, didapatkan dosis pada tikus adalah  $400 \text{ g / hari} \times 0,018 = 7,2 \text{ g / hari}$  buah jambu biji merah yang kemudian di juicer sampai antioksidan pada tikus :

Dosis I : 7,2 gram/hari

Dosis II : 14,4 gram/hari

Jus buah jambu biji merah dibuat setiap hari untuk menjaga kestabilan bahan.

### c. Pembuatan minyak goreng bekas

Minyak goreng dipanaskan pada suhu 150°C sebanyak 6 kali dan tiap kalinya selama 8 menit. Dosis minyak goreng bekas yang diberikan pada tikus sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel hati adalah sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus (Susanto, 2001).

## 2. Pelaksanaan percobaan

Percobaan mulai dilakukan pada minggu ke-2, percobaan berlangsung selama 14 hari berturut-turut.

Pengelompokan subjek :

- 1)  $X_0$  : Kelompok kontrol terdiri dari 8 ekor tikus, diberikan aquades peroral sebanyak 0,7 ml/200 g BB tikus selama 14 hari berturut-turut.
- 2)  $X_1$  : Kelompok perlakuan I terdiri dari 8 ekor tikus, diberi minyak goreng bekas sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus peroral selama 14 hari berturut-turut.
- 3)  $X_2$  : Kelompok perlakuan II terdiri dari 8 ekor tikus, diberi minyak goreng bekas sebanyak 0,42 ml / 200g BB tikus peroral setiap hari selama 14 hari, dimana mulai hari ke-8 perlakuan diberi jus buah jambu biji merah dengan dosis 7,2 g/hari selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke-14.
- 4)  $X_3$  : Kelompok perlakuan III terdiri dari 8 ekor tikus, diberi minyak goreng bekas sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus peroral setiap

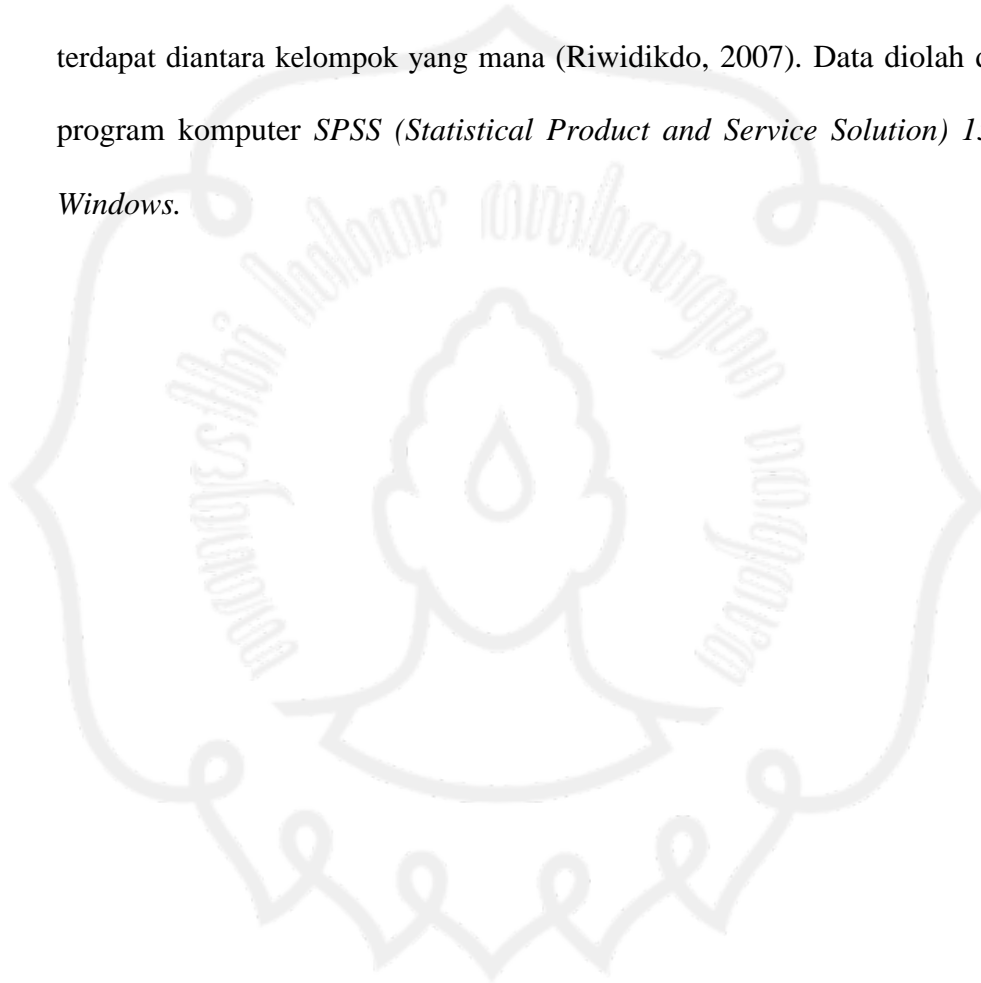
hari selama 14 hari, dimana mulai hari ke-8 perlakuan diberi jus buah jambu biji merah dengan dosis 14,4 g/hari selama 7 hari berturut-turut sampai hari ke-14.

### 3. Pengukuran hasil

Pada hari ke-15 setelah perlakuan pertama diberikan, semua hewan percobaan dikorbankan dengan cara *neck dislocation*. Organ hati diambil untuk dibuat preparat histologis dengan pengecatan HE dengan metode blok parafin. Lobus hati yang diambil adalah lobus kanan dan irisan untuk preparat dilakukan pada bagian tengah dari lobus tersebut untuk homogenitas sampel. Tiap preparat dibuat dengan ketebalan 7-10 mikron. Tiap hewan percobaan dibuat 2 preparat. Dari 2 preparat diambil 1 preparat secara random sehingga dari 32 hewan percobaan didapat 32 preparat. Pengamatan preparat dengan perbesaran 100 kali untuk mengamati seluruh lapangan pandang. Selanjutnya ditentukan daerah yang akan diamati, yaitu daerah zona I hati. Penentuan daerah zona I dilakukan secara random dan tiap preparat dipilih 1 daerah zona I. Selanjutnya pengamatan dengan perbesaran 1000 kali dilakukan untuk menghitung jumlah inti yang mengalami *pyknosis*, *karyorhexis*, dan *karyolisis* dari setiap 100 sel. Selanjutnya hasil dari masing-masing kelompok dibandingkan dengan uji *oneway ANOVA* dan jika terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.

## I. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan Kolmogorov-Smirnov untuk melihat distribusi data. Jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Oneway ANOVA* ( $\alpha = 0,05$ ), kemudian jika terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* ( $\alpha = 0,05$ ) untuk melihat letak perbedaan terdapat diantara kelompok yang mana (Riwidikdo, 2007). Data diolah dengan program komputer *SPSS (Statistical Product and Service Solution) 15.0 for Windows*.



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### A. Data Hasil Penelitian

Data hasil penelitian berupa data rasio, yaitu jumlah inti sel hati yang normal dan mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*) yang dihitung dari tiap 100 sel di zona I untuk setiap preparat. Hasil pengamatan inti sel hati normal dan yang mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*) untuk masing-masing kelompok perlakuan disajikan dalam table-tabel berikut :

**Tabel 1.** Jumlah inti sel hati normal dan yang mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*) dari 100 sel pada tiap preparat kelompok kontrol

Preparat	Jumlah sel hati normal	Inti sel hati yang rusak				Total
		Pyknosis	Karyorrhexis	Karyolisis	Jumlah	
1	73	17	5	5	27	100
2	72	14	8	6	28	100
3	71	19	7	3	29	100
4	69	23	3	5	31	100
5	69	18	9	4	31	100
6	68	24	5	3	32	100
7	67	19	7	7	33	100
8	66	26	6	2	34	100
Jumlah	555	160	50	35	245	800
Rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak				:	30,6	
SD				:	2,4	

Sumber : Data primer, 2009



Data dari tabel 1 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, jumlah inti sel hati yang normal adalah 555, jumlah inti sel yang mengalami kerusakan adalah 245, dan rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak adalah  $30,6 \pm 2,4$ .

**Tabel 2.** Jumlah inti sel hati normal dan yang mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*) dari 100 sel pada tiap preparat kelompok perlakuan I

Preparat	Jumlah sel hati normal	Inti sel hati yang rusak			Jumlah	Total
		Pyknosis	Karyorrhexis	Karyolisis		
1	41	18	35	6	59	100
2	38	25	32	5	62	100
3	37	30	28	3	63	100
4	36	20	35	9	64	100
5	34	17	37	12	66	100
6	33	29	31	7	67	100
7	31	21	45	3	69	100
8	31	28	33	8	69	100
Jumlah	281	188	276	55	519	800
Rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak				:	64,8	
SD				:	3,5	

Sumber : Data primer, 2009

Data dari tabel 2 menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan I, jumlah inti sel hati yang normal adalah 281, jumlah inti sel yang mengalami kerusakan adalah 519, dan rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak adalah  $64,8 \pm 3,5$ .

**Tabel 3.** Jumlah inti sel hati normal dan yang mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*) dari 100 sel pada tiap preparat kelompok perlakuan II

Preparat	Jumlah sel hati normal	Inti sel hati yang rusak				Total
		Pyknosis	Karyorrhexis	Karyolisis	Jumlah	
1	69	9	20	2	31	100
2	67	3	28	2	33	100
3	65	12	22	1	35	100
4	63	16	19	2	37	100
5	61	9	25	5	39	100
6	59	11	26	4	41	100
7	58	9	26	7	42	100
8	57	13	27	3	43	100
Jumlah	499	82	193	26	301	800
Rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak				:	37,6	
SD				:	4,3	

Sumber : Data primer, 2009

Data dari tabel 3 menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan II, jumlah inti sel hati yang normal adalah 499, jumlah inti sel yang mengalami kerusakan adalah 301, dan rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak adalah  $37,6 \pm 4,3$ .

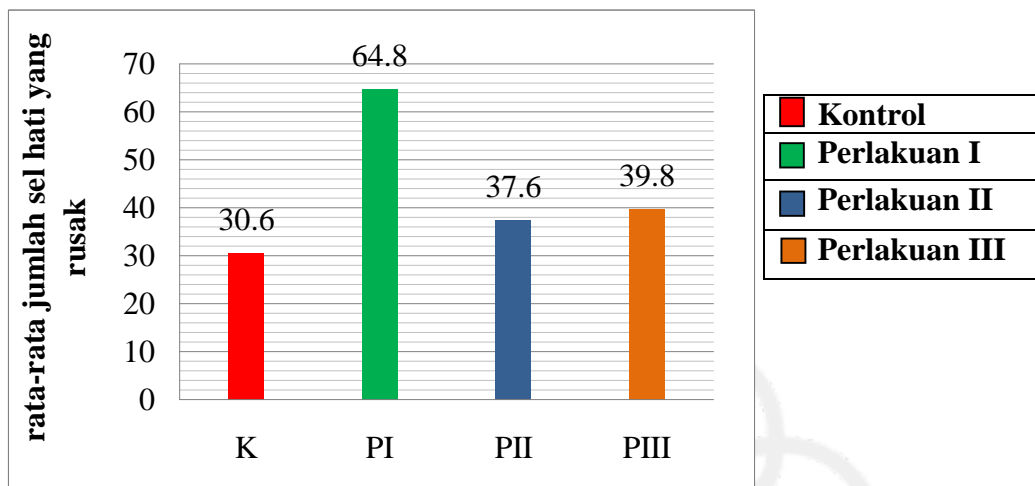
**Tabel 4.** Jumlah inti sel hati normal dan yang mengalami kerusakan (*pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*) dari 100 sel pada tiap preparat kelompok perlakuan III

Preparat	Jumlah sel hati normal	Inti sel hati yang rusak				Total
		Pyknosis	Karyorrhexis	Karyolisis	Jumlah	
1	66	5	28	1	34	100
2	65	3	29	3	35	100
3	64	9	27	0	36	100
4	63	10	26	1	37	100
5	58	11	30	1	42	100
6	57	4	37	2	44	100
7	55	8	34	4	45	100
8	54	7	37	2	46	100
Jumlah	481	57	248	14	319	800
Rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak				:	39,8	
SD				:	4,8	

Sumber : Data primer, 2009

Data dari tabel 3 menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan III, jumlah inti sel hati yang normal adalah 481, jumlah inti sel yang mengalami kerusakan adalah 319, dan rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak adalah  $39,8 \pm 4,8$ .

Dari hasil pada tabel 1, 2, 3 dan 4 maka dapat dibuat grafik yang menggambarkan rata-rata kerusakan pada empat kelompok tikus, yaitu sebagai berikut :



**Gambar 9.** Grafik rata-rata jumlah inti sel hati yang mengalami kerusakan pada empat kelompok tikus.

#### B. Analisis Data

Dari data rata-rata jumlah inti sel hati yang mengalami kerusakan pada kelompok kontrol, perlakuan I, perlakuan II, dan perlakuan III, mula-mula dilakukan uji distribusi normal dengan menggunakan Uji *Shapiro-Wilk*. Hasil Uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Setelah itu dilakukan Uji *Oneway ANOVA* ( $\alpha = 0,05$ ). Dari Uji *Oneway ANOVA* didapatkan hasil nilai  $p < 0,05$  sehingga terdapat perbedaan bermakna diantara empat kelompok tikus.

Pada perangkat uji statistik *Oneway ANOVA* dengan menggunakan program SPSS, didalamnya terdapat Uji Homogenitas Varian. Dari Uji Homogenitas varian ternyata nilai  $p < 0,05$  yang berarti bahwa varian data adalah tidak homogen, sehingga Uji *Post Hoc* yang dipilih untuk mengetahui

letak perbedaan antara empat kelompok tikus adalah Uji *Tamhane*. Dari Uji *Tamhane* ( $\alpha = 0,05$ ) diperoleh hasil seperti pada tabel 5 berikut ini :

**Tabel 5.** Ringkasan hasil uji *Tamhane* ( $\alpha = 0,05$ ) pada empat kelompok tikus

Kelompok	Nilai p	Perbedaan
K - PI	$p < 0,05$	bermakna
K - PII	$p < 0,05$	bermakna
K - PIII	$p < 0,05$	bermakna
PI - PII	$p < 0,05$	bermakna
PI - PIII	$p < 0,05$	bermakna
PII - PIII	$p > 0,05$	tidak bermakna

Sumber : Data primer, 2009

Dari tabel 5 terlihat perbedaan yang bermakna terdapat diantara kelompok K – PI, K – PII, K – PIII, PI – PII, dan PI – PIII. Perbedaan yang tidak bermakna terdapat diantara kelompok PII – PIII.

## BAB V

### PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelitian, diperoleh data mengenai rata-rata jumlah inti sel hati yang mengalami kerusakan. Data ini mula-mula diuji normalitas distribusinya dengan uji *Shapiro-Wilk*, dan hasilnya menunjukkan nilai  $p > 0,05$  yang berarti bahwa data berdistribusi normal. Data yang berdistribusi normal merupakan syarat bagi suatu data untuk diolah dengan uji *Oneway ANOVA*, selain skala ukurannya yang interval atau rasio.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan *Oneway ANOVA* ( $\alpha = 0,05$ ). Dari uji *Oneway ANOVA* didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna diantara empat kelompok. Untuk mengetahui letak perbedaan diantara kelompok yang mana, data selanjutnya diuji dengan uji *Post Hoc*. Karena dari uji Homogenitas Varian diperoleh hasil nilai  $p < 0,05$  atau varian data tidak homogen, maka jenis uji *Post Hoc* yang dipilih adalah uji *Tamhane* ( $\alpha = 0,05$ ). Dari uji *Tamhane* diperoleh hasil terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K – PI, K – PII, K – PIII, PI – PII, dan PI – PIII dan perbedaan yang tidak bermakna terdapat antara kelompok PII – PIII.

Perbedaan yang bermakna antara K – PI dimana rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak pada PI lebih banyak daripada K (Kontrol) menunjukkan bahwa pemberian minyak goreng bekas selama 14 hari berturut-turut dapat menyebabkan kerusakan pada inti sel hati tikus. Kerusakan inti sel hati dapat berupa *pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*. Sel yang mengalami *pyknosis* intinya kisut, basofil,

berwarna gelap dan batasnya tidak teratur. Sel yang mengalami *karyorrhexis* inti mengalami fragmentasi atau hancur dengan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Sel yang mengalami *karyolisis* yaitu kromatin basofil menjadi pucat, inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang begitu saja (Price and Wilson, 1990).

Kerusakan inti sel hati karena pemberian minyak goreng bekas dapat disebabkan karena minyak goreng dengan pemanasan berulang akan menghasilkan hidrogen peroksida yang berlebihan, senyawa-senyawa aldehid dan keton (Sibuea, 2004). Hidrogen peroksida yang terbentuk melalui reaksi Fenton akan bereaksi dengan senyawa dalam tubuh membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif (Ketaren, 1986). Radikal hidroksil akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Widjaja, 1997). Peroksidasi lipid menyebabkan destruksi membran, kemudian mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel (Kertawiguna, 1998). Menurut Wenas (1996), peroksidasi lipid juga dapat menyebabkan penekanan pompa  $Ca^{2+}$  mikrosom hati yang akan menyebabkan gangguan homeostasis. Keadaan tersebut mengakibatkan nekrosis hati karena tidak terbentuknya ATP pada sel hati yang berfungsi sebagai sumber energi. Nekrosis hati adalah perubahan morfologi sebagai akibat tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas letal. Tanda dari nekrosis dapat dilihat dengan jelas melalui perubahan yang terjadi pada inti sel. Pada jejas tahap lanjut tetapi reversibel, kromatin sering menggumpal pada membran inti (Robin *et al.*, 1995). Biasanya inti sel yang mati itu menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap dengan zat warna yang biasanya

digunakan oleh para ahli patologi. Proses ini dinamakan *pyknosis*, dan intinya disebut piknotik. Kemungkinan lain, inti dapat hancur, dan meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam sel. Proses ini disebut *karyorrhexis*. Akhirnya pada keadaan tertentu, inti sel yang mati kehilangan kemampuan untuk diwarnai dan menghilang, proses ini disebut *karyolisis* (Price dan Wilson, 2006). Berdasarkan penelitian Sumitro *et al.* (1998), pemberian minyak goreng bekas juga dapat menyebabkan nekrosis sel hati mencit.

Pada kelompok kontrol (K) terdapat inti sel hati yang mengalami kerusakan baik *pyknosis*, *karyorrhexis*, dan *karyolisis*. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya variabel luar yang tidak dapat dikendalikan yaitu keadaan awal hati dari tikus yang sebelum dilakukan perlakuan tidak dapat diketahui kondisinya. Mungkin ada beberapa hati tikus yang keadaannya sudah mengalami kelainan sebelum dilakukan perlakuan atau adanya infeksi selama perlakuan akibat pemberian air melalui kanul (Michroza, 2002). Selain itu faktor psikologis juga dapat mempengaruhi kesehatan hati tikus. Mungkin saat perlakuan tikus mengalami cemas, takut, dan stres sehingga menurunkan imunitas tikus dan mengganggu aktivitas hati dalam regenerasi sel hati.

Dari Uji *Tamhane* terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok PI–PII dan PI – PIII dimana rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak pada PII dan PIII lebih kecil daripada PI. Hal ini berarti bahwa pemberian jus buah jambu biji merah dapat mengurangi kerusakan inti sel hati tikus akibat pemberian minyak goreng bekas. Menurut Dalimartha (2000) buah jambu biji merah mengandung zat-zat antioksidan yang berupa flavonoid, vitamin C, vitamin A dan betacaroten.



Antioksidan tersebut dapat menghambat dan memperbaiki kerusakan sel hati akibat paparan radikal bebas dalam minyak goreng bekas dengan cara menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada tahap propagasi (Donatus, 2005). Flavonoid akan berikatan dengan radikal peroksil yang terbentuk pada saat terjadinya reaksi rantai pada proses peroksidasi lipid dan menyumbangkan 1 elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga rantai dapat diputus. Flavonoid juga mempunyai kemampuan untuk mengikat radikal hidroksil, sehingga akan mencegah terjadinya peroksidasi lipid (Middleton *et al.*, 2000). Beta karoten mampu menangkap oksigen reaktif dan radikal peroksil (Paiva dan Russel, 1999). Vitamin C mendonorkan elektron sebagai bagian dari atom hidrogen dan menangkap radikal bebas sebelum mereka dapat mengawali oksidasi LDL (Wardlaw dan Hampl, 2007).

Secara empirik buah jambu biji merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Efek antioksidan buah jambu biji telah diteliti oleh Rahmat (2006) yang hasil penelitiannya menyebutkan bahwa konsumsi jus buah jambu biji merah pada manusia sebesar 400 g/hari dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Penelitian lain oleh Saputra (2007) juga menyebutkan bahwa pemberian jus buah jambu biji merah 10 g/hari dapat mencegah terjadinya arteriosklerosis pada aorta tikus putih.

Perbedaan yang bermakna juga terlihat antara kelompok K–PII dan K–PIII dimana rata-rata jumlah inti sel hati yang rusak pada kelompok PII dan PIII lebih banyak daripada kelompok K. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian jus buah

jambu biji merah dengan dosis 7,2 g / hari dan 14,4 g /hari selama 7 hari berturut-turut belum dapat mengurangi kerusakan inti sel hati hingga seperti pada kelompok K. Adapun faktor yang mungkin dapat menyebabkan keadaan ini adalah besarnya dosis yang digunakan dan lama waktu pemberian jus buah jambu biji merah pada penelitian ini belum optimal.

Hasil Uji *Tamhane* memperlihatkan adanya perbedaan yang tidak bermakna antara PII – PIII. Hal ini berarti bahwa peningkatan dosis jus buah jambu biji merah dari 7,2 g / hari menjadi 14,4 g /hari belum dapat meningkatkan kemampuan jus buah jambu biji merah dalam mengurangi kerusakan inti sel hati akibat pemberian minyak goreng bekas. Dengan demikian hal ini perlu diteliti lebih lanjut, sehingga didapatkan dosis yang optimal dalam mengurangi kerusakan inti sel hati akibat pemberian minyak goreng bekas.

## **BAB VI**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Simpulan**

Setelah dilakukan analisis dan pembahasan, maka dapat diambil simpulan bahwa :

1. Pemberian jus buah jambu biji merah dengan dosis 7,2 g / hari dan 14,4 g / hari selama 7 hari mulai pada hari ke-8 sampai hari ke-14 berturut-turut dapat mengurangi jumlah kerusakan sel hati tikus yang dipapar dengan minyak goreng bekas dengan dosis sebanyak 0,42 ml / 200 g BB tikus selama 14 hari berturut-turut.
2. Peningkatan dosis jus buah jambu biji merah dari 7,2 g / hari menjadi 14,4 g /hari belum dapat meningkatkan kemampuan jus buah jambu biji merah dalam mengurangi kerusakan inti sel hati akibat pemberian minyak goreng bekas.

#### **B. Saran**

Saran yang dapat diajukan adalah perlunya dilakukan :

1. Penelitian dengan dosis dan lama pemberian jus buah jambu biji merah yang lebih bervariasi lagi sehingga diperoleh hasil yang optimal.
2. Penelitian dengan menggunakan zat aktif sebagai antioksidan yang telah dimurnikan dari buah jambu biji merah.
3. Penelitian dengan parameter selain parameter histologis misalnya parameter imunologis.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Achyad. D.E dan Rasyidah. R. 2000. *Jambu Klutuk (Psidium guajava L.)*.  
[http://www.asiamaya.com/jambu/isi/jambuklutuk\\_psidiumguajava.htm](http://www.asiamaya.com/jambu/isi/jambuklutuk_psidiumguajava.htm).  
(19 Agustus 2008)
- Anandito. 2000. *Minyak Jelantah*.  
[http://www.geocitis.com/anandito\\_2000/special/minyak\\_jelantah.htm](http://www.geocitis.com/anandito_2000/special/minyak_jelantah.htm).  
(12 Agustus 2008)
- Anthony. C.D. 2001. *A re-view of Guava (Psidium guajava)*.  
[http://www.dweckdata.com/Published\\_papers/Psidium\\_guajava.pdf](http://www.dweckdata.com/Published_papers/Psidium_guajava.pdf)  
(19 Agustus 2008)
- Ardiansyah. 2007. *Antioksidan dan Peranannya Bagi Kesehatan*.  
<http://islamicspace.wordpress.com/2007/01/24/antioksidan-dan-peranannya-bagi-kesehatan> (4 Agustus 2008)
- Astaqaulyah. 2006. *Mekanisme Kerja Beberapa Antioksidan*.  
<http://astaqaulyah.com/2006/04/17/mekanisme-kerja-beberapa-antioksidan> (19 Agustus 2008)
- Astawan. M. 2006. *Vitamin C Terbaik dari Jambu Biji*.  
<http://www.gizi.net>. (19 Agustus 2008)
- Bagiada. A. 1995. Radikal Bebas dan Antioksidan. *Jurnal Kedokteran Universitas Udayana* 26 (89). Penerbit Unud. pp : 136-139.
- Bergman. R.A., Afifi. A.K., and Heidger. P.M. 1996. *The Digestive System*. In :  
Saunders Text and Review Series Histology. Philadelphia: W.B. Saunders.  
p : 208
- Budiarso. Iwan. 2003. *Minyak Kelapa dan Urin Obat Alternatif untuk HIV/AIDS*.  
<http://www.medikaholistik.com> (1 November 2009)
- Copper. K.H. 1994. *Sehat Tanpa Obat : Empat Langkah Revolusi Antioksidan yang Mengubah Hidup Anda*. Bandung : Penerbit Kaifa
- Dalimartha. S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta : Trubus Agriwidya. pp : 71-77
- Donatus. I.A. 2005. *Toksikologi Dasar Edisi 2*. Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. pp : 108-110, 132-133.

- Fife. B. 2001. *The Healing Miracles of Coconut Oil*.  
[http:// www.grainmilis.com.au/prod/84.htm](http://www.grainmilis.com.au/prod/84.htm) (12 Agustus 2008)
- Gitawati. R. 1995. Radikal bebas sifat dan peran dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. 102. pp: 33-36
- Gotama. J.B. dkk. 1999. *Inventaris Tanaman Obat Berharga Indonesia V*.  
Jakarta: Depkes
- Guyton. A.C. and Hall. Jhon E. 1995. *Textbook of Medical Physiology*. 9<sup>th</sup> ed.  
Philadelphia: WB Saunders. pp: 1103-1107
- Halliwell. B and Gutteridge. J.M.C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*.  
New York : Oxford University Press
- Harborne. J.B. 1987. *Metode fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. 2<sup>th</sup> ed. Diterjemahkan oleh Padmawinata K., dan Sudiro I.  
Bandung : ITB. pp: 49-109.
- Hariyadi. P. 2005. *Jambu Biji, 'Gudang' vitamin C*.  
<http://www.ayahbunda-online.com> (12 Agustus 2008)
- Jansen. L. 1997. Radikal Bebas pada Eritrosit dan Lekosit. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*. 116: 49-52.
- Jones. A.L. 1993. *Anatomy of the Normal Liver*. In : Zakimand Bayer;  
Hepatology, A Text Book of Liver Disease. W.B. Saunders. Philadelphia.  
p : 14
- Junqueira. L.C dan Carneiro. J. 1995 *Histologi Dasar*. Alih Bahasa: Adji Dharma.  
Jakarta : penerbit Buku Kedokteran EGC. Pp: 342-354.
- Junqueira. L.E., Carniero. J., dan Kelley. R.O. 1995. *Histologi Dasar*. Alih Bahasa  
: Jan Tambayong. Jakarta : EGC. pp : 383-7.
- Kardinan. A. dan Kusuma. F.R. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Jakarta: Agro Media Pustaka. pp : 10-11.
- Kartawiguna. E. 1998. Vitamin yang dapat Berfungsi sebagai Antioksidan.  
*Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran USAKTI*. 17(1), Januari 1998.
- Ketaren. S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI-PRESS. pp : 105-31.

- Leeson. C.R., Leeson. T.S., and Paparo. A.A. 1998. *Texbook of Histologi*. Philadelphia: W. B Saunders. pp : 383-96.
- Michroza. A.A. 2002. *Pengaruh Pemberian Air Rebusan Temulawak (curcuma xanthorrhiza ROXB) terhadap Hepatotoksik Minyak Goreng Bekas*. Skripsi. Hal : 1
- Middleton. E., Kandaswari. C., and Theoharides. T.C. 2000. *The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells : Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer*.  
<http://pharmrev.aspetjournal.org/cgi/content/full> (12 Agustus 2008)
- Miller. A.L. 2004. *Antioxidant Flavonoids : Structure, Function and Clinical Usage*.  
<http://www.thorne.com/pdf/journal/1-2/flavonoids.pdf> (12 Agustus 2008)
- Moore. K.L. 1992. *Clinically Oriented Anatomy*. 3<sup>rd</sup> ed. Canada : William & Wilkins.
- Murti. B. 2006. *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hal:136-137
- Muchlisah F. 2004. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta : Penebar Swadaya. pp 23-25
- Ngatidjan. 1991. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Yogyakarta : Penerbit Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada. P: 94.
- Paiva. S.A.R. dan Russel. R.M. 1999.  $\beta$ -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*. **18** (5), 426-433
- Pdpersi. 2004. *Obat tradisional : Jambu biji (Psidium guajava L.)*. Available in :  
URL [http://www.pdpersi.co.id/pusat data & informasi PERSI.htm](http://www.pdpersi.co.id/pusat_data_&_informasi_PERSI.htm)  
(12 Agustus 2008)
- Pokorny J.dkk. 2001. *Antioksidan in Food : Practical Applications*. New York : CRC Press
- Price. S.A. and Wilson. L.M. 1994. *Patofisiologi. Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. 2<sup>th</sup> ed. Alih Bahasa : Adji Dharma. Jakarta: EGC. pp : 36-474
- Purawisastra. 2001. *Penelitian Pengaruh Isolat Galaktomanan Kelapa Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Kelinci*.

[http://digilibekologi.litbang.depkes.go.id/office.php?m=bookmark&id=j\\_kpkbppk-gdl-g\\_rey-2001-suryana-108-galaktomanan](http://digilibekologi.litbang.depkes.go.id/office.php?m=bookmark&id=j_kpkbppk-gdl-g_rey-2001-suryana-108-galaktomanan) (12 November 2009)

Rahmat, Asmah *et al.* 2006. The Effect of Guava (*Psidium guajava*) Consumption on Total Antioxidant and Lipid Profile in Normal Male Youth African. *Journal of Food Agriculture Nutrition and Development* Volume 6 no.2

Riwidikdo, H. 2007. *Statistik Kesehatan*. Yogyakarta : Mitra Cendekia. p : 14

Robin, S.L and Kumar, V. 1995. *Buku ajar Patologi I dan II*. 4<sup>th</sup> ed. Jakarta: EGC. pp : 14, 299-302.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB. Bandung. pp : 191-216

Saputra, M.A. 2007. *Pengaruh Jus Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.) Terhadap Kejadian Aterosklerosis Pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) yang Diberi Diet Tinggi Lemak*. Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Kedokteran UGM.

Shirly, W. 1997. Antioksidan : “Pertahanan Tubuh terhadap Efek Oksidan dan Radikal Bebas”. *Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran Usakti* 16(1).

Sibuea, P. 2004. *Antioksidan, Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*  
[http : // www.sinarharapan.co.id/ipitek/kesehatan.2004/0130/kes-2html](http://www.sinarharapan.co.id/ipitek/kesehatan.2004/0130/kes-2html)  
(7 November 2008).

Sofia, D. 2005. *Antioksidan dan Radikal bebas*.  
[http:// chem-is-try.org/artikel-kimia/berita/antioksidan\\_dan\\_radikal\\_babas/](http://chem-is-try.org/artikel-kimia/berita/antioksidan_dan_radikal_babas/)  
(20 Juli 2009).

Some, H. 2002. *Radikal bebas dan Antioksidan*.  
[http: // www.balipost.co.id/prod/84.htm](http://www.balipost.co.id/prod/84.htm) (7 November 2008).

Sudarsono. 2002. *Tanaman Obat II : Hasil Penelitian, sifat-sifat dan penggunaan*. Yogyakarta : Pusat studi obat tradisional

Sumitro, S., Dadang, K., Lutfiralda., dan Deswati, F. 1998. Perubahan Struktur Histologi Hati Mencit (*Mus musculus* L.). yang Dicekok Minyak Kelapa Bekas Gorengan. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 48(3) pp : 114-20.

Supriadi dkk. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia : Penggunaan dan Khasiatnya*. Jakarta : Pustaka Populer Obor. pp: 34-35

- Susanto, A.E. 2001. *Pengaruh Pemberian Minyak Kelapa Sawit Curah Setelah Pemanasan Berulang pada Struktur Histologis Hati mencit*. Skripsi. Hal : 14-5.
- Syamsuhidayat, S.S.dkk. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta : Depkes RI. pp : 484-485
- Tabulampot. 2007. *Khasiat Jambu Biji*. <http://tabulampot.wordpress.com>. (12 Agustus 2008)
- Taufiqurrohman, MA. 2003. *Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Klaten : CSGF.p:69
- Taylor, L. 1998. *Herbal Secrets of the Rainforest*. In: Meet the Plant. National Tropical Botanical Garden. Available in : URL [http://www.ntbg.org/Psidium guajava Plant Data.htm](http://www.ntbg.org/Psidium_guajava_Plant_Data.htm).(12 Agustus 2008)
- Thomas, A.N.S. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta : Kanisius. pp: 92-95
- Wardlaw, G.M. and Hampl, J.S. 2007. *Perspectives Nutrition* . 7<sup>th</sup> ed. New York : McGraw-Hill.
- Wenas, N.T. 1996. *Kelainan Hati Akibat Obat*. dalam : Sjaifoellah Noer Ilmu Penyakit Dalam Jilid 1, Edisi 3, Balai Penerbit FK UI, Jakarta. pp : 364-365.
- Wijaya, A. 1996. *Radikal bebas dan parameter status antioksidan*. Forum diagnosticum no. 1.
- Widjaja, S. 1997. Antioksidan : Pertahanan Tubuh terhadap Efek Oksidan dan Radikal Bebas. *Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran USAKTI*. 16(1), Januari 1997. Hal : 1662.
- Wikipedia. 2008. *Vitamin C*. [http://id.wikipedia.org/wiki/vitamin\\_C](http://id.wikipedia.org/wiki/vitamin_C)(20 Juli 2009)
- Wikipedia. 2008. *Vitamin A*. [http://id.wikipedia.org/wiki/vitamin\\_A](http://id.wikipedia.org/wiki/vitamin_A)(20 Juli 2009)
- Wikipedia. 2008. *Flavonoid*. <http://id.wikipedia.org/wiki/flavonoid> (20 Juli 2009)
- Wikipedia. 2009. *Karbonil*. <http://id.wikipedia.org/wiki/karbonil> (20 Juli 2009)
- Wikipedia. 2009. *Peroksida*. <http://id.wikipedia.org/wiki/peroksida> (20 Juli 2009)
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. pp : 84, 95, 105-10



