

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK BUAH MERAH (*Pandanus
Conoideus*) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT**

**Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Dipajan Sinar
Ultraviolet**

Karya Tulis Ilmiah
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar sarjana kedokteran



Diajukan Oleh :

Tris Budi Raharyo

01.206.5312

Kepada

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2010

PERP. UNISSULA

KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK BUAH MERAH (*Pandanus
Conoideus*) TERHADAP JUMLAH ERITROSIT**

**Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Dipajan Sinar
Ultraviolet**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Tris Budi Raharyo

01.206.5312

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 25 Pebruari 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



dr. Danis Pertiwi, M.Si. Med. Sp.PK

Anggota Tim Penguji



dr. H. Sampurna, M.Kes

Pembimbing II



dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes



dr. H. Joko Wahyu, M.Kes

Semarang, Maret 2010
Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. dr. H. Taufiq R. Nashun, M.Kes, Sp.And

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.

Karya tulis ilmiah yang berjudul “pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit studi eksperimen pada tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet” disusun untuk memenuhi persyaratan dalam mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Selesainya penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M. Kes, Sp.And, selaku dekan fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah mengizinkan penyusunan karya tulis ilmiah ini.
2. dr. Danis Pertiwi, M.Si, Med, Sp.PK dan dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes, selaku pembimbing yang telah membimbing dan menempa dengan segenap ilmu, waktu dan tenaga dalam menyusun karya tulis ilmiah ini.
3. Kedua orang tuaku tercinta yang selalu sayang, selalu mendoakanku, memberi dukungan, perhatian, dan nasehatnya

4. Kakak dan adikku tercinta Suheri Hamzah, ST dan Febrian Tri Wibowo,
Terima kasih atas dukungan dan doanya
5. Ismatul Maula yang senantiasa ada dalam kesulitan dan kebahagiaan penulis
6. Teman-temanku Rully, Sang Aji, dan teman-teman team poker, semua teman
Lab Patologi Klinik dan semua teman yang tidak mungkin penulis sebutkan
satu persatu terima kasih atas dukungan dan doanya
7. Petugas di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang, terima kasih
atas bantuan dan arahnya selama penulis melakukan penelitian.

Semoga amal baik yang diberikan mendapatkan imbalan dari Allah SWT.
Akhirnya dengan segala kekurangan yang ada, Penulis berharap KTI ini dapat
memberikan sumbangan ilmu pengetahuan.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Semarang, Maret 2010

Penulis

DAFTAR ISI

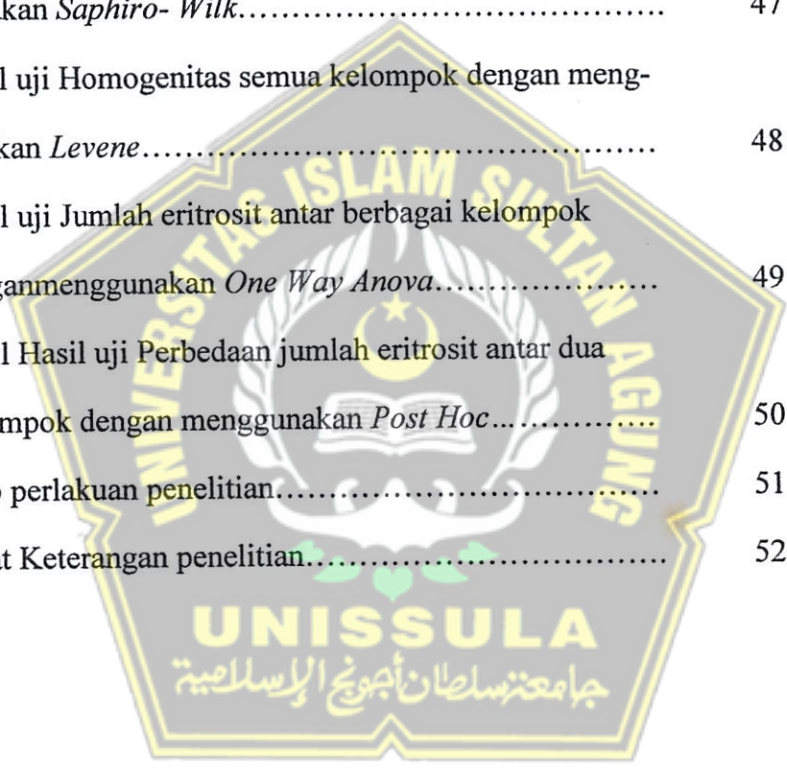
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
INTISARI.....	x
BAB. I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat.....	4
BAB. II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Sel Darah Merah.....	5
2.1.1. Definisi.....	5
2.1.2. Eritropoiesis.....	5
2.1.3. Struktur dan fungsi sel darah merah (Eritrosit).....	6
2.1.4. Jumlah sel darah merah (Eritrosit).....	7
2.1.5. Faktor yang mempengaruhi jumlah eritrosit.....	8
2.1.5.1 Letak Geografis.....	8
2.1.5.2. Ras Kulit.....	8

2.1.5.3. Asap Rokok.....	9
2.1.5.4. Obat-obatan dan bahan kimia.....	10
2.1.5.5. Trauma Fisik.....	11
2.1.6. Tolok Ukur kerusakan eritrosit.....	11
2.1.6.1. Jumlah Eritrosit.....	11
2.1.6.2. Fragilitas Osmotik Eritrosit.....	11
2.1.6.3. Jumlah Retikulosit.....	12
2.2. Sinar ultraviolet.....	13
2.2.1. Definisi.....	13
2.2.2. Klasifikasi.....	13
2.2.3. Sumber Radiasi Sinar Ultraviolet.....	13
2.2.4. Dampak Sinar ultraviolet.....	14
2.2.5. Sinar ultraviolet sebagai radikal bebas.....	15
2.3. Minyak Buah Merah.....	16
2.3.1. Definisi.....	16
2.3.2. Taksonomi.....	16
2.3.3. Kandungan Buah Merah.....	17
2.3.4. Antioksidan.....	17
2.3.5. Buah Merah Sebagai Antioksidan.....	19
2.4. Mekanisme Minyak Buah Merah (<i>Pandanus Conoideus</i>) Terhadap Eritrosit yang dipajan Sinar Ultraviolet.....	19
2.5. Kerangka Teori.....	23
2.6. Kerangka Konsep.....	24

2.7. Hipotesis	24
BAB. III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. Jenis Penelitian.....	25
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	25
3.2.1. Variabel Penelitian.....	25
3.2.1.1 Variabel Bebas.....	25
3.2.1.2. Variabel Tergantung.....	25
3.2.2. Definisi Operasional.....	25
3.3. Populasi dan Sampel.....	26
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	27
3.5. Cara Penelitian.....	28
3.6. Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.7. Analisa Hasil.....	31
3.8. Alur Penelitian.....	32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1. Hasil penelitian.....	33
4.2. Pembahasan.....	35
4.3. Keterbatasan Penelitian.....	39
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan.....	40
5.2. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	44

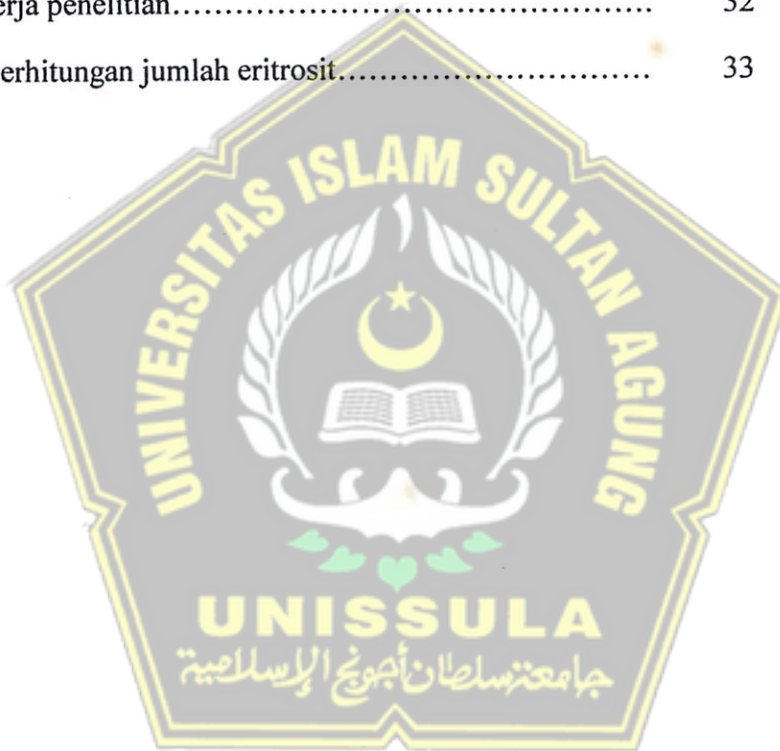
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil penghitungan jumlah eritrosit.....	45
Lampiran 2 Hasil statistic deskriptif jumlah eritrosit tikus putih jantan galur wistar pada berbagai kelompok.....	46
Lampiran 3 Hasil uji Normalitas semua kelompok dengan meng- gunakan <i>Saphiro- Wilk</i>	47
Lampiran 4 Hasil uji Homogenitas semua kelompok dengan meng- gunakan <i>Levene</i>	48
Lampiran 5 Hasil uji Jumlah eritrosit antar berbagai kelompok dengan menggunakan <i>One Way Anova</i>	49
Lampiran 6 Hasil Hasil uji Perbedaan jumlah eritrosit antar dua kelompok dengan menggunakan <i>Post Hoc</i>	50
Lampiran 4 Foto perlakuan penelitian.....	51
Lampiran 5 Surat Keterangan penelitian.....	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Perubahan oksigen menjadi radikal bebas.....	20
Gambar 2 Skema kerangka teori.....	23
Gambar 3 Skema Kerangka konsep.....	24
Gambar 4 Alur kerja penelitian.....	32
Gambar 5 Hasil perhitungan jumlah eritrosit.....	33



INTISARI

Minyak buah merah mengandung senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas. Namun beberapa praktisi menyatakan bahwa minyak buah merah tidak mengandung antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Subyek penelitian adalah 24 ekor tikus putih jantan galur wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok secara *random*, tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan. Kelompok I diberi diet standart dan aquadest, Kelompok II diberi diet standart dan aquadest serta dipajan sinar ultraviolet, Kelompok III diberi diet standart dan minyak buah merah 0,3 ml serta dipajan sinar ultraviolet. Dan kelompok IV diberi diet standart dan vitamin E serta dipajan sinar ultraviolet. Keempat kelompok kemudian dihitung jumlah eritrosit setelah 28 hari.

Pada uji *Anova* diketahui minyak buah merah mempunyai pengaruh terhadap jumlah eritrosit tikus putih jantan yang dipapar sinar ultraviolet, dengan rerata kelompok I $7,29 \pm 0,30$, kelompok II $6,23 \pm 0,17$, kelompok III $7,18 \pm 0,31$, dan kelompok IV $7,23 \pm 0,29$. Sedangkan hasil uji *Post Hoc Test* didapatkan perbedaan jumlah eritrosit yang signifikan antara kelompok K2 tanpa mendapat minyak buah merah dan kelompok K3 yang mendapat minyak buah merah.

Dapat disimpulkan bahwa minyak buah merah mempunyai efek menghambat turunnya jumlah eritrosit pada tikus jantan galur wistar akibat pajanan sinar ultraviolet.

Kata Kunci : Minyak buah merah, Sinar ultraviolet, Eritrosit

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Buah merah sudah dikenal oleh penduduk Suku Dhani di Memberamo, Papua sejak ribuan tahun yang lalu. Oleh penduduk, buah merah ini dijadikan campuran makanan sehari-hari (Wiryanta, 2006). Minyak buah merah mengandung senyawa antioksidan yaitu tokoferol, alfatokoferol, dan betakaroten yang dapat menangkal radikal bebas. Ketiga senyawa inilah yang membantu proses penyembuhan penyakit Kanker, Tumor, dan HIV/AIDS. Senyawa antioksidan ini bekerja menekan dan membunuh sel-sel kanker yang berbahaya. Namun demikian beberapa praktisi kesehatan menyatakan bahwa minyak buah merah belum dapat menyembuhkan penyakit karena belum ada uji klinis yang dapat dipertanggungjawabkan. Penelitian efek antioksidan minyak buah merah terhadap eritrosit yang diberi stress oksidatif menyatakan bahwa minyak buah merah tidak melindungi eritrosit yang diberi stress oksidatif (Ika, 2007).

Sampai saat ini penelitian tentang khasiat dan manfaat minyak buah merah untuk pengobatan masih belum selesai. Secara klinis pembuktiannya belum dilakukan. Meskipun demikian, secara empiris tidak sedikit penderita penyakit yang sudah merasakan manfaat buah ini. Beberapa di antaranya ada yang mengkonsumsi buah ini dengan mengkombinasikan bersama obat

dokter, ada yang mencampurnya dengan herbal lain, dan ada pula yang mengkonsumsinya secara tunggal. Fenomena ini kemudian mengundang pro dan kontra dari berbagai kalangan masyarakat. Ada yang langsung percaya dan menggunakannya untuk pengobatan, ada yang melakukan penelitian, dan ada pula yang masih ragu-ragu akan kemampuan komoditas perkebunan ini. Bagaimanapun kontroversi yang berkembang, di lapangan tidak sedikit penderita aneka penyakit yang sembuh dengan minyak buah merah dan akhirnya berani memberikan kesaksian akan kemampuan *Pandanus conoideus* ini kepada masyarakat. (Wiryanta, 2006).

Sinar ultraviolet membentuk radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan kulit, mata, dan kerusakan pada tingkat molekuler (Sofia, 2007). Paparan ultraviolet dapat menyebabkan pembentukan molekul oksigen reaktif, yakni oksigen singlet (1O_2). Molekul 1O_2 selanjutnya dapat mengoksidasi secara acak berbagai komponen biomolekul seperti lipid, protein dan DNA. Oksidasi lipid oleh 1O_2 dapat menyebabkan peroksidasi lipid, *cross linking* pada protein, serta fragmentasi pada DNA (Halliwell, 1999). Pada sel darah merah radikal bebas yang dibentuk sinar ultraviolet dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi membran eritrosit dan dalam keadaan ekstrim dapat menyebabkan pecahnya eritrosit (Lautan, 1997). Buah merah dikenal sebagai antioksidan yang mengandung tokoferol (Vitamin E), alfatokoferol, dan betakaroten yang berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas, Revianti (2006) dalam

penelitiannya menyatakan bahwa buah merah dapat menetralsisir radikal bebas.

Pada penelitian ini akan dilakukan pajanan ultraviolet yang bersumber dari lampu ultraviolet C 11 watt selama 28 hari, yang dapat menurunkan jumlah eritrosit. Menurut Suhartono (2004), pajanan ultraviolet yang bersumber dari lampu Tl flouresence 20 watt dapat menurunkan jumlah eritrosit dalam waktu 60 hari. Dalam penelitian ini digunakan tikus jantan galur wistar sebagai hewan coba karena tikus merupakan hewan coba yang bersifat universal, lebih besar dari mencit sehingga lebih disukai dalam penelitian, dan mudah dipegang (Kusumawati, 2004). Pemberian buah merah diharapkan dapat mencegah efek samping radikal bebas yang ditimbulkan sinar ultraviolet yang bisa digunakan baik di bidang kesehatan maupun bidang lain.

1.2. Perumusan Masalah

Sesuai dengan uraian pada latar belakang permasalahan di atas maka dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

”Apakah terdapat pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet ? ”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.1.1. Mengetahui jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang mendapat diet standar.
- 1.3.1.2. Mengetahui jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet tanpa pemberian minyak buah merah.
- 1.3.1.3. Mengetahui jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet dan diberi minyak buah merah
- 1.3.1.4. Mengetahui jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet dan diberi vitamin E
- 1.3.1.5. Membandingkan jumlah eritrosit antara kelompok yang terpajan sinar ultraviolet tanpa pemberian minyak buah merah dengan eritrosit kelompok yang terpajan sinar ultraviolet dan diberi minyak buah merah

1.4. Manfaat Penelitian

- 1.3.2. Memberikan informasi tentang pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit tikus yang dipajan sinar ultraviolet
- 1.3.3. Memperkaya data ilmiah tentang data obat tradisional Indonesia, dan sebagai dasar untuk melakukan penelitian lebih lanjut dalam rangka meningkatkan sumber daya alam di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSAKA

2.1. Sel darah merah

2.1.1. Definisi

Eritrosit adalah jenis sel darah yang paling banyak dan berfungsi membawa oksigen ke jaringan-jaringan tubuh, berbentuk piringan yang pada bagian tengah di kedua sisinya mencekung, dengan bagian tengah menggepeng bukan berlubang (Sherwood, 2001). Eritrosit terdapat di dalam sumsum tulang yang didalamnya terdapat banyak *sel pluripoten hemopoietik stem* (Guyton & Hall, 1996).

2.1.2. Eritropoiesis

Eritropoiesis adalah suatu proses pembentukan eritrosit di sumsum tulang. Eritropoiesis dikontrol oleh hormon eritropoietin yang berasal dari ginjal. Apabila terdapat penurunan penyaluran O₂ ke ginjal maka ginjal akan merangsang hormon eritropoietin untuk dikeluarkan ke dalam darah, dan hormon ini kemudian merangsang eritropoiesis di sumsum tulang. Bila penyaluran O₂ ke ginjal telah normal, sekresi eritropoietin dihentikan sampai diperlukan kembali (Sherwood, 2001).

Persiapan sebuah eritrosit untuk keluar dari sumsum tulang melibatkan beberapa langkah, yaitu sintesis hemoglobin dan pengeluaran nucleus dan organel (Hoffbrand dkk, 2005). Karena

eritrosit tidak dapat membelah diri untuk menggantikan jumlah eritrosit yang ada, maka sel-sel tua yang ruptur harus diganti oleh sel baru yang dihasilkan oleh sumsum tulang (Sherwood, 2001). Eritrosit hanya mampu bertahan rata-rata 120 hari. Selama rentang waktu hidupnya yang singkat yaitu empat bulan, eritrosit mengembara sekitar 700 mil ketika bersirkulasi melalui pembuluh darah (Sherwood, 2001).

2.1.3. Struktur dan fungsi sel darah merah (Eritrosit)

Kebanyakan sel darah merah (eritrosit) digambarkan sebagai cakram bikonkaf tanpa inti (Junqueira, 2002). Eritrosit memiliki diameter kira-kira 8 mikron, pada bagian yang tebal, ketebalannya 2 mikron, sedangkan pada bagian tengah, ketebalannya 1 mikron. Volume rata-rata eritrosit adalah sebesar 83 mikron kubik (Guyton & Hall, 1996).

Eritrosit dikelilingi oleh suatu plasmalema, yang terdiri atas lebih kurang 40% lipid (fosfolipid, kolesterol, glikolipid, dan sebagainya), 50% protein dan 10% karbohidrat (Junqueira, 2002). Lipid yang menyusun eritrosit ini rentan terhadap serangan radikal bebas (Trilaksani, 2003)

Di bagian dalam, eritrosit mengandung larutan 33% hemoglobin, yaitu protein pembawa oksigen, yang berperan pada sifat asidofil eritrosit. Selain itu, terdapat enzim dari jalur lintas glikolitik dan heksosa-monofosfat dari metabolisme glukosa (Junqueira, 2002).

Fungsi utama eritrosit adalah mengangkut oksigen dalam darah yang terutama dilakukan oleh hemoglobin (Sherwood, 2001).

Menurut Wardani (2006) terdapat perbedaan fragilitas membran eritrosit yaitu keadaan eritrosit yang telah melebihi volume kritisnya pada larutan hipotonis sehingga eritrosit akan pecah antara tikus yang dipajan sinar ultraviolet C 30 watt selama 14 hari dengan tikus tanpa dipajan sinar ultraviolet. Pada penelitian ini dilakukan pajanan ultraviolet yang bersumber dari lampu ultraviolet C 11 watt selama 28 hari karena dapat menurunkan jumlah eritrosit sesuai dengan penelitian Wardani (2004) diatas dengan penambahan waktu penelitian menjadi 28 hari. Menurut Widmann (1994), eritrosit dapat lisis dalam waktu 28-35 hari akibat zat kromium, Menurut Suranto (2008) pajanan ultraviolet yang bersumber dari lampu T1 flouresence 25 watt dapat menurunkan jumlah eritrosit secara bermakna dalam waktu 30 hari. Pajanan sinar ultraviolet menyebabkan penekanan proses pembentukan sel darah sehingga jumlah sel-sel darah akan menurun dalam waktu 2- 4 minggu. (Alatas, 2003)

2.1.4. Jumlah sel darah merah (Eritrosit)

Jumlah normal eritrosit dalam darah kira-kira 3,9-5,5 juta/mikroliter pada wanita dan 4,1-6 juta/mikroliter pada pria (Junqueira, 2002). Jumlah eritrosit pada tikus kira-kira 5-12 juta/mikroliter (Kusumawati, 2004). Jumlah eritrosit ini bervariasi pada kedua jenis kelamin dan pada perbedaan umur, juga pada

tempat ketinggian seseorang akan mempengaruhi jumlah eritrosit (Guyton & Hall, 1996).

2.1.5. Faktor yang mempengaruhi jumlah eritrosit

2.1.5.1. Letak geografis

Hidup di tempat dengan ketinggian yang berlainan dapat mempengaruhi berbagai jenis zat dalam darah. Orang yang tinggal di daerah pegunungan yang tinggi (*high altitude*) dimana tekanan udara lebih rendah, biasanya setelah melewati masa adaptasi, mempunyai kadar hemoglobin lebih tinggi dan jumlah eritrosit yang lebih besar daripada orang yang hidup di dataran rendah (Guyton & Hall, 1996).

2.1.5.2. Ras Kulit

Varian G6PD yang paling sering menimbulkan kelainan adalah varian A. Varian ini terdapat pada 9-13 % populasi kulit hitam di Amerika. Pada defisiensi Glukosa-6-phosphat dehidrogenase (G6PD), eritrosit sangat rentan terhadap kerusakan oksidatif (Lautan, 1997). Glukosa-6-phosphat dehidrogenase (G6PD) adalah satu-satunya sumber NADPH dalam eritrosit, dan NADPH digunakan oleh methemoglobin reduktase untuk mempertahankan besi hemoglobin dalam keadaan Fe^{2+} (Hoffbrand dkk, 2005). Dengan adanya defisiensi Glukosa-6-phosphat

dehidrogenase (G6PD) eritrosit tidak mampu menyediakan NADPH yang cukup bagi reduksi Oxidized Glutathion menjadi reduced Glutathion (GSH) yang selanjutnya dapat mengganggu proses penetralan H_2O_2 dan radikal oksigen lainnya. Senyawa-senyawa radikal ini dapat menyebabkan kerusakan membran eritrosit, Hb teroksidasi dan protein mengalami presipitasi di dalam eritrosit, membentuk apa yang disebut *Heinz bodies*. Adanya *Heinz bodies* di dalam eritrosit menunjukkan bahwa eritrosit sedang menderita *stress oksidatif*. (Lautan, 1997).

2.1.5.3. Asap rokok

Oksidan dalam rokok mempunyai jumlah yang cukup untuk memainkan peranan yang besar terjadinya kerusakan saluran napas. Telah diketahui bahwa oksidan asap tembakau menghabiskan antioksidan intraseluler dalam sel paru (*in vivo*) melalui mekanisme yang dikaitkan terhadap tekanan oksidan. Diperkirakan bahwa tiap hisapan rokok mempunyai bahan oksidan dalam jumlah yang sangat besar, meliputi aldehida, epoxida, peroxida, dan radikal bebas lain yang mungkin cukup berumur panjang dan bertahan hingga menyebabkan kerusakan alveoli. Bahan lain seperti nitrit oksida, radikal peroksil, dan radikal yang mengandung karbon ada dalam fase gas. Juga mengandung radikal lain

yang relatif stabil dalam fase tar. Contoh radikal dalam fase tar meliputi *semiquinone moieties* dihasilkan dari bermacam-macam *quinone* dan *hydroquinone*. Perdarahan kecil berulang merupakan penyebab yang sangat mungkin dari desposisi besi dalam jaringan paru perokok. Besi dalam bentuk tersebut menyebabkan pembentukan radikal hidroksil yang mematikan dari hidrogen peroksida. Juga ditemukan bahwa perokok mengalami peningkatan netrofil dalam saluran napas bawah yang mempunyai kontribusi pada peningkatan lebih lanjut konsentrasi radikal bebas. (Lautan, 1997)

2.1.5.4. Obat-obatan dan bahan kimia

Sebagian hemolisis akibat obat mempunyai dasar respon imunologik, tetapi beberapa zat dapat merusak eritrosit secara langsung. Gas arsen yang kadang-kadang dihasilkan oleh proses industri dapat menyebabkan hemolisis, demikian pula garam Cu. Obat pengoksidasi seperti nitrit, nitrat dan ikatan amino aromatic dan nitrogen dapat menyebabkan methemoglobinemia bahkan pada kasus yang berat, juga penghancuran eritrosit (Widmann, 1994)

2.1.5.5. Trauma Fisik

Luka bakar berat yang sering menimbulkan kerusakan eritrosit yang melalui daerah bersangkutan saat terjadinya luka bakar itu. Sebanyak 20-30% eritrosit mengalami lisis dalam waktu 24-48 jam dan mengakibatkan hemoglobinemia massif dan hemogloninuria (Widmann, 1994).

2.1.6. Tolok ukur kerusakan eritrosit

2.1.6.1. Jumlah Eritrosit

Membran eritrosit merupakan salah satu membran sel yang rentan terhadap serangan radikal hidroksil (OH^\bullet). Jika OH^\bullet menyerang membran eritrosit, maka fluiditas membran sel akan terganggu yang dapat menyebabkan lisis bahkan kematian sel. Akibatnya, jumlah eritrosit dan kadar hemoglobin akan terganggu (Lautan, 1997). Penghitungan jumlah eritrosit dapat digunakan sebagai tolok ukur karena berdasarkan penelitian Suhartono (2004) terjadi penurunan jumlah eritrosit karena pemajanan sinar ultraviolet.

2.1.6.2. Fragilitas osmotik eritrosit

Eritrosit terdiri dari membran yang berfungsi untuk melindungi bagian dalam dari sel. Membran eritrosit normalnya bersifat elastis sehingga dapat mengembang dan mengempis sampai batas tertentu. Membran eritrosit

bersifat permeabel sehingga dapat menyerap dan mengeluarkan cairan yang ada di dalam maupun luar sel. Akan tetapi sifat elastis membran ini dapat berkurang bahkan rusak oleh karena kelainan metabolik seperti terbentuknya peroksida lipid (Lautan, 1997). Fragilitas osmotik eritrosit dapat digunakan untuk mengukur derajat kerusakan membran eritrosit karena pemeriksaan ini pada prinsipnya menambahkan larutan hipotonis ke dalam eritrosit untuk mengukur kekuatan membran eritrosit

2.1.6.3. Jumlah Retikulosit

Retikulosit adalah sel darah yang mengandung sedikit bahan basofilik yaitu terdiri dari sisa-sisa apparatus golgi, mitokondria, dan sedikit organel sitoplasmik lainnya. Bahan basofilik yang tersisa di dalam retikulosit normalnya akan menghilang dalam waktu 24 jam kemudian menjadi eritrosit matur. Karena waktu hidup yang pendek ini maka konsentrasinya di antara seluruh sel darah merah dalam keadaan normal kurang dari satu persen.

Retikulosit tidak cocok sebagai parameter karena waktu hidupnya yang singkat dan sulit untuk dihitung.

2.2. Sinar ultraviolet

2.2.1. Definisi

Sinar ultraviolet adalah gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang antara 100 nm (setara dengan energi foton sekitar 12 eV) sampai 400 nm (nano meter). (Bunawas, 1999).

2.2.2. Klasifikasi

Sinar ultraviolet diklasifikasikan menjadi 3, yaitu UV-A, UV-B, UV-C bergantung pada panjang gelombang dan efek biologi. UV-A memiliki panjang gelombang 315-400 nm, UV-B 280-315 nm dan UV-C 100-280 nm (Bunawas, 1999).

Sinar ultraviolet termasuk dalam radiasi non pengion, dimana bila terjadi proses penyerapan dan penyebaran energi melalui suatu media, berkas energi radiasi tersebut tidak akan mampu menginduksi terjadinya proses ionisasi dalam media tersebut (Alatas, 2003)

2.2.3. Sumber Radiasi Sinar Ultraviolet

Sumber radiasi UV alam adalah matahari. Namun karena adanya serapan oleh atom oksigen yang kemudian membentuk lapisan ozon, maka radiasi matahari yang sampai ke bumi (terrestrial) intensitasnya lebih rendah yang meliputi UV dengan panjang gelombang 290-400 nm sedangkan panjang gelombang yang lebih pendek diserap oleh lapisan atmosfer. Sebagai penyerap utama radiasi UV, lapisan gas ini berfungsi sebagai pelindung

bumi dari pajanan sebagian radiasi UV yang lebih pendek dari 340 nm. Berkurangnya lapisan ozon akibat pelepasan chlorofluorocarbon (CFC) buatan manusia ke atmosfer akan mengurangi daya proteksi ozon terhadap sinar UV dan memperbesar tingkat kerusakan akibat pajanan radiasi UV. Sumber radiasi sinar ultraviolet buatan manusia terdiri atas lampu halogen tungsten, lampu neon, lampu germisidal untuk sterilisasi dan lampu untuk pengelasan metal (Alatas dkk, 2003).

2.2.4. Dampak Sinar Ultraviolet

Disamping dapat digunakan untuk memperbaiki kesehatan, sinar ultraviolet juga dapat membahayakan kesehatan. Beberapa faktor penyebab radiasi sinar ultraviolet yang membahayakan antara lain: intensitas radiasi, panjang gelombang, waktu, dan bagian tubuh yang terkena radiasi (Muhaimin, 2001)

Sinar UV yang mempengaruhi kehidupan biologik mempunyai panjang gelombang antara 250-300 nm, dengan pembagian segmen sebagai berikut: Segmen UV-A dengan panjang gelombang 315-400 nm, paling banyak mencapai bumi - 100 kali UV-B, tetapi dengan kekuatan lemah - 1:1000 UVB. Segmen sinar ini masuk ke dalam dermis, menyebabkan kerusakan jaringan dermis sehingga proses penuaan dipercepat, menyebabkan reaksi fotosensitivitas dan bersama UV-B berperan dalam proses keganasan kulit. Segmen UV-B, antara 280-315 nm, merupakan sinar terkuat yang

mencapai bumi. Kerusakan kulit yang ditimbulkan berada di bagian bawah epidermis, berupa luka bakar (*sunburn*), kelainan pra-kanker dan keganasan. Lapisan ozon mengabsorpsi 90% segmen UV-B terutama pada panjang gelombang 290-300 nm. Segmen UV-C antara 100-280 nm, merupakan sinar terkuat, yang diabsorpsi oleh lapisan ozon sehingga tidak mencapai permukaan bumi. Tetapi dengan adanya kebocoran lapisan ozon saat ini dan penurunannya sebanyak 3% setiap dekade, maka sinar UV-C dapat mencapai bumi dan sangat membahayakan lingkungan. Pembentukan radikal bebas intrasel yang reaktif akan mempercepat proses kerusakan dan penuaan kulit.

Pada sel darah merah, radikal bebas ini dapat menyebabkan *stress oksidatif*, yang pada akhirnya sel darah merah akan mengalami kerusakan (Lautan, 1997)

2.2.5. Sinar Ultraviolet Sebagai Radikal Bebas

Sinar ultraviolet merupakan sumber eksogenus radikal bebas yang berasal dari alam (kumalaningsih, 2007). Paparan sinar ultraviolet menyebabkan molekul O_2 menyerap energi elektronik sinar ultraviolet, sehingga mengubah satu spin parallel menjadi spin antiparalel, dan berakibat nilai total momentum sudutnya nol ($S = \frac{1}{2} + (-\frac{1}{2})$, $S = 0$). Keadaan ini disebut sebagai posisi singlet (Sadikin, 2001). Oksigen posisi singlet merupakan pemicu terbentuknya radikal bebas. Oksigen singlet dan radikal bebas yang

terbentuk dapat menyebabkan stress oksidatif dan mencederai sel (Bunawas, 1999).

Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, kondisi lingkungan yang tidak sehat, makanan yang berlemak, dan kulit (Kumalaningsih, 2007). Adapun radikal bebas yang dijumpai didalam tubuh, antara lain: Radikal Bebas Superoksida (O_2^-), Radikal Bebas Hidroksil (OH^\cdot), Radikal Bebas Alkoksil (RO^\cdot), Radikal Bebas Peroksil (ROO^\cdot), Peroksida lipid (LOOH), Hidrogen peroksida (H_2O_2). Singlet Oksigen (1O_2), Ion Hipoklorit (OCl^-). Radikal bebas yang mungkin terbentuk di dalam sel eritrosit adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (ROO^\cdot).

2.3. Minyak buah merah (*Pandanus Conoideus*)

2.3.1. Definisi

Minyak buah merah adalah minyak yang dihasilkan dari buah merah di daerah Papua Barat. Buah ini dimasak dengan temperatur khusus yang nantinya bisa mengasilkan sulingan minyak (Wiryanta, 2006)

2.3.2. Taksonomi buah merah

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Pandanales

Famili : Pandanaceae
Genus : Pandanus
Spesies : *P. Conoideus* (Wiryanta, 2006)

2.3.3. Kandungan buah merah (*Pandanus Conoideus*)

Sampel sari buah merah yang berhasil diteliti oleh Fakultas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor (IPB) menunjukkan kandungan senyawa kimia sebagai berikut: tokoferol 511 ppm, alfatokoferol 351 ppm, betakaroten 59,7 ppm, protein 0,27%, kalsium 9,370 ppm, Besi 17,885mg, Fosfor 0,774%, Vitamin C 0,088 ug/g, Asam Palmitoleat 1091 mg, Asam oleat 66057 mg, Asam linoleat 5532 mg, Asam alfa linolenat 589 mg. Tokoferol yang ada di dalam buah merah tersebut adalah vitamin E alami yang bisa mengencerkan darah (Wiryanta, 2006)

Tokoferol memiliki karakteristik berwarna kuning terang, cukup larut dalam lipida karena rantai C panjang. Didalam jaringan hidup, aktivitas antioksidan tokoferol cenderung α -> β -> γ -> δ - tokoferol (Trilaksani, 2003)

2.3.4. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Trilaksani, 2003). Terdapat tiga macam antioksidan yaitu, pertama adalah antioksidan yang dibuat oleh tubuh

kita sendiri yang berupa enzim antara lain superoksida dismutase, glutathione peroksidase, dan katalase. Kedua adalah antioksidan alami yang dapat diperoleh dari tanaman atau hewan, yaitu vitamin E, vitamin C, betakototen, dan flavonoid. Ketiga adalah antioksidan sintetik, yang dibuat dari bahan- bahan kimia yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), dan Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ) (Kumalaningsih, 2007).

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen melalui reaksi inisiasi, propagasi, dan terminasi. Reaksi inisiasi yaitu berbentuknya radikal bebas ($R\cdot$) bila lipida kontak dengan panas, cahaya, ion metal dan oksigen. Sedangkan reaksi propagasi yaitu, berawal ketika radikal lipida ($R\cdot$) hasil tahap inisiasi bertemu dengan oksigen membentuk radikal peroksida ($ROO\cdot$). Reaksi terminasi yaitu, dimana hidroperoksida yang sangat tidak stabil terpecah menjadi senyawa organik berantai pendek seperti aldehit, keton, alkohol dan asam. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990).

Pada penelitian ini akan digunakan minyak buah merah sebanyak 0,3 ml per hari yang merupakan konversi kebutuhan manusia yaitu sebanyak 15 ml per hari (Wiryanta, 2006).

2.3.5. Buah merah sebagai antioksidan

Vitamin E (*tokoferol*) dalam buah merah merupakan zat antioksidan paling kuat dalam menghambat serangan radikal peroksid karena Vitamin E (*tokoferol*) dapat memberi atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida untuk mengubah ke bentuk yang lebih stabil (Lautan, 1997). Tokofeol menjadi antioksidan paling penting dalam mempertahankan keutuhan dan fungsi sel (Trilaksani, 2003)

2.4. Mekanisme kerja minyak buah merah (*Pandanus Conoideus*) dalam menghambat radikal bebas pada eritrosit yang dipajan sinar ultraviolet

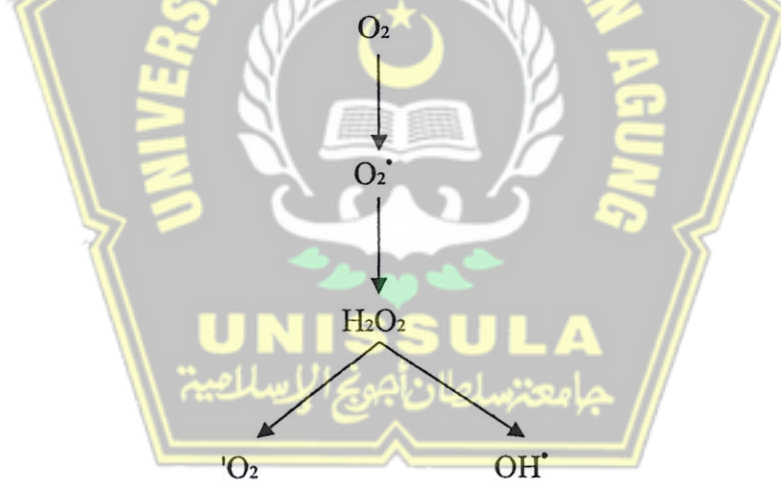
Radikal bebas terbentuk karena adanya unsur oksigen. Sebagian besar oksigen (> 95 %) mengalami metabolisme yang lengkap, sedangkan sisanya dimetabolisme secara tidak lengkap dan menghasilkan oksigen radikal yang toksik dan berpotensi dalam kerusakan oksidatif (Trilaksani, 2003)

Oksigen radikal merupakan zat kimia yang sudah ada secara alamiah pada tumbuhan dan hewan termasuk manusia. Keberadaannya berfungsi melindungi tubuh dari bahaya dengan membunuh bakteri, virus, dan benda asing lain di dalam tubuh. Zat ini juga menyerang sel-sel maupun jaringan tubuh kita dengan cara yang sama. Tetapi tubuh punya mekanisme sendiri untuk melindungi diri sendiri dari serangan yang diakibatkan oleh oksigen

radikal ini. Begitu oksigen radikal ini mulai menumpuk dan menyerang sel-sel maupun jaringan normal tubuh, maka semacam enzim yang dikenal dengan Super Okside Dismutase bereaksi untuk menangkal kelebihan oksigen radikal tersebut (Trilaksani, 2003)

Beberapa contoh oksigen radikal meliputi oksigen ion ($O_2^{\cdot-}$), Hidrogen peroksida (H_2O_2), oksigen singlet (1O_2), Ion Hipoklorit (OCl^-), Radikal Hidroksil (OH^{\cdot}), Radikal Peroksil (ROO^{\cdot}) (Lautan, 1997).

Radikal oksigen $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , 1O_2 , OH^{\cdot} , merupakan yang terpenting dan yang terbanyak mempengaruhi sel manusia. $O_2^{\cdot-}$ mulanya dibentuk dari O_2 yang kemudian berubah menjadi H_2O_2 , dari situlah 1O_2 , OH^{\cdot} terbentuk



Gambar 1. Perubahan oksigen menjadi radikal bebas

Oksigen radikal (radikal bebas), oksidan dan senyawa xenofobik dapat berasal dari sinar ultraviolet (Trilaksani, 2003)

Radikal bebas dapat menjadi penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologis khususnya radikal oksigen. Radikal oksigen ini sering bereaksi dengan lemak dan kolesterol membentuk radikal lipid (R^{\cdot}) yang

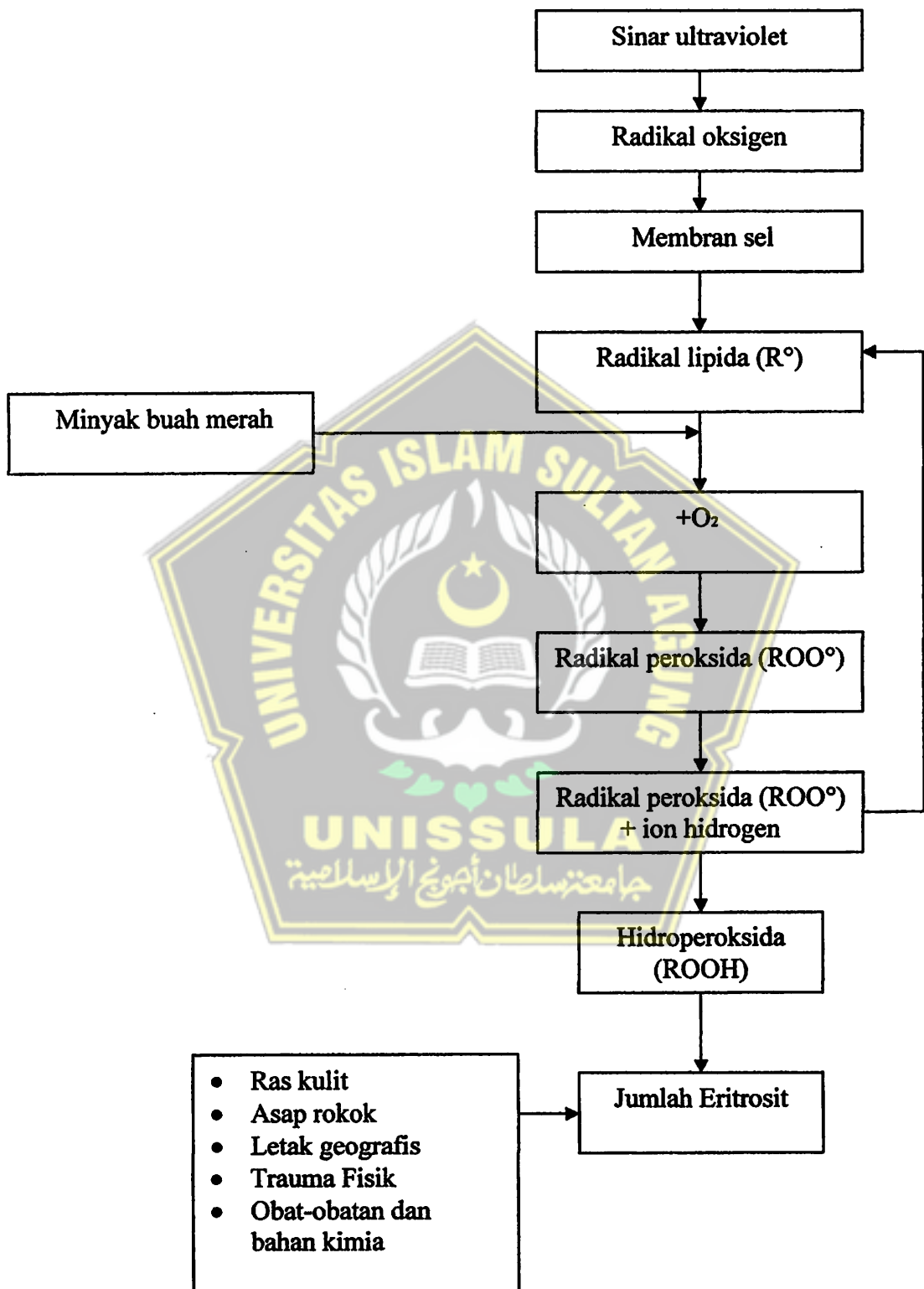
disebut tahap *inisiasi*. Untuk membentuk radikal lipid, oksigen radikal bereaksi dengan lemak berupa lemak tidak jenuh. Lemak tidak jenuh terdiri dari ikatan rangkap ganda atau lebih sehingga pembentukan radikal lipid jauh lebih mudah terjadi dari asam lemak tidak jenuh. Pada membran sel, 95% terdiri phosfolipid dan kolesterol yang mana asam lemak tidak jenuh banyak terdapat pada phosfolipid dan glikolipid. Hal inilah yang menyebabkan terbentuknya radikal lipid pada membran eritrosit. Tahap selanjutnya adalah tahap *propagasi* dimana autooksidasi berawal ketika radikal lipida ($R\cdot$) hasil tahap inisiasi bertemu dengan oksigen membentuk radikal peroksida ($ROO\cdot$). Reaksi oksigenasi ini terjadi sangat cepat dengan energi aktivitas hampir nol sehingga konsentrasi $ROO\cdot$ yang terbentuk jauh lebih besar dari konsentrasi $R\cdot$. Radikal peroksida yang terbentuk akan mengekstrak ion hidrogen dari lipida lain (R_1H) membentuk hidroperoksida ($ROOH$) dan molekul radikal lipida baru ($R_1\cdot$). Selanjutnya reaksi autooksidasi ini akan berulang sehingga merupakan reaksi berantai (Trilaksani, 2003). Reaksi antara lipid dan radikal tersebut menyebabkan perubahan morfologi, struktur dan komposisi membran sel darah merah, mengubah *fluiditas*, struktur dan fungsi membran sehingga membran mudah pecah dan rapuh (Trilaksani, 2003)

Vitamin E (*tokoferol*) dalam minyak buah merah merupakan zat antioksidan paling kuat dalam menghambat serangan radikal peroksida. karena Vitamin E (*tokoferol*) dapat memberi atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida untuk mengubah ke bentuk yang lebih stabil (Lautan, 1997).

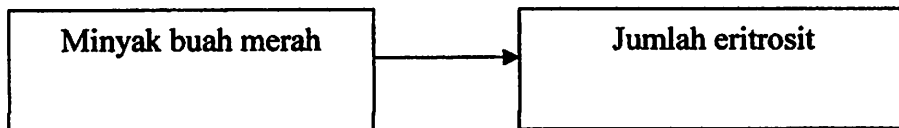
Vitamin E (tokoferol) bertindak sebagai antioksidan dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas sebagai akibat kemampuannya untuk memindahkan hydrogen fenolat kepada radikal bebas perkosil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Rusdiana, 2004). Vitamin E (*tokoferol*) mampu menetralsir radikal bebas yang terbentuk akibat pajanan sinar ultraviolet, sehingga kerusakan eritrosit dapat dihambat (Trilaksani, 2003)



2.5. Kerangka teori



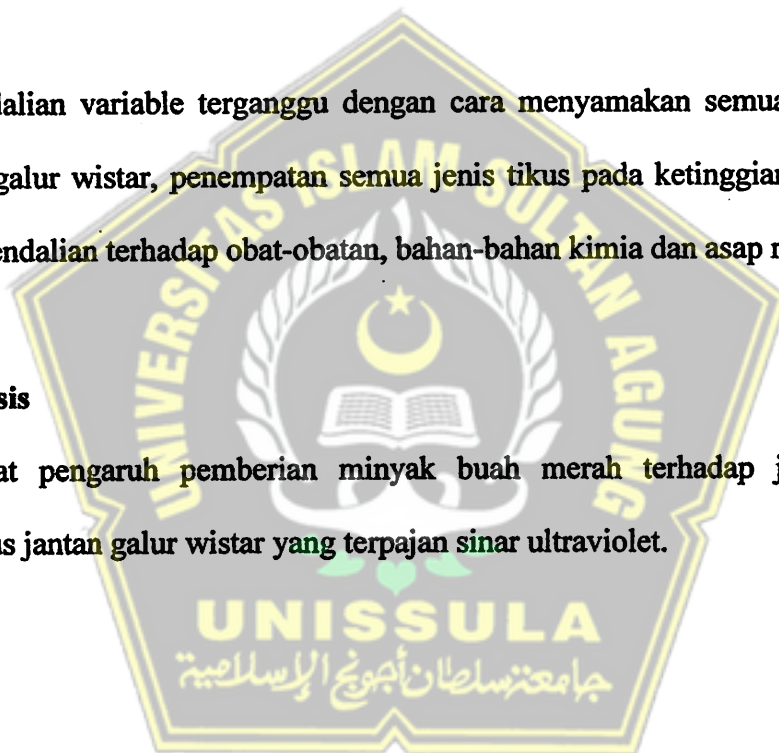
2.6. Kerangka konsep



Pengendalian variable terganggu dengan cara menyamakan semua tikus yaitu jenis galur wistar, penempatan semua jenis tikus pada ketinggian yang sama, pengendalian terhadap obat-obatan, bahan-bahan kimia dan asap rokok.

2.7. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang terpajan sinar ultraviolet.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan rancangan penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian “ *Post test only control group design*”

3.2. Variabel dan definisi operasional

3.2.1. Variabel penelitian

3.2.1.1. Variabel bebas : Minyak buah merah

3.2.1.2. Variabel tergantung : Jumlah eritrosit

3.2.2. Definisi operasional

3.2.2.1. Minyak buah merah

Adalah minyak yang dihasilkan dari buah merah merek red papua yang diberikan peroral satu kali sehari sebanyak 0,3 ml pada subyek uji tikus jantan galur wistar yang diberikan selama 28 hari bersamaan dengan pajanan sinar ultraviolet

Skala pengukuran : Nominal

3.2.2.2. Jumlah Eritrosit

Adalah jumlah eritrosit per milimeter kubik darah tikus jantan galur wistar yang dihitung dengan mikroskop cahaya dan bilik hitung *Improved Neubauer* dari 80 kotak kecil, setelah

dipajan dengan sinar ultraviolet selama 28 hari dan diberikan 4 jam/hari.

Skala pengukuran : Ratio

3.2.2.3.Sinar Ultraviolet

Adalah sinar dengan jenis ultraviolet C 11 Watt yang digunakan untuk sterilisasi mikroorganisme yang dipajankan pada tikus jantan galur wistar selama 4 jam per hari pada kelompok perlakuan

Skala pengukuran : Nominal

3.3. Populasi dan sampel

3.3.1. Populasi penelitian

Semua tikus galur wistar yang ada di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES).

3.3.2. Sampel penelitian

Sampel adalah 24 ekor tikus galur wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus berdasarkan rumus Federrer. Adapun penghitungan jumlah sampel yang digunakan data federrer :

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

Keterangan : t = Jumlah kelompok

n = Jumlah sample tiap kelompok

Sampel dibagi menjadi 3 kelompok

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

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

$$3n-3 \geq 15$$

$$n \geq 18/3$$

$$n \geq 6$$

3.3.3. Kriteria inklusi

3.3.3.1. Jenis kelamin tikus jantan

3.3.3.2. Umur tikus 2 bulan

3.3.3.3. Sehat penampilan luar (gerak aktif, makan normal, tidak ada malformasi, tidak ada luka)

3.3.3.4. Berat badan 200 gram(\pm 10 gram)

3.3.4. kriteria eksklusi

3.3.4.1. Tikus mati dalam massa penelitian

3.3.4.2. Tikus sakit dalam massa penelitian

3.4. Instrumen dan bahan penelitian

3.4.1. Instrumen penelitian

Kandang untuk kelompok tikus, spuit, sonde, tabung kecil untuk menyimpan darah , lampu UV C 11 Watt, mikroskop cahaya, hemositometer.

3.4.2. Bahan Penelitian

Minyak buah merah dengan merk red papua, larutan EDTA digunakan untuk mencegah pembekuan darah, larutan Hayem, aquades, tikus jantan galur *Wistar* dengan umur 2 bulan dan berat badan 200 gr.

3.5. Cara penelitian

3.5.1. Perencanaan

Merumuskan masalah, menentukan populasi dan sample penelitian, rancangan penelitian serta merumuskan teknik pengumpulan data.

3.5.2. Pelaksanaan penelitian

3.5.2.1. Tikus jantan galur wistar dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut:

Kelompok I : Tikus diberi diet standard dan aquadest sebagai kontrol negatif

Kelompok II : Tikus dipajan 4 jam/hari selama 28 hari dengan lampu UV C 11 watt tanpa pemberian minyak buah merah

Kelompok III : Tikus dipajan 4 jam/hari selama 28 hari dengan lampu UV C 11 watt dengan pemberian minyak buah merah

Kelompok IV : Tikus dipajan 4 jam/hari selama 28 hari dengan lampu UV C 11 watt dengan pemberian vitamin E sebagai kontrol positif

3.5.2.2. Jumlah populasi tikus jantan galur wistar pada masing-masing kelompok adalah 6 ekor

3.5.2.3. Lama perlakuan dilakukan selama 28 hari

3.5.2.4. Tikus dipajan selama 4 jam/hari dengan dengan lampu UVC

11 watt

3.5.2.5. Penentuan pemberian minyak buah merah per oral pada tikus

dengan mengkonversikan dari kebutuhan minyak buah merah yang dianjurkan pada manusia adalah 15 ml per hari untuk dewasa (BB: 70 kg)

Dosis minyak buah merah untuk setiap tikus

Dosis minyak buah merah untuk manusia 15 ml

= 15 ml x nilai konversi

= 15 ml x 0,018

= 0,27 ml \approx 0,3 ml

Dosis minyak buah merah untuk tikus dengan rata-rata berat badan 200 gram :

= 0,3 ml per hari

3.5.2.6. Setelah dilakukan perlakuan selama 28 hari, seluruh tikus diambil sampel darah dari masing-masing kelompok untuk dilakukan perhitungan jumlah eritrosit

3.5.2.7. Perhitungan jumlah eritrosit dengan menggunakan mikroskop cahaya dan bilik hitung *Improved Neubauer*

Cara perhitungan eritrosit:

3.5.2.7.1. Darah yang diambil dari masing-masing kelompok tikus diletakkan pada tabung kecil yang didalamnya diberi larutan EDTA yang digunakan untuk pembekuan darah

3.5.2.7.2. Bilik hitung yang telah ditutup dengan kaca penutup diletakkan di mikroskop cahaya . Cari kotak kecil (pada *Improved Neubauer* hitung eritrosit berada di tengah)

3.5.2.7.3. Dengan pipet eritrosit darah dihisap sampai angka 1 (pengenceran 100X) atau sampai angka 0,5 (pengenceran 200X). Bersihkan ujung pipet

3.5.2.7.4. Pertahankan posisi pipet, hisap larutan hayem sampai angka 101. Bersihkan ujung pipet

3.5.2.7.5. Gojok horizontal. Buang tiga tetes pertama

3.5.2.7.6. Teteskan ke bilik hitung lewat sela-sela kaca penutup. Kemudian dilakukan perhitungan pada 80 kotak kecil pada bilik

3.5.2.7.7. Perhitungan jumlah eritrosit :

$$\text{Jumlah eritrosit} = \frac{N \times P}{V}$$

N = jumlah eritrosit pada bilik hitung

P = pengenceran

V = volume

3.5.2.8. Setelah dilakukan perhitungan jumlah eritrosit, dari masing-masing kelompok dilihat perbandingannya

3.5.2.9. Penulisan laporan

Laporan penelitian disajikan dalam bentuk karya tulis ilmiah.

Dan setelah dipresentasikan dalam ujian karya tulis ilmiah maka

masukan-masukan yang diperoleh dijadikan bahan untuk melakukan perbaikan pada laporan akhir karya tulis ilmiah

3.6. Tempat dan waktu Penelitian

3.6.1. Tempat penelitian

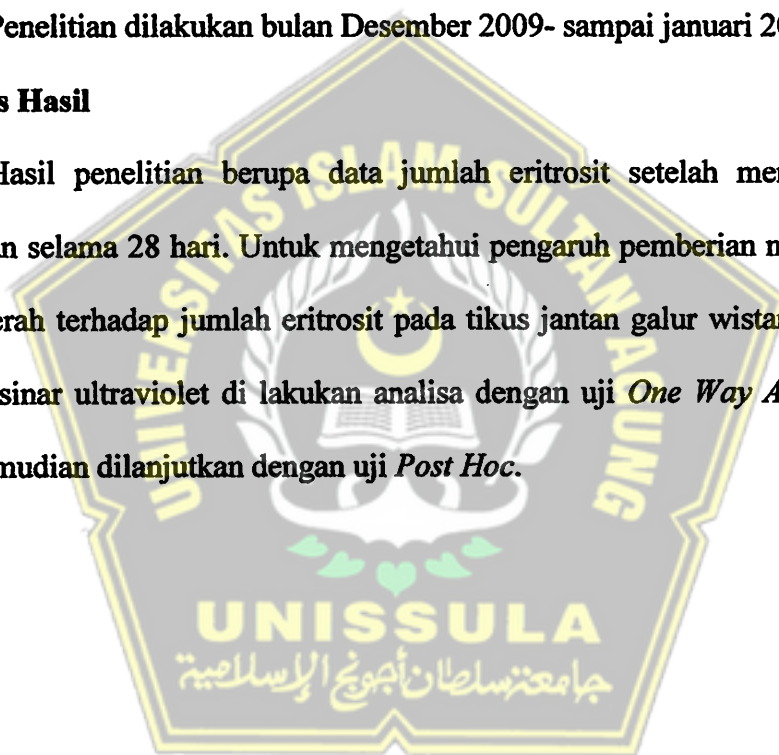
Laboratorium biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES)

3.6.2. Waktu penelitian

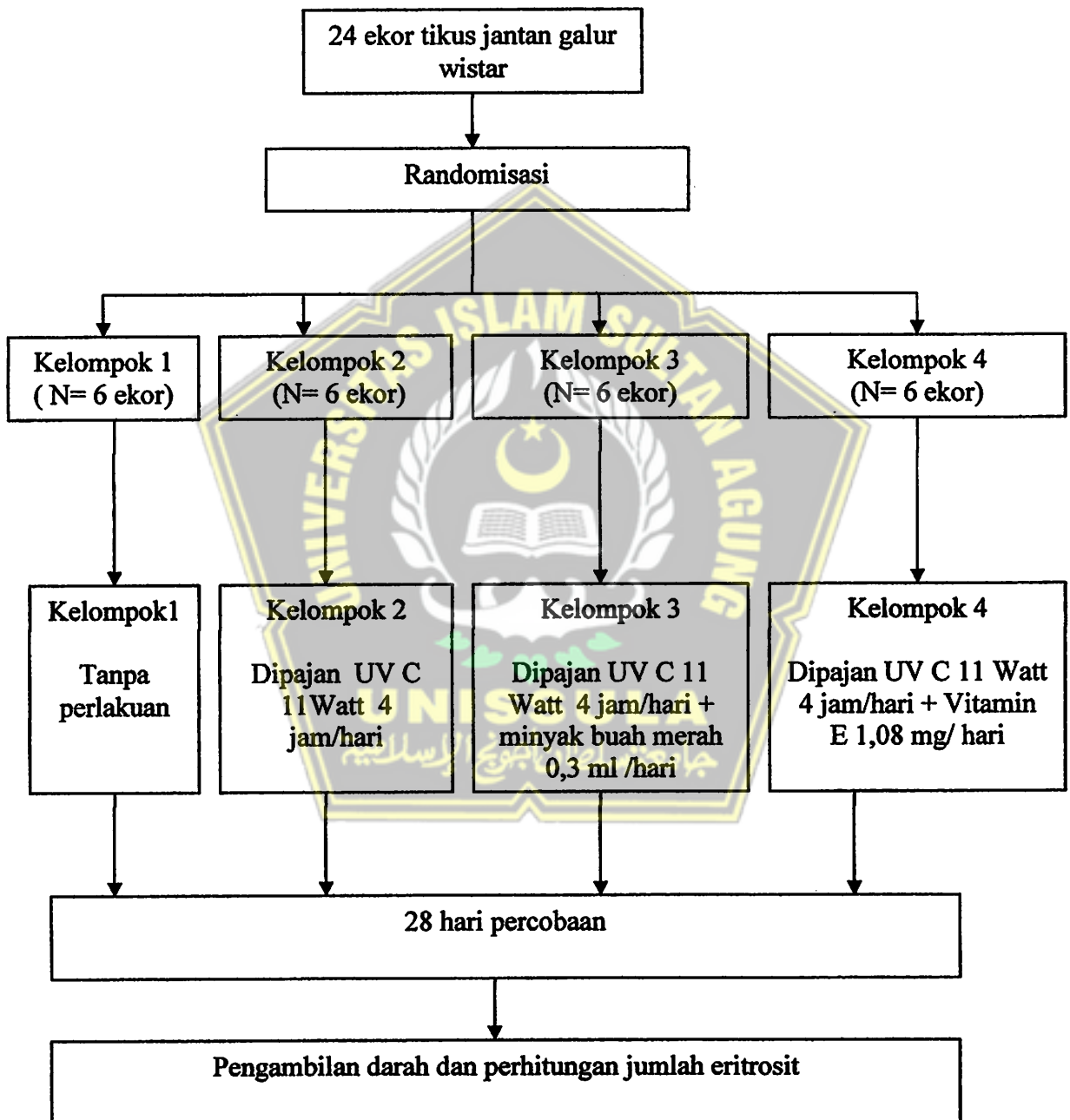
Penelitian dilakukan bulan Desember 2009- sampai januari 2010

3.7. Analisis Hasil

Hasil penelitian berupa data jumlah eritrosit setelah mendapat perlakuan selama 28 hari. Untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit pada tikus jantan galur wistar yang dipapar sinar ultraviolet di lakukan analisa dengan uji *One Way Anova* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*.



3.8. Alur penelitian

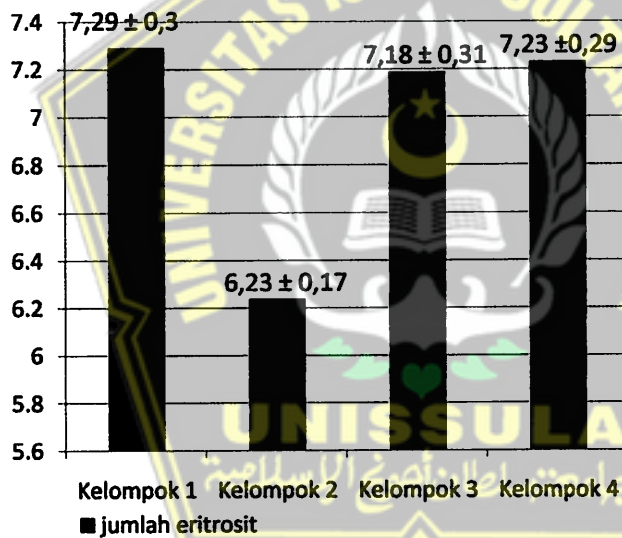


BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian pengaruh pemberian minyak buah merah terhadap jumlah eritrosit pada tikus jantan yang dipapar sinar ultraviolet dengan sampel 24 ekor tikus yang dibagi menjadi empat kelompok. Penelitian dilakukan selama 28 hari di laboratorium biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES). Adapun hasil perhitungan jumlah eritrosit sebagai berikut.



Grafik 1. Rerata jumlah eritrosit tiap kelompok

Keterangan:

Kelompok 1 : Tikus diberi diet standar + aquades

Kelompok 2 : Tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt tanpa pemberian minyak buah merah

Kelompok 3 : Tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian minyak buah merah

Kelompok 4 : Tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian vitamin E

Pada Grafik 1 tersebut didapatkan bahwa rerata jumlah eritrosit pada kelompok 1 adalah 7,29, kelompok 2 adalah 6,23, kelompok 3 adalah 7,18 dan kelompok 4 adalah 7,23 (lampiran 2). Selanjutnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Dari uji normalitas menggunakan *Saphiro-wilk* didapatkan hasil signifikansi masing-masing kelompok sebesar 0,95, 0,88, 0,83, 0,27 (lampiran 3), sehingga disimpulkan distribusi data keempat kelompok normal ($P>0,05$). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (*levene test*). Dari uji homogenitas didapatkan nilai P sebesar 0,78 (lampiran 4) sehingga dapat dikatakan data jumlah eritrosit antar kelompok 1, kelompok 2, kelompok 3, dan kelompok 4 adalah homogen ($P>0,05$). Setelah itu dilakukan uji statistik dengan metode *One-way ANOVA*. Hasil pengujian dapat dilihat pada lampiran 5 diketahui nilai pada sig 0,00 ($P<0,05$) yang berarti bahwa paling tidak terdapat dua kelompok yang berbeda jumlah eritrosit darah secara bermakna pada dua kelompok.

Untuk melihat letak perbedaan antar kelompok secara lebih jelas dari ketiga kelompok dianalisa dengan *Post Hoc* seperti terlihat pada lampiran 6

Tabel 1. Uji *Post Hoc* jumlah eritrosit antara dua kelompok perlakuan

Kelompok	Sig
Kelompok 1 dan kelompok 2	0,00
Kelompok 1 dan kelompok 3	0,52
Kelompok 1 dan kelompok 4	0,71
Kelompok 2 dan kelompok 3	0,00
Kelompok 2 dan kelompok 4	0,00
Kelompok 3 dan kelompok 4	0,78

Tampak pada Tabel 3 bahwa ada perbedaan yang bermakna yang terjadi pada perbandingan antara kelompok 1 dengan kelompok 2, kelompok 2 dengan kelompok 3 dan kelompok 2 dengan kelompok 4. Hal ini berarti bahwa pajanan sinar ultraviolet dapat menyebabkan penurunan jumlah eritrosit dan pemberian minyak buah merah dapat menghambat terjadinya penurunan jumlah eritrosit secara signifikan. Sedangkan pada kelompok 1 dengan kelompok 3, kelompok 1 dengan kelompok 4, dan kelompok 3 dengan kelompok 4 tidak ditemukan perbedaan yang bermakna.

4.2. Pembahasan

Hasil rerata jumlah eritrosit kelompok K 1 sebesar 7,29 (juta/ul) dan kelompok K2 sebesar 6,23 (juta/ul). Dari uji statistik yang telah dilakukan dengan taraf signifikansi 5% didapatkan nilai $p = 0,00$, berarti ada perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 (tikus diberi diet standar + aquades) sebagai kontrol dan kelompok K2 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt tanpa pemberian minyak buah merah).

Pajanan sinar ultraviolet menyebabkan molekul O_2 menyerap energi elektronik sinar ultraviolet, sehingga mengubah satu spin parallel menjadi spin antiparalel, dan berakibat nilai total momentum angularnya nol ($S = \frac{1}{2} + (-\frac{1}{2})$, $S=0$). Keadaan ini disebut sebagai posisi singlet (Sadikin, 2001). Oksigen posisi singlet merupakan pemicu terbentuknya radikal bebas. Oksigen singlet dan radikal bebas yang terbentuk dapat menyebabkan stress oksidatif dan mencederai sel (Bunawas, 1999). Molekul 1O_2 selanjutnya dapat mengoksidasi secara acak berbagai komponen biomolekul seperti

lipid, protein dan DNA. Oksidasi lipid oleh O_2 dapat menyebabkan peroksidasi lipid, cross linking pada protein, serta fragmentasi pada DNA (Halliwell, 1999). Pada sel darah merah radikal bebas yang dibentuk sinar ultraviolet dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi membran eritrosit dan dalam keadaan ekstrim dapat menyebabkan pecahnya eritrosit (Lautan, 1997).

Hasil rerata jumlah eritrosit kelompok K1 sebesar 7,29 (juta/ul) dan kelompok K3 sebesar 7,18 (juta/ul). Pada uji statistik yang telah dilakukan dengan taraf signifikansi 5% didapatkan nilai $p = 0,52$, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 (tikus diberi diet standar + aquades) sebagai kontrol dan kelompok K3 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian minyak buah merah). Sedangkan hasil rerata jumlah eritrosit kelompok K1 sebesar 7,29 (juta/ul) dan kelompok K4 sebesar 7,23 (juta/ul). Dan di uji statistik yang telah dilakukan dengan taraf signifikansi 5% didapatkan nilai $p = 0,71$, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok K1 (tikus diberi diet standar + aquades) sebagai kontrol dan kelompok K4 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian vitamin E).

Peran antioksidan bagi kesehatan tubuh telah banyak mendapat perhatian dari kalangan ilmuwan. Fungsi fisiologis dari antioksidan adalah mencegah kerusakan komponen seluler akibat radikal bebas. Sedangkan produksi radikal bebas terjadi secara terus menerus pada semua sel sebagai bagian dari fungsi seluler yang normal. Jika terjadi produksi radikal bebas

yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif berperan penting dalam patofisiologi berbagai penyakit, termasuk penyebab pathogen utama pada gangguan hati. Ekstrak buah merah mengandung antioksidan. Pada suatu penelitian secara *in vitro* diperoleh hasil, bahwa ekstrak buah merah mengandung kadar antioksidan yang tertinggi diantara minyak yang berasal dari tanaman biji-bijian (Handajani, 2008).

Buah merah (*Pandanus conoideus*) mengandung senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan dalam kadar tinggi, diantaranya karoten, betakaroten, dan tokoferol serta vitamin C, yang mempunyai peranan penting dalam meredam dampak negatif radikal bebas dan oksidan (Revianti, 2006). Peredaman radikal bebas oleh minyak buah merah ini menyebabkan jumlah eritrosit pada kelompok 1 dan kelompok 3 tidak berbeda secara bermakna. Vitamin E berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas akibat pajanan sinar ultraviolet.

Hasil rerata jumlah eritrosit kelompok K2 sebesar 6,23 (juta/ul) dan kelompok K3 sebesar 7,18 (juta/ul). Dari uji statistik yang telah dilakukan dengan taraf signifikansi 5% didapatkan nilai $p = 0,00$, berarti ada perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt tanpa pemberian minyak buah merah) dan kelompok K3 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian minyak buah merah). Sedangkan Hasil rerata jumlah eritrosit kelompok K2 sebesar 6,23 (juta/ul) dan kelompok K4 sebesar 7,23

(juta/ul). Dari uji statistik yang telah dilakukan dengan taraf signifikansi 5% didapatkan nilai $p = 0.00$, berarti ada perbedaan yang bermakna antara kelompok K2 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt tanpa pemberian minyak buah merah) dan kelompok K4 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian vitamin E)

Hal ini sesuai dengan teori bahwa pemberian minyak buah merah mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan yaitu tokoferol, alfatokoferol, dan betakaroten (Wiryanta, 2006). Antioksidan dalam minyak buah merah mampu menetralsisir radikal bebas yang terbentuk akibat pajanan sinar ultraviolet, sehingga kerusakan eritrosit dapat dihambat (Trilaksani, 2003). Membran eritrosit merupakan salah satu membran sel yang rentan terhadap serangan radikal bebas. Radikal lipida (R^{\cdot}) terbentuk bila lipida pada membran eritrosit berkontak dengan sumber energi seperti cahaya dari radiasi sinar ultraviolet. Selanjutnya adalah ketika radikal lipida (R^{\cdot}) bertemu dengan oksigen membentuk radikal peroksida (ROO^{\cdot}). Reaksi oksigenasi ini terjadi sangat cepat dengan energi aktivasi hampir nol sehingga konsentrasi (ROO^{\cdot}) yang terbentuk jauh lebih besar dari konsentrasi (R^{\cdot}). Adanya reaksi peroksidasi lipid tersebut menyebabkan berkurangnya fluiditas, cross-linking, struktur dan fungsi membran eritrosit, sehingga dalam keadaan yang lebih ekstrim akhirnya akan menyebabkan lisisnya eritrosit (Indera dkk, 2006).

Antioksidan dalam minyak buah merah mampu menghambat serangan radikal peroksida karena dapat memberi atom hidrogen secara

cepat ke radikal lipida untuk mengubah ke bentuk yang lebih stabil (Lautan, 1997). Vitamin E bertindak sebagai antioksidan dengan memutuskan berbagai reaksi rantai radikal bebas sebagai akibat kemampuannya untuk memindahkan hydrogen fenolat kepada radikal bebas perkosil dari asam lemak tak jenuh ganda yang telah mengalami peroksidasi (Rusdiana, 2004).

Hasil rerata jumlah eritrosit kelompok K3 sebesar 7,18 (juta/ul) dan kelompok K4 sebesar 7,23 (juta/ul). Dari uji statistik yang telah dilakukan dengan taraf signifikansi 5% didapatkan nilai $p = 0,78$, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok K3 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian minyak buah merah) dan kelompok K4 (tikus diradiasi 4 jam/hari dengan lampu UV C 11 watt + dengan pemberian vitamin E). Tidak terdapat perbedaan yang bermakna karena buah merah dan vitamin E keduanya berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas.

4.3. Keterbatasan Penelitian

- 4.3.1. Penentuan dosis tokoferol dalam minyak buah merah tidak sama dengan dosis vitamin E sehingga terjadi ketidakseimbangan dosis antara kelompok perlakuan dengan kelompok control positif
- 4.3.2. Metode penelitian yang menggunakan *post test only control group design* memungkinkan terjadinya bias sehingga tidak dapat melihat pengaruh pemberian minyak buah merah secara langsung dalam menghambat lisisnya eritrosit tikus jantan galur wistar.

4.3.3. Penelitian tidak menggunakan pengukuran langsung kerusakan eritrosit akibat pajanan sinar ultraviolet melainkan menggunakan pengukuran jumlah eritrosit



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang mendapat diet standar adalah 7.29 ± 0.3 juta/ mm^3 dimana jumlah normal eritrosit tikus adalah 5-12 juta/ mm^3
- 5.1.2. Jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet tanpa pemberian minyak buah merah mengalami penurunan secara signifikan
- 5.1.3. Jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet dan diberi minyak buah merah masih dalam batas normal atau tidak mengalami penurunan yang signifikan karena minyak buah merah mampu menghambat radikal bebas sinar ultraviolet.
- 5.1.4. Jumlah eritrosit tikus jantan galur wistar yang dipajan sinar ultraviolet dan diberi vitamin E masih dalam batas normal atau tidak mengalami penurunan yang signifikan karena vitamin E mampu menghambat radikal bebas sinar ultraviolet
- 5.1.5. Terdapat perbedaan jumlah eritrosit antara kelompok yang terpajan sinar ultraviolet tanpa pemberian minyak buah merah dengan eritrosit kelompok yang terpajan sinar ultraviolet dan diberi minyak buah merah

5.2.Saran

- 5.2.1. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan pengambilan ekstrak tokoferol dalam minyak buah merah dan membandingkannya dengan dosis vitamin E yang sama agar penelitiannya menjadi seimbang kemampuan antioksidannya.
- 5.2.2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode *pre dan post test only control group design* untuk mengetahui sejauh mana perubahan atau seberapa besar perubahan jumlah eritrosit akibat pajanan sinar ultraviolet dan pengaruh minyak buah merah dalam menangkal radikal bebas
- 5.2.3. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan parameter kerusakan eritrosit akibat pajanan sinar ultraviolet.
- 5.2.4. Diperlukan gambaran sitopatologi untuk mengetahui kerusakan eritrosit

DAFTAR PUSTAKA

- Alatas, Z., 2004, *Efek Radiasi Pengion dan Non Pengion Pada Manusia*, Buletin Alara, Volume 5 (2&3) : 99-112
- Bunawas, 1999, *Radiasi Ultraviolet dari Matahari dan Resiko Kanker Kulit*, Cermin Dunia Kedokteran, (122): 9-12
- Gordon, M, H, 1990, *The Mechanism of Antioxidant Action In Vitro*, Edisi 1, Elsvier Applied Science, London : 689-690
- Guyton and Hall ,1996, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 7, EGC, Jakarta : 52-54
- Handajani, F. 2008. *Pengaruh pemberian ekstrak buah merah (pandanus conoideus) pada kadar SGPT tikus putih (Rattus novergicus) yang diinduksi parasetamol dosis tinggi* http://www.gdlhub_gdl.com dikutip tgl 2-2-2010
- Halliwell, B. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. 3th Edition. London : Oxford University Press
- Hoffbrand, A, V.,Petiit, J, E., Moss, P, A, H., 2005, *Kapita Selekta Hematologi*, Edisi 4, EGC, Jakarta: 15-17
- Ika, 2007. *Pamor buah merah terbentur penelitian*, <http://www.majalah-farmacia.com> dikutip tanggal 2-1-2010
- Indera, D., Mayasari., Paramita, D., Ramadhan, E., Yunanto, K, A., 11-6-2006, *Korelasi Aktivitas Antioksidan Tumbuhan Rawa dengan Ketahanan Membran Eritrosit Diinduksi Timbal (Pb)*. <http://www.pkm.dikti.net> dikutip tgl 12-7-2009
- Janquire, L, C., 1998, *Histologi Dasar*, Edisi 8, EGC, Jakarta : 228-229
- Kumalaningsih, S., 2007, *Antioksidan Alami*, Edisi 2, Trubus Agrisarana, Surabaya : 16-40
- Kusumawati, D., 2004, *Bersahabat Dengan Hewan Coba* , Edisi 1, Gajah Mada University Press, Yogyakarta
- Lautan, J., *Radikal Bebas Pada Erritrosit dan Leukosit*, Cermin Dunia Kedokteran, (166) : 49-51
- Misnadiarly, AS., *Faktor-Faktor yang Berpengaruh Terhadap Kesehatan Kulit*, Cermin Dunia Kedokteran, (152) : 22-24
- Muhaimin, 2001, *Teknologi Pencahayaan*, Edisi 2, Refika Aditama, Bandung

- Revianti, S., 7-6-2008 *Efek Proteksi Ekstrak Buah Merah (Pandanus Conoideus) Terhadap Stress Oksidatif di Eritrosit Rattus Norvegicus Galur Wistar Yang Terpapar Asap Rokok Kretek*, http://www.gdlhub_gdl.com dikutip tgl 1-7-2009
- Rusdiana, 2004, *Vitamin*, USU Digital Library :8-9
- Sadikin, M., 2001, *Pelacakan Dampak Radikal Bebas Terhadap Biomolekul*, Disampaikan pada pelatihan Radikal Bebas dan Antioksidan Dalam Kesehatan: Dasar, Aplikasi dan Pemanfaatan Bahan Alam, Jakarta, 17-21
- Sherwood, L., 2001, *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*, Edisi 2, EGC, Jakarta : 347-349
- Sofia, D., 24-12-2007. *Antioksidan dan Radikal Bebas*, <http://www.chemistry.org> dikutip tgl 15-7-2009
- Suhartono, E, Fujiati., Panghiyangan, R., 2004, *Pengaruh Vitamin C Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Tikus Wistar Sprague Dawley yang Dipajan Sinar Ultraviolet*, Jurnal Kedokteran Yarsi 12 (1) :42-45
- Suramto, U., 2008, *Pengaruh Vitamin C terhadap Jumlah Eritrosit pada Tikus Jantan Galur Wistar yang dipajan Sinar Ultraviolet*, KTI FK UNISSULA.
- Trilaksani, W., 11-6-2003. *Antioksidan :Jenis, Sumber, Mekanisme, Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*. <http://tumoutou.net> dikutip tgl 21-7-2009
- Wardani, I., 10-03-2008 , *Pengaruh Paparan Sinar Ultraviolet Terhadap Fragilitas Eritrosit Tikus Jantan Wistar*, http://www.gdlhub_gdl.com dikutip tgl 1-7-2009
- Widmann, F, K., 1994, *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Edisi 9, EGC, Jakarta
- Wiryanta , B, W., 2006, *Keajaiban Buah Merah Kesaksian dari Mereka yang Tersembuhkan*, Agromedia, Jakarta