



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL AKAR DARUJU (*acanthus illicifolius L.*) TERHADAP HEPATOSIT MENCIT PUTIH (*Mus musculus l.*) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

**TESIS**



**HAYATI**  
**0821213012**

**PROGRAM PASCASARJANA**  
**UNIVERSITAS ANDALAS**  
**PADANG 2011**

PENGARUH EKSTRAK ETANOL AKAR DARUJU (*Acanthus illicifolius* L.) TERHADAP HEPATOSIT MENCIT PUTIH (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSIKARBON TETRAKLORIDA

Oleh: Hayati

(di bawah bimbingan Dr. H. M.Husni Muchtar, Apt dan Dr.Fatma Sri Wahyuni , Apt.)

RINGKASAN

Penyakit hati masih merupakan penyakit yang paling serius dan menjadi permasalahan di seluruh dunia terutama yang disebabkan oleh bahan-bahan kimia toksik seperti alkohol, paracetamol dosis tinggi, karbon tetraklorida agen kemoterapi, minyak terperoksidasi, dan lain-lain.

Tanaman daruju (*A. Illicifolius*) telah dikenal sebagai tanaman obat dengan aktifitas farmakologi yang signifikan. Bagian aerial dari tanaman daruju ini diketahui mempunyai efek sebagai hepatoprotektor, antioksidan, antiinflamasi, anti osteoporosis dan antikarsinogen. Di India akar daruju digunakan sebagai ekspektoran sehingga digunakan sebagai obat asma, tonik yang bagus untuk syaraf sehingga digunakan sebagai obat paralisis, sebagai astringen dan juga stimulan.

Penelitian telah dilaksanakan di laboratorium Fitokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Jakarta, Pusat Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Pusat Biomedik dan Teknologi Dasar Kesehatan Jakarta, laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan Laboratorium Histologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi Universitas Indonesia.

Dalam penelitian ini digunakan karboneteraklorida untuk merusak sel hati. Ada 5 perlakuan yaitu perlakuan A adalah kontrol negatif dimana mencit putih jantan diberi aquades selama 7 hari dan pada hari ke 8 diberi minyak zaitun. Perlakuan B adalah kontrol positif dimana mencit putih jantan diberi aquades selama 7 hari dan pada hari ke 8 diberi  $CCl_4$ . Perlakuan C diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 250 mg/kg BB selama 7 hari dan pada hari ke 8 diberi  $CCl_4$ . Perlakuan D mencit putih jantan diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB selama 7 hari dan pada hari ke 8 diberi  $CCl_4$ . Perlakuan E diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mg/kg BB selama 7 hari dan pada hari ke 8 diberi  $CCl_4$ .

Metoda ekstraksi yang digunakan dalam penelitian adalah metoda maserasi dengan menggunakan serbuk akar daruju kering yang dimaserasi dalam etanol 70%.

Metoda pengukuran aktifitas Serum Glutamat Transferase (SGPT) adalah metoda enzimatik dengan menggunakan reagen KIT Diasys yang diukur dengan alat spektrofotometer Klinik (Varta-56) pada panjang gelombang 340 nm. Pengukuran aktifitas Glutation Proksidase (GSH-Px) dan Malonidialdehid (MDA) digunakan homogenat hati. Pengukuran aktifitas GSH-Px menggunakan reagen DTNB yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 412 nm sedangkan pengukuran MDA digunakan TBA (Tiobarbiturat) 0,67% yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 530 nm.



Untuk analisa statistik digunakan Anova satu arah, jika terjadi perbedaan bermakna pada Anova maka dilanjutkan dengan uji Tukey.

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan dosis ekstrak etanol akar daruju meningkatkan kerusakan sel hati dengan meningkatnya aktifitas Serum Glutamat Piruvat Transferase (SGPT). Perlakuan kontrol negative (A) berbeda bermakna dengan perlakuan kontrol positif (B). Perlakuan ekstrak etanol akar daruju 250 mg/kg BB (C) tidak berbeda bermakna dengan perlakuan kontrol positif (B) dan perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mg/kg BB (E) tetapi berbeda bermakna dengan perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB (D). Untuk diameter vena sentralis terjadi perbedaan bermakna antara perlakuan kontrol negatif (A) dengan kontrol positif (B), dengan perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 250 mg/kg BB (C) dan dengan perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB. Tidak ada perbedaan bermakna pada diameter vena sentralis antara perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB (D) dengan perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mg/kg BB (E). Untuk Aktifitas GSH-PX dan MDA tidak ada perbedaan bermakna antara perlakuan.



**PENGARUH EKSTRAK ETANOL AKAR DARUJU  
(*Acanthus illicifolius* L.) TERHADAP HEPATOSIT MENCIT  
PUTIH (*Mus musculus* L.) YANG DIINDUKSI KARBON  
TETRAKLORIDA**



Oleh

Hayati  
08.212.13.012

Tesis

Sebagai salah satu syarat  
Untuk memperoleh gelar Magister Farmasi  
Pada Program Pascasarjana Universitas Andalas

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**PADANG**

**2011**

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis dengan judul “Pengaruh Ekstrak Etanol Akar Daruju (*Acanthus illicifolius* L.) Terhadap Hepatosit Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida” adalah hasil karya sendiri dan bukan merupakan jiplakan dari hasil kerja/karya orang lain kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar, maka status kelulusan saya dan gelar yang saya peroleh menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, Januari 2011

Yang membuat pernyataan



Hayati, S.Si





## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 17 April 1969 di Medan sebagai anak pertama dari sembilan bersaudara dari Bapak Hasan Basri dan Ibu Nurjannah. Penulis menamatkan SD pada tahun 1982, SMP pada tahun 1985, SMA pada tahun 1988 di Medan. Penulis memperoleh gelar sarjana Biologi di Universitas Andalas di Padang pada tahun 1994. Penulis telah bekerja sebagai dosen di Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Jakarta sejak tahun 1998 sampai sekarang. Penulis telah menikah dengan Nasri, SH pada tahun 1998 dan telah dikaruniai 4 orang anak. Anak pertama bernama Kevin Algifari, anak kedua kembar Doni Putra dan Hari Putra dan anak ketiga Felix Fernanda. Pada tahun 2008 penulis memperoleh kesempatan untuk melanjutkan studi pascasarjana di Universitas Andalas Padang bidang Farmakologi dengan bantuan beasiswa BPPS dari Dirjen Dikti dan berhasil menyelesaikan studinya pada tanggal 1 Februari 2011.





## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur bagi Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Etanol Akar Daruju (*Acanthus illicifolius* L.) Terhadap Hepatosit Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Yang Diinduksi Karbon Tetraklorida”** yang merupakan syarat untuk menyelesaikan studi di Program Pasca Sarjana Farmasi Universitas Andalas Padang

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. H. M. Husni Muchtar, Apt. selaku dosen pembimbing satu dan Ibu Dr. Fatma Sri Wahyuni Apt. selaku dosen pembimbing dua yang telah banyak memberikan masukan dalam penyusunan tesis ini ;
2. Bapak Usmadi yang telah membantu penulis selama melakukan penelitian di Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Jakarta dan Bapak Dr. Dadang Kusmana yang telah membimbing dalam pembuatan preparat histologi di FMIPA Jurusan Biologi Universitas Indonesia ;
3. Teman-teman di Laboratorium Instrumen, khususnya Almawati Situmorang dan Robi, sering menunggu penulis di laboratorium karena jam kerja di laboratorium sudah selesai ;
4. Rean-rekan mahasiswa , khususnya Catur dan Yuda yang telah menemani penulis mencari akar daruju di Balitro Bogor dan kebun Tanaman Obat Karya Sari di Leuwiliang Bogor ;
5. Bapak Dr. Budi Arman, M.Kes. , Bapak Sofyan, M.Farm, Apt. dan Bapak Prof. Dr. Dachryanus, Apt. yang sudah banyak membantu dan mendukung penulis dalam menyelesaikan studi di Program Pascasarjana Farmasi Universitas Andalas ;
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Novirman Jamarun, M.Sc selaku Ketua Program Pascasarjana UNAND yang telah memberikan kemudahan kepada penulis untuk mengikuti Seminar hasil dan Ujian Sidang Pascasarjana Farmasi UNAND ;
7. Anak-anakku Kevin Algifari, Si Kembar Doni Putra dan Hari Putra serta si bungsu Felix Fernanda yang menjadi sumber kekuatan dan motivasi kepada penulis ;
8. Ayahanda Hasan Basri dan Ibunda Nurjannah (almarhum) yang menjadi sumber kekuatan spiritual bagi penulis ;
9. Bapak Arel (bapak kos) selama penulis di Padang yang sudah bersedia dan meluangkan waktunya menemani penulis ke rumah dosen pembimbing dan lain-lainnya.

Semoga amal baik Bapak dan Ibu berikan kepada penulis akan mendapat balasan yang lebih banyak dari Allah SWT.

Akhir kata penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis masih terdapat kekurangan dan kesalahan yang bukan faktor kesengajaan penulis. Kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan.

Padang, Januari 2011  
Penulis



## DAFTAR ISI

	Hlm.
HALAMAN JUDUL .....	i
RINGKASAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	vi
KATA PENGANTAR .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Pembatasan Masalah .....	3
1.4 Perumusan Masalah .....	3
1.5 Hipotesa .....	3
1.6 Tujuan Penelitian .....	4
1.7 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tanamam <i>Acanthus ilicifolius</i> L. ....	5
2.2 Reaksi Peradangan hati yang diinduksi oleh karbon tetraklorida .....	6
2.3 Hepatotoksik .....	8
2.4 Hati .....	14
2.5 Enzim Aminotransferase .....	15
2.6 Antioksidan .....	17
2.7 Radikal Bebas .....	21
2.8 Antioksidan Enzimatis .....	23
2.9 Malonildehid (MDA) .....	27
<b>BAB III. METODA PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	29
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	29
3.3 Prosedur Kerja .....	30
3.3.1 Determinasi Tanaman.....	30
3.3.2 Persiapan Bahan Utama.....	30
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Akar Daruju .....	31
3.3.4 Identifikasi Ekstrak .....	31
3.3.5 Karakteristik Ekstrak Akar Daruju .....	33



3.3.6 Uji Identifikasi Ekstrak .....	33
3.3.7 Persiapan Bahan Uji .....	34
3.3.7.1 Pembuatan Larutan Karbon CCl <sub>4</sub> .....	34
3.3.7.2 Pembuatan Dosis Ekstrak Akar daruju .....	34
3.3.7.3 Perlakuan Terhadap Hewan Uji .....	34
3.3.7.4 Pengambilan Serum Darah .....	35
3.3.7.5 Pengukuran SGPT .....	36
3.3.8 Pembuatan Homogenat Hati .....	36
3.3.8.1 Pengukuran Kadar MDA .....	37
3.3.8.2 Pembuatan Kurva Standard .....	37
3.3.8.3 Pengukuran Kadar Sampel .....	38
3.3.8.4 Pengukuran Kadar GSH-Px .....	38
3.3.9 Pemeriksaan Histologi Hati Mencit Putih .....	39
3.4 Analisa Data .....	43

#### **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Hasil Determinasi dan Fitokimia .....	45
4.2 SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transferase) .....	47
4.3 Diameter Vena .....	49
4.4 Persentase Kerusakan Sel Hepatosit .....	51
4.5 MDA (Malonildialdehid) .....	53
4.6 GSH-Px (Glutation Peroksidase) .....	54

#### **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	56
5.2 Saran .....	56

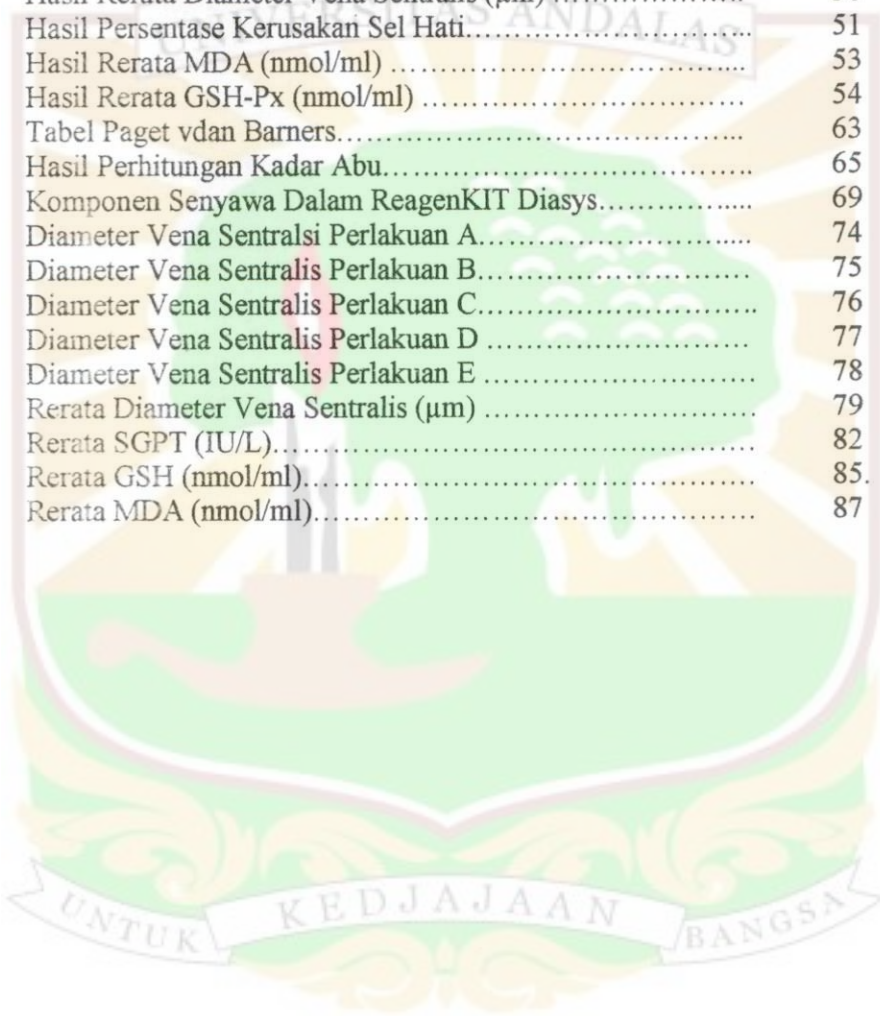
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>57</b>
-----------------------------	-----------

#### **LAMPIRAN**



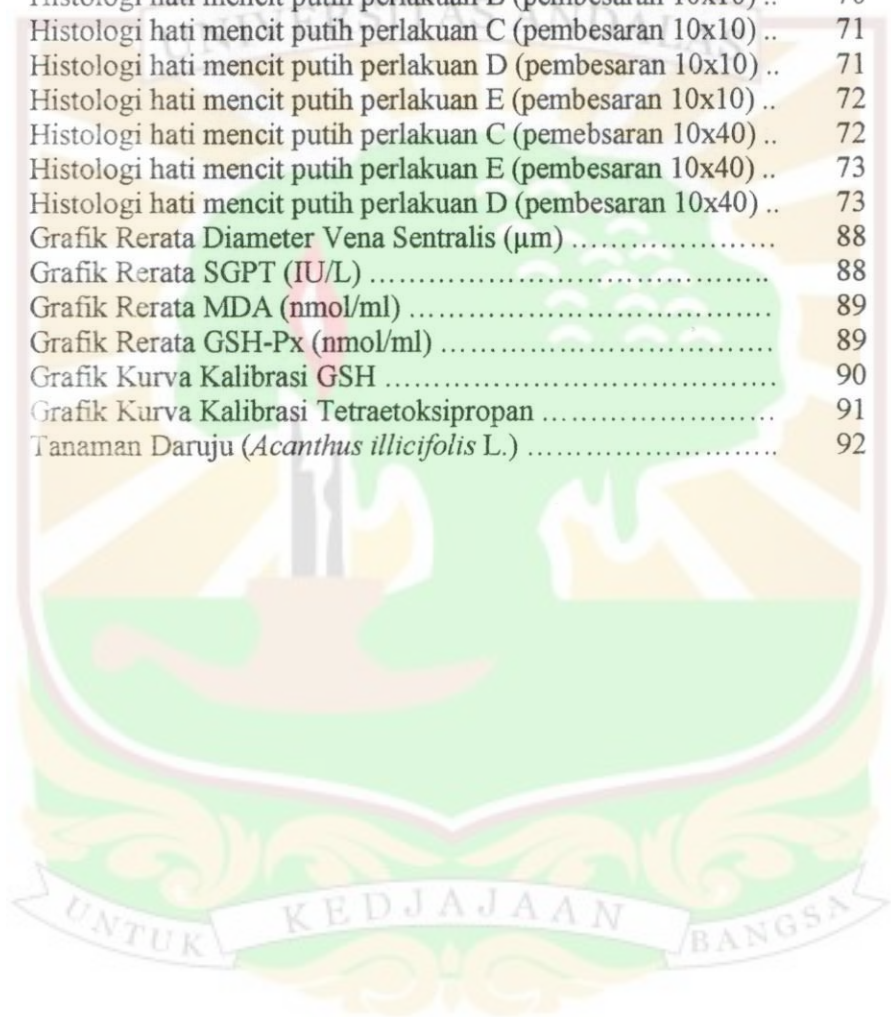
## DAFTAR TABEL

	Hlm.
1. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa.....	45
2. Hasil Susut Pengerinan dan Rendemen.....	46
3. Hasil Identifikasi Mutu Ekstrak.....	46
4. Uji Organoleptik.....	46
5. Hasil Rerata SGPT (IU/L).....	47
6. Hasil Rerata Diameter Vena Sentralis ( $\mu\text{m}$ ).....	50
7. Hasil Persentase Kerusakan Sel Hati.....	51
8. Hasil Rerata MDA (nmol/ml).....	53
9. Hasil Rerata GSH-Px (nmol/ml).....	54
10. Tabel Paget vdan Barners.....	63
11. Hasil Perhitungan Kadar Abu.....	65
12. Komponen Senyawa Dalam ReagenKIT Diasys.....	69
13. Diameter Vena Sentralis Perlakuan A.....	74
14. Diameter Vena Sentralis Perlakuan B.....	75
15. Diameter Vena Sentralis Perlakuan C.....	76
16. Diameter Vena Sentralis Perlakuan D.....	77
17. Diameter Vena Sentralis Perlakuan E.....	78
18. Rerata Diameter Vena Sentralis ( $\mu\text{m}$ ).....	79
19. Rerata SGPT (IU/L).....	82
20. Rerata GSH (nmol/ml).....	85
21. Rerata MDA (nmol/ml).....	87



## DAFTAR GAMBAR

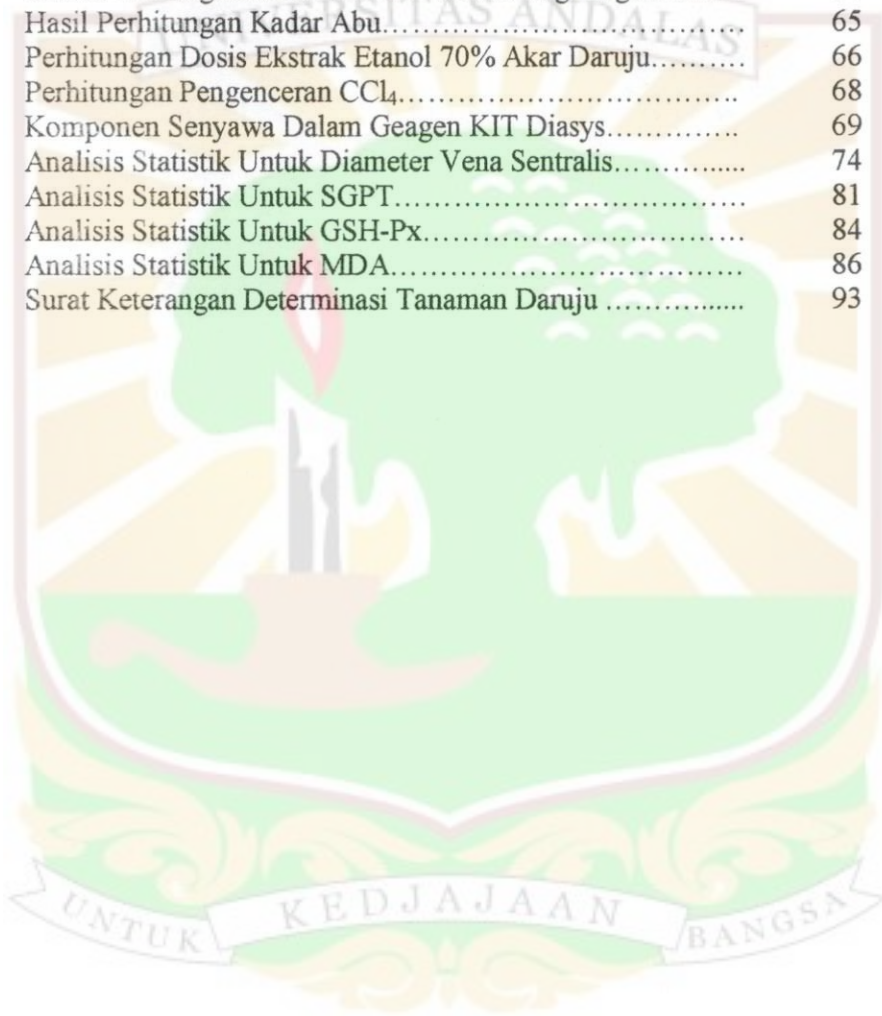
	Hlm.
1. Peran SOD dalam menjaga keseimbangan antara pembentukan Superoksid dan peruraiannya .....	23
2. Rumus Bangun Glutation (Meister, 1988) .....	24
3. Persamaan reaksi dalam pengukuran Glutation .....	26
4. Reaksi anantara TBA dengan MDA .....	28
5. Histologi hati mencit putih perlakuan A (pembesaran 10x10) ..	70
6. Histologi hati mencit putih perlakuan B (pembesaran 10x10) ..	70
7. Histologi hati mencit putih perlakuan C (pembesaran 10x10) ..	71
8. Histologi hati mencit putih perlakuan D (pembesaran 10x10) ..	71
9. Histologi hati mencit putih perlakuan E (pembesaran 10x10) ..	72
10. Histologi hati mencit putih perlakuan C (pemebsaran 10x40) ..	72
11. Histologi hati mencit putih perlakuan E (pembesaran 10x40) ..	73
12. Histologi hati mencit putih perlakuan D (pembesaran 10x40) ..	73
13. Grafik Rerata Diameter Vena Sentralis ( $\mu\text{m}$ ) .....	88
14. Grafik Rerata SGPT (IU/L) .....	88
15. Grafik Rerata MDA (nmol/ml) .....	89
16. Grafik Rerata GSH-Px (nmol/ml) .....	89
17. Grafik Kurva Kalibrasi GSH .....	90
18. Grafik Kurva Kalibrasi Tetraetoksipropan .....	91
19. Tanaman Daruju ( <i>Acanthus illicifolis</i> L.) .....	92





## DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm.
1. Alur Penelitian Akar Daruju.....	61
2. Cara Kerja Pengukuran SGPT.....	62
3. Konversi perhitungan untuk berbagai jenis hewan dan manusia menurut Laurence dan bacaharach .....	63
4. Hasil Perhitungan Randemen dan Susut Pengeringan.....	64
5. Hasil Perhitungan Kadar Abu.....	65
6. Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol 70% Akar Daruju.....	66
7. Perhitungan Pengenceran $CCl_4$ .....	68
8. Komponen Senyawa Dalam Geagen KIT Diasys.....	69
9. Analisis Statistik Untuk Diameter Vena Sentralis.....	74
10. Analisis Statistik Untuk SGPT.....	81
11. Analisis Statistik Untuk GSH-Px.....	84
12. Analisis Statistik Untuk MDA.....	86
13. Surat Keterangan Determinasi Tanaman Daruju .....	93



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit hati masih merupakan penyakit yang paling serius dan menjadi permasalahan di seluruh dunia terutama yang disebabkan oleh bahan-bahan kimia toksik seperti alkohol, paracetamol dosis tinggi, karbon tetraklorida, agen kemoterapi, minyak terperoksidasi, dan lain-lain. Pemakaian obat-obat konvensional dapat menimbulkan efek samping yang serius. Bahkan tidak ada obat hepatoprotektor yang efektif. "Plant Drugs" telah diketahui dapat mencegah dan mengobati penyakit hati (Abuelgasim, *et. al.*, 2008 ; Maheswari, *et. al.*, 2008).

Penyakit hati berhubungan dengan nekrosis sel akibat meningkatnya peroksidasi lipid dan menurunkan level GSH (glutation) sedangkan "Biochemical markers" di dalam serum seperti SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase), trigliserida, kolesterol, bilirubin dan alkalin pospat meningkat (Maheswari, *et. al.*, 2008).

Karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ) adalah suatu agen kimia selektif yang bersifat hepatotoksik.  $\text{CCl}_4$  sudah digunakan secara luas untuk menginduksi kerusakan hati pada percobaan eksperimental.  $\text{CCl}_4$  dimetabolisme di dalam tubuh menjadi triklorometil ( $\text{CCl}_3^*$ ) yaitu suatu senyawa yang sangat reaktif disebut radikal bebas. Senyawa radikal bebas ini membentuk ikatan kovalen dengan pospolipid membran dan menyebabkan peroksidasi lipid (Abuelgasim, *et. al.* , 2008 ; Sen, *et.*

al.,2007). Peroksidasi lipid akan menghasilkan senyawa keton diantaranya MDA atau Malonildialdehid (Magdalena, 2007).

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas. Antioksidan dapat dihasilkan dari dalam tubuh disebut antioksidan internal yaitu berupa enzim Super Oksida Dismutase (SOD), katalase dan Glutathion peroksidase (GSH-Px). Ketiga enzim ini dapat mengurangi pembentukan radikal bebas (Halliwell, 1989).

*Acanthus illicifolius* L (daruju) adalah suatu tanaman herba yang mempunyai aktifitas farmakologis yang signifikan. Organ-organ aerial (yang terdapat di atas tanah) mempunyai aktifitas sebagai antiinflamasi, antiosteoporosis, hepatoprotektor dan antikarsinogenik. Akar daruju bersifat sebagai ekspektoran sehingga di India digunakan sebagai obat batuk dan asma, tonik penguat saraf sehingga dapat digunakan sebagai obat paralisis, selain itu juga digunakan sebagai astringen (Sigh *et. al.* 2009).

Tanaman daruju termasuk tanaman hias tersebar liar di daerah pantai, tepi sungai, tanah berlumpur dan berair payau. Bagian yang lazim digunakan untuk obat tradisional adalah herba (bagian di atas tanah) dan akar. Herba yang digunakan berupa herba segar atau yang telah dikeringkan. Akar daruju mengandung saponin, flavonoid dan folifenol (Dalimartha, 2006).

Berdasarkan data-data yang diperoleh, penulis bermaksud membuat suatu penelitian : "PENGARUH EKSTRAK ETANOL AKAR DARUJU (*Acanthus illicifolius* L.) TERHADAP HEPATOSIT MENCIT



PUTIH (*Mus musculus* L. ) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA”.

Parameter yang diamati adalah SGPT, GSH-Px (Glutation peroksidase dan MDA dan histologi hati.

#### 1.2 Identifikasi Masalah.

Apakah ekstrak etanol 70% akar daruju mempengaruhi kerusakan hati dan menambahkan efek oksidatif.

#### 1.3 Pembatasan Masalah.

Penelitian ini hanya dibatasi untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol 70% dari akar daruju terhadap kerusakan hati melalui pengukuran SGPT, Glutation peroksidase (GSH-Px) dan Malonildaldehit (MDA) pada mencit putih jantan yang diinduksi dengan karbon tetraklorida.

#### 1.4 Perumusan Masalah.

Berdasarkan identifikasi masalah dan pembatasan masalah di atas, dapat dirumuskan sebagai berikut : ” Apakah ekstrak etanol 70% akar daruju mempunyai efek terhadap hati yang rusak”.

#### 1.5 Hipotesa.

Ekstrak etanol 70% akar daruju mempunyai aktifitas sebagai hepatoprotektor atau hepatotoksik.

### 1.6 Tujuan Penelitian.

Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol 70% akar daruju terhadap hati yang rusak melalui pengukuran SGPT dan sebagai oksidasi melalui pengukuran GSH-Px, MDA dan histologi pada mencit putih.

### 1.7 Manfaat Penelitian.

Untuk memberi informasi mengenai akar daruju apakah dapat melindungi hati dari kerusakan ataupun merusak hati.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Tanaman *Acanthus illicifolius* L. (daruju).

##### 2.1.1 Identifikasi tanaman (Tjitrosoepomo, 1994)

Tanaman daruju dapat diklassifikasikan sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub. Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Solanales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Acanthus</i>
Spesies	: <i>Acanthus illicifolius</i> Linn.

##### 2.1.2 Nama Daerah (Dalimartha, 2006).

Sumatra	: Jeruju (Melayu)
Jawa	: Daruju.

##### 2.1.3 Nama Asing (Syaamsuhidayat, 1995)

Nama asing tanaman ini adalah Lao shule, sea holly.

##### 2.1.4 Deskripsi Tanaman (Pudjiastuti, 1997 ; Syaamsuhidayat, 1995).

Habitat	: Semak, tahunan, tinggi 0,75 – 1,5 m.
Batang	: Berkayu, bulat, permukaan licin, berduri pada sekitar duduk daun, bercabang, hijau.



- Daun : Tunggal, bersilang berhadapan, bulat panjang, ujung dan pangkal runcing, tepi berduri, panjang 10- 20 cm, lebar 5-6 cm, pertulangan, menyirip, hijau.
- Bunga : Majemuk, bentuk bulir, di ujung batang, panjang 6-30 cm, daun pelindung berlapis dua, bagian dalam lebih kecil, gugur sebelum bunga mekar, kelopak panjang 12,5- 15 mm, berbagi empat, mahkota panjang 3- 4,5 cm. Bertabung pipih, bibir bulat telur, ujung bertaju tiga, ungu kebiruan.
- Biji : Bentuk ginjal, dua sampai empat, hitam.
- Buah : Kotak, bulat telur, panjang  $\pm$  3 cm, coklat.
- Akar : Tunggang, berwarna putih kekuningan.

### 2.1.5 Kandungan Kimia.

Akar daruju mengandung saponin, flavonoid dari jenis flavon dan polifenol. (Dalimartha, 2006) dan asam amino (Asmawati, FF. Widman, 1990).

### 2.1.6 Ekologi dan Penyebaran (Dalimartha, 2006).

Daruju (*Acanthus illicifolius* L.) merupakan jenis tanaman hias yang tumbuh liar di tepi pantai, tepi sungai, tanah berlumpur dan berair payau.

## 2.2 Reaksi Peradangan Hati Yang Diinduksi Oleh Karbon Tetraklorida

Menurut para peneliti ada beberapa mekanisme kerja  $\text{CCl}_4$  dalam merusak sel hati, yaitu :

- a. Menurut Sen, *et. al.* (2007) menyatakan bahwa  $\text{CCl}_4$  di dalam hati dimetabolisme oleh sitokrom P-450 di dalam sel hati menjadi triklorometil ( $\text{CCl}_3^*$ ) yang sangat reaktif.  $\text{CCl}_3^*$  ini adalah suatu radikal bebas reaktif menginisiasi kerusakan sel hati dalam dua mekanisme yaitu pertama dengan cara membuat ikatan kovalen dengan membran lipid sel dan mekanisme kedua adalah dengan memperoksidasi membran lipid.
- b. Bhattacharyya, *et. all.* (2003) menyatakan bahwa  $\text{CCl}_4$  di dalam hati dimetabolisme menjadi triklorometil ( $\text{CCl}_3^*$ ) yang merupakan suatu radikal bebas yang sangat reaktif.  $\text{CCl}_3^*$  ini menyebabkan autooksidasi asam lemak yang terdapat di pospolipid dari membran sitoplasmik yang membuat perubahan morfologi dan fungsional membran sel. Influx dari  $\text{Ca}^{2+}$  ekstraselular ke dalam sel dinyatakan sebagai tahap utama penyebab kematian sel.
- c. Menurut Abuelgasim, *et. al.* (2008) menyatakan bahwa  $\text{CCl}_4$  akan menyebabkan kerusakan membran hepatosit melalui reaksi radikal bebas. Reaksi perubahan  $\text{CCl}_4$  terjadi di dalam retikulum endoplasma halus (smooth ER) hepatosit dengan bantuan enzim P-450 dan menghasilkan  $\text{CCl}_3^*$  yang sangat reaktif. Reaksi selanjutnya terjadi antara  $\text{CCl}_3^*$  dengan pospolipid membran sel dengan bantuan oksigen membentuk peroksidasi lipid berjalan sangat cepat dan dapat meluas ke sel yang normal. Reaksi radikal bebas berlangsung terus dari satu

bentuk ke bentuk lain secara berantai dan autokatalitis. Pengakhiran reaksi berantai radikal bebas (terminasi) terjadi karena adanya inaktivasi radikal tersebut yang dapat terjadi melalui mekanisme antioksidan. Peroksidasi lipid akan menghasilkan senyawa keton diantaranya malondialdehid (MDA).

### 2.3 Hepatotoksik.

Hepatotoksik adalah senyawa yang mempunyai aktifitas merusak sel-sel hati. Beberapa senyawa kimia telah diketahui bersifat hepatotoksik seperti alkohol, paracetamol dosis tinggi, karbon tetraklorida, agen kemoterapi, minyak terperoksidasi dan lain-lain. Senyawa-senyawa ini dalam tubuh membentuk radikal bebas atau dimetabolisme menjadi suatu senyawa yang reaktif sehingga menyerang ikatan rangkap yang tidak jenuh dengan membentuk ikatan kovalen pada rantai asam lemak membran sel. Struktur membran sel berubah, permeabilitas sel berubah. Influx ion  $\text{Ca}^{2+}$  ekstraselular yang menjadi tahap awal kematian sel (kemudian sel menjadi pecah atau lisis dan akhirnya menjadi nekrosis (Bhattacharyya, *et. al.* 2003 ; Sen, *et. al.* 2007 ; Abuelgasim, *et. al.* 2008).

Obat-obat yang dapat menginduksi penyakit hati ada beberapa pola yaitu : (Dipiro, 2006)

#### 2.3.1 Reaksi Idiosyncratic.

Beberapa obat, ada yang secara genetik ditemukan sebagai toksik dalam jalur-jalur metabolisme khusus. Sebagai contoh Sulfonilurea seperti



Glipizid dan antibiotik Cyprofloxacin dapat menyebabkan penyakit hati pada pasien transplantasi walaupun kejadiannya sangat kecil. Reaksi idiosyncratis sangat jarang dan kadang-kadang ada hubungannya dengan hipersensitifnya hati terhadap obat-obatan (Lee, 2003). Banyak obat yang dapat menimbulkan reaksi alergi di hati dan jenis kerusakannya juga berbeda-beda. Trimethofrim dan Dicloxacillin dapat menyebabkan hepatitis hipersensitif pada beberapa pasien yang biasanya muncul 4 minggu setelah terapi ditandai dengan demam, pruritus, kemerahan, eosinophilia, artritis dan anemia hemolitik (Olsson, 1992 dan Lindgren, 1994). Pada biopsi hati terlihat adanya granul (Pohl, 1990).

### **2.3.2 Hepatitis Toksik.**

Reaksi toksik pada hati dapat diprediksi dan sering berhubungan dengan dosis. Acetaminofen pada dosis tinggi dimetabolisme menjadi suatu senyawa intermediet toksik yang dikenal sebagai N-acetyl-P-benzoquinon imin (NAPQI). NAPQI ini sangat reaktif, afinitas tinggi terhadap group sulfidril. Asam amino glutation adalah sumber sulfidril di dalam sel hati. Jika NAPQI ini banyak terdapat di dalam hati, maka glutation di hati tidak cukup untuk mendetoksifikasi metabolit ini. Toksisitas acetaminofen ada 4 tahap. Satu jam pertama setelah ingesti, pasien mengalami gejala ringan seperti pusing dan muntah-muntah. Setelah 40-50 jam ingesti, terjadi peningkatan aktifitas enzim-enzim hati di dalam plasma (Black, 1980).

Penggunaan Aspirin pada anak-anak dapat menyebabkan Reye's Syndrom. Valproat juga diketahui mempunyai pola yang sama. Proses

awal dari Reye's Syndrom ditandai dengan disfungsi mitokondria ditandai dengan menurunnya Asyl Koenzim A dan Karnitin yang dapat menyebabkan hipoglekemi karena menumpuknya asan lemak dan glukoneogenesis gagal yang akhirnya merusak siklus urea akibat menurunnya removal dari amonia. Akibatnya terjadi peningkatan amonia dan protrombin time. Pada Reye's Syndrom tahap lanjut dapat menimbulkan hipertensi intrakranial (Belay, 1999 dan Monto, 1999).

### **2.3.3 Hepatitis Toksik Aktif Kronis.**

Dantrolon, isoniazid, fenitoin nitrofurantoin dan trazodon dilaporkan dapat menyebabkan penyakit hati autoimun mediated (Lee, 1995 dan Fernades, 2000). Penyakit ini bersifat progresif dan rata-rata kematian tinggi pada perempuan dibandingkan laki-laki. Pada kebanyakan pasien ditemukan antinuklear antibodi. Pemberian obat-obat ini membentuk antiorganel antibodi (Beane, 1993).

### **2.3.4 Sirosis.**

Adanya luka atau parut pada hepatitis dapat berkembang menjadi sirosis. Beberapa obat dapat menyebabkan hepatitis ringan dan tidak terdeteksi. Hepatitis ringan dapat disebabkan oleh infeksi virus. Jika pemberian obat atau agen tidak dihentikan, maka kerusakan akan terus berlanjut. Akhirnya pasien bukan hanya mengalami hepatitis saja tetapi juga mengalami sirosis. Metotreksat dapat menyebabkan fibrosis periportal. Luka dapat terbentuk karena adanya senyawa bioaktif yang merupakan hasil metabolisme oleh sitokrom P-450 (Hashkes, 1999).

Vitamin A secara normal disimpan di dalam sel-sel hati. Pemakaian dalam jangka waktu lama pada dosis tinggi dapat menyebabkan hipertropi dan fibrosis. Hepatomegali sering ditemukan pada pada pasien ascites dan hipertensi portal. Toksisitas vitamin A juga dapat menyebabkan ginggivitis dan kulit kering (Leo, 1999).

### 2.3.5 Gangguan Pembuluh Hati.

Obat-obatan yang bersifat sitotoksik (anti kanker), pirrolizidin dan hormon-hormon seks dapat menyebabkan luka fokal pada vena hepatic, sinusoid dan vena portal. Azathioprin dan teas herbal yang mengandung comprey (sumber alkaloid pirrolizidin) dapat menyebabkan gangguan vena-occlusive. Kejadian ini jarang dan ada hubungannya dengan dosis (Lewis, 2000). Luka pada pembuluh hepatic disebut Peliosis Hepatitis dimana darah mengisi lakuna parenkim hati. Hancurnya lakuna dapat menimbulkan "*peritoneal hemorrhage*". Peliosis Hepatitis dapat disebabkan oleh androgen, estrogen, tamoxifen, azatioprin danazol. Androgen yang memiliki alkilasi metil pada C17 dari struktur Testosteron dilaporkan menjadi agen penyebab timbulnya Peliosis Hepatitis sekurang-kurangnya setelah 6 bulan terapi (Soe, 1994).

### 2.3.6 Nekrosis Sentrolubular.

Sentrolubular nekrosis disebut juga dengan "*direct hepatotoxicity* atau *metabolite related hepatotoxicity*". Sentrolubular nekrosis biasanya disebabkan oleh metabolit toksik, dengan pola kerusakan menyebar ke arah luar dari tengah lobulus hati. Kerusakan pada parenkim hati dan enzim transaminase meningkat. Gejala nekrosis sentrolubular seperti



pusing, muntah, sakit pada perut bagian atas dan jaundice (Fernandez, 2000 dan Fontana, 1999).

### 2.3.7 Steatohepatitis.

Steatohepatitis disebut juga steatonekrosis atau nekrosis akut akibat akumulasi asam lemak di dalam sel hepatosit. Steatohepatitis dapat disebabkan oleh obat atau metabolit yang dapat mengoksidasi asam lemak di dalam mitokondria sel hepatosit. Kantung-kantung hepatic berisi asam lemak yang dapat merusak keseimbangan internal sel hepatosit. Pada biopsi hati ditandai dengan infiltrasi masif dari leukosit polimorponuklear, degenerasi sel hepatosit dan adanya "*Mallory Body*" (Lewis, 2000).

Alkohol adalah obat yang paling sering menyebabkan steatonekrosis dengan mekanisme dikonversinya alkohol menjadi asetaldehid yang dapat meningkatkan asam lemak, sehingga sel hepatosit berisi kantung-kantung lemak kecil dan akhirnya pecah menimbulkan inflamasi sel hepatosit. Steatonekrosis non alkohol juga mempunyai pola yang sama yaitu melalui mekanisme oksidasi lipid peroksidase (Bohan, 2002).

Tetrasiklin dapat menyebabkan steatohepatitis dan steatosis ditandai dengan adanya kantung-kantung lemak besar tersebar di hati (Lee, 1993). Kematian akibat steatohepatitis tetrasiklin sangat tinggi yaitu 70%-80% dan sering berkembang menjadi sirosis.

Sodium Valproat juga dapat menimbulkan steatonekrosis dengan mekanisme bioaktifasi. Sodium Valproat dikonversi oleh sitokrom P-450

menjadi D-4-Valproid Acid, yaitu suatu senyawa yang potensial menginduksi terbentuknya kantung-kantung lemak kecil (Konig, 1999).

#### **2.3.8. Jaundice Kolestatik.**

Jaundice kolestatik atau Koleostasis disebabkan oleh rusaknya bile kanalikuli atau sistem duktus. Kolestasis kanalikuli sering ditemukan pada pemakai estrogen dosis tinggi dalam waktu yang lama. Terjadi peningkatan bilirubin ringan sampai moderat (Foitl, 1989).

#### **2.3.9 Kombinasi Nekrosis Hepatoselluler Dengan Koleostasis.**

Flutamid telah diketahui dapat menimbulkan nekrosis hepatosit dan koleostasis setelah 48 minggu pemakaian (Cetin, 1999). Niasin dosis lebih dari 3 gr/hari, atau dosis lebih dari 1 gr/hari dalam bentuk sustain release juga menimbulkan pola kerusakan yang sama (Rader, 1992). Pasien diawali dengan gejala ringan tetapi dapat berkembang menjadi gagal hati fulminat.

#### **2.3.10 Neoplastik.**

Karsinoma hepatoseleuler dan kolangiokarsinoma adalah jenis neoplasma ganas yang paling umum pada hati. Jenis karsinoma lainnya adalah angiokarsinoma, karsinoma kelenjar, karsinoma trabekular dan karsinoma sel hati yang tidak terdiferensiasi (Lee, 1996).

Polivinil klorida dapat menimbulkan kanker hati pada pekerja plastik yang terpapar sekurang-kurangnya 3 tahun (Danan, 1993)

## 2.4 Hati

Hati adalah kelenjar terbesar dalam tubuh, berat rata-rata sekitar 1500 gram atau 2% berat badan orang dewasa normal. Hati merupakan organ lunak yang lentur dan tercetak oleh struktur di sekitarnya. Dalam keadaan segar warnanya merah kecoklatan. Hati terletak pada kavum abdominalis regio hipokondrium bagian kanan, terbagi menjadi tiga lobus, yaitu lobus kanan (terbesar), kiri dan kaudal (terkecil), serta terbungkus oleh sebuah lapisan mesotel serosa yang membentuk kapsulla glisson (Evelyn, 2002).

Secara histologis, hati dibangun oleh lobulus hati yang terdiri dari vena sentralis, sinusoid tersusun radial, dimana setiap sinusoid dipisahkan oleh 2 lapisan hepatosit. Traktus portal terletak di bagian tepi dari setiap lobulus. Setiap traktus portal mempunyai cabang terminal dari arteri hepatic, vena portal dan kantung empedu. Darah dari cabang-cabang arteri hepatic dan vena portal memasuki sinusoid dialirkan oleh vena centralis ke dalam vena hepatic. Sebuah kanikulus empedu kecil terdapat diantara 2 sel hepatosit yang berdekatan mengalirkan empedu ke dalam cabang "*bile duct*" yang terdapat pada traktus portal. Sinusoid hati berlumen lebar, permukaan sinusoid terdiri dari sel-sel endotelial. Pada lumen sinusoid terdapat banyak sel Kupfler yang bersifat fagositosis, dimana aktifitasnya sekitar 80% dari aktifitas fagositosis total dalam tubuh. Diantara sel endotelial dengan hepatosit terdapat ruang kecil disebut dengan "*space of Disse*" yang berisi serat-serat retikuler dan kadang-kadang ada sel stellate yang berfungsi sebagai penyimpan vitamin A (Marya, 2006).



Hati merupakan organ tubuh yang memiliki fungsi sangat banyak dan kompleks. Fungsi metabolis dari hati dibedakan atas 2, yaitu :

- 1). Fungsi dari sel-sel parenkim hati (hepatosit) :
  - a. Metabolisme dari karbohidrat, lemak, protein dan vitamin D.
  - b. Sintesa dari empedu, protein plasma (albumin), dan faktor koagulasi.
  - c. Penyimpanan dari glikogen, protein dan vitamin B12.
  - d. Ekskresi bilirubin.
  - e. Inaktivasi dan detoksifikasi dari hormon, obat, dan produk-produk toksik.
- 2). Fungsi dari sel-sel hati non parenkim.
  - a. Kupfler sel untuk *up take* dari lipoprotein, kompleks IgG, eritrosit tua, bakteri dan virus.
  - b. Sel-sel endotelial berfungsi sebagai lipoprotein uptake.
  - c. Sel-sel Stellate berfungsi sebagai penyimpanan vitamin A.

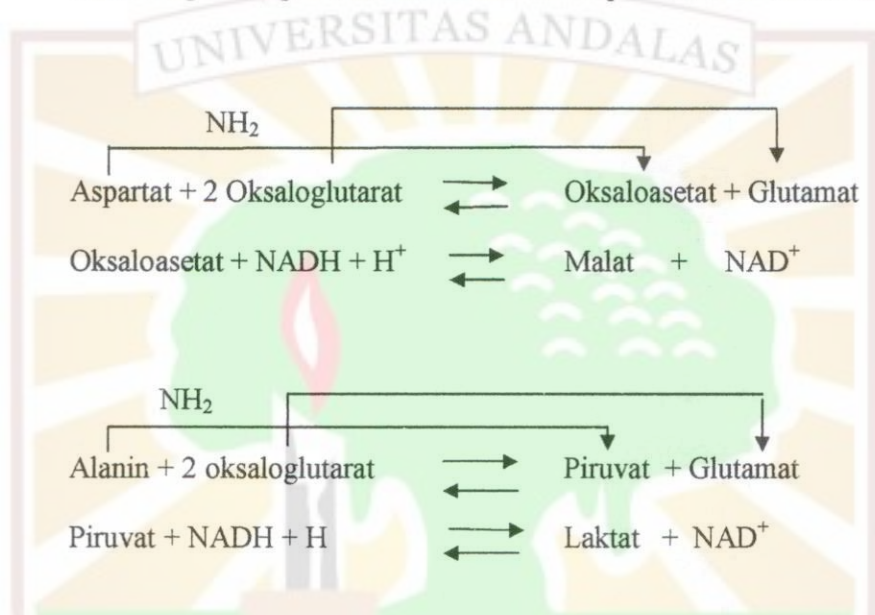
## 2.5. Enzim Aminotransferase (Price dan Lewis, 1981)

Enzim yang paling banyak digunakan dalam mendiagnosa penyakit hati adalah aminotransferase. Ada dua enzim aminotransferase yang digunakan untuk mendiagnosa penyakit hati yaitu :

1. Aspartat aminotransferase atau disebut juga dengan serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT). Selain di hati enzim ini juga banyak terdapat di dalam otot jantung.

2. Alanin aminotransferase atau disebut juga serum glutamat piruvat transaminase (SGPT).

Aminotransferase bersifat katalis, yang biasanya diuji oleh pasangan /coupling terhadap reaksi yang dikatalis oleh malat dan laktatdehidrogenase yang dapat dirubah dalam A 340 yang berhubungan dengan oksidasi NADH dan dapat diukur terus menerus.



Aspartat aminotransferase dan alanin aminotransferase dikategorikan sebagai enzim spesifik non plasma. Kedua enzim ini terlibat dengan metabolisme intraseluler dan tidak ada fungsinya di dalam plasma. Enzim ini dilepaskan dari hati jika sel parenkim hati mengalami nekrosis akibat dari infeksi virus, hepatitis toksik dan sirosis. Jumlah enzim ini meningkat di dalam plasma karena sel mengalami kerusakan atau hancur.

Aminotransferase ini di dalam serum dapat juga berasal dari jaringan jantung infark miokard, tetapi proporsi aspartat

aminotransferase dan alanin transferase berbeda. Ratio antara kedua amino tranferase digunakan untuk membedakan kondisi yang berbeda. Ratio antara aktifitas aspartat aminotransferase/ alanin aminotransferase di dalam jantung 20-25 kali lebih tinggi dari ratio dalam hati yang hanya 3-5 kali. Artinya aktifitas SGOT lebih tinggi di jantung, sedangkan aktiitas SGPT lebih tinggi di hati.

## 2.6 Antioksidan (Priyanto, 2007)

Antioksidan adalah senyawa yang diperlukan tubuh untuk menetralsir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena menetralsir radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh. Pembentukan radikal bebas di dalam tubuh dapat menimbulkan stress oksidatif, dimana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kemampuan tubuh untuk menetralsirnya. Agar tidak merusak tubuh, radikal bebas yang terbentuk harus diredam, untuk itu tubuh juga memproduksi antioksidan.

Antioksidan melindungi molekul target terhadap radikal bebas dengan cara :

1. Mengurangi pembentukan radikal bebas (SOD, katalase, GSH-Px).
2. Melindungi komponen sel utama yang menjadi sasaran radikal bebas.
3. Menangkap radikal bebas menggunakan protein atau enzim sebagai katalis atau dengan cara reaksi langsung.
4. Memperbaiki terget organ yang rusak.



5. Menggantikan sel yang rusak dengan sel baru.
6. Mengikat ion logam yang menyebabkan radikal bebas menjadi lebih reaktif.

Antioksidan terdiri dari antioksidan enzimatis (intraseluler) dan antioksidan non enzimatis (ekstraseluler).

1. Antioksidan enzimatis (intraseluler).

Yaitu bentuk pertahanan tubuh terhadap serangan radikal bebas yang berupa enzim yang terdiri dari SOD (superoksida dismutase), katalase, GSH-Px (Glutathione peroxidase).

2. Antioksidan non enzimatis (ekstraseluler).

Yaitu suatu zat yang menangkal serangan radikal bebas yang berasal dari luar, terdiri dari : antioksidan alami (vitamin E, vitamin C, lesitin, kurkumin, flavonoid); antioksidan buatan atau sintetis (butil hidroksi anisol / BHA, butil hidroksi toluena / BHT, dan profil galat).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia, sedangkan antioksidan alami adalah antioksidan hasil ekstraksi bahan alami.

Kebanyakan senyawa antioksidan alami yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan. Tumbuhan Angiospermae (berbiji tertutup) memiliki sekitar 250.000 sampai 300.000 species dan dari jumlah ini lebih kurang 400 species yang telah dikenal dan dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari

tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu berasal dari bagian yang dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenol yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktifitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin dan kalkon, sedangkan yang merupakan turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Senyawa antioksidan alami polifenolik bersifat multifungsional dan dapat bereaksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam dan peredam terbentuknya oksigen tunggal.

Kira-kira 2% dari seluruh karbon yang difotosintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan erat dengannya, sehingga flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam terbesar. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau, sehingga pastilah ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Kebanyakan dari golongan flavonoid dan senyawa yang berkaitan erat dengannya memiliki sifat antioksidan baik di dalam lipid cair maupun dalam makanan berlipid (Pratt, 1992).

Beberapa hasil penelitian pada berbagai tanaman yang mengandung senyawa antioksidan non volatile :

1. Akar jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) :

Komponen-komponen pedas dari jahe seperti 6 gingerol dan 6-shogaol dikenal memiliki aktifitas antioksidan cukup. Dari ekstrak jahe yang telah dibuang komponen volatilnya dengan destilasi uap, maka dari fraksi non volatilnya setelah pemurnian ditemukan 4 senyawa gingerol dan 4 macam diarilheptanoid yang memiliki aktifitas antioksidan kuat.

2. Cabe (*Capsicum frutescens* L.) :

Memiliki senyawa antioksidan yang disebut Capsicin dan Capsaicinol.

3. Lada (*Piper nigrum* L.) :

Diisolasi 5 macam senyawa antioksidan fenolik amida, yang tidak berasa pedas serta memiliki struktur kimia yang serupa dengan piperin yang berasa pedas (Nakatani, 1992).

4. Kedelai (*Glycine max* L.) :

Flavonoid pada kedelai unik, dimana dari semua flavonoid yang terisolasi dan teridentifikasi adalah isoflavon. Isoflavon kedelai terutama adalah 7-monoglukosida –isoflavon, dimana bagian glikosidanya 100 kali bagian aglikonnya. Senyawa antioksidan alami isoflavon dari kedelai tersebut adalah 5,7,5'-trihidroksiisoflavon-7-monoglukosida (genistein), 7,4'-dihidroksiisoflavon-7-monoglukosida (daidzein), dan 7,4'-dihidroksi6-metoksi-isoflavon-7-monoglukosida (glycitein).

5. Kacang tanah (*Arachis hypogaea*) :

Ditemukan senyawa antioksidan alami taxifolin.



6. Wijen (*Sesamun indicum*) :

Ditemukan antioksidan sesamin, sesamolin dan sesamol.

7. Biji bunga matahari (*Helianthus annus L*) :

Diperoleh antioksidan alami turunan asam sinamat, yaitu asam klorogenat dan asam kafeat (Shahidi dan Naczk, 1995).

**2.7 Radikal Bebas (Halliwell, 1989)**

Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya. Senyawa ini cenderung mengambil pasangan elektron dari molekul lain kemudian membentuk radikal bebas baru yang merugikan tubuh.

Pembentukan radikal bebas berasal dari :

1. Reaksi redoks yang melibatkan oksigen dan merupakan bagian dari metabolisme sel normal.
2. Respon terhadap radiasi sinar gamma, ultra violet, polusi lingkungan, asap rokok, hiperperoksida dan makanan berlemak tinggi.
3. Proses peradangan, radikal superoksida yang dihasilkan oleh sel fagosit.

Radikal bebas menimbulkan dampak yang kurang baik bagi tubuh, kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh radikal bebas antara lain.

1. Kerusakan protein.

Terjadinya kerusakan protein akibat serangan radikal bebas ini mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu

berada. Contohnya kerusakan pada lensa mata yang mengakibatkan katarak.

## 2. Kerusakan DNA.

Radikal bebas merupakan faktor yang menyebabkan kerusakan DNA, disamping penyebab lain seperti virus, radiasi, zat kimia. Bila kerusakan itu terlalu parah, maka kerusakan DNA ini masih dapat diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA. Namun bila sudah menyebabkan rantai DNA terputus, maka kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki lagi sehingga proses pembelahan sel terganggu.

## 3. Membran sel.

Komponen terpenting membran sel mengandung asam lemak tak jenuh ganda yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Jika ini diserang fungsi membran akan berubah dan dalam keadaan tertentu dapat mematikan sel-sel pada jaringan tubuh.

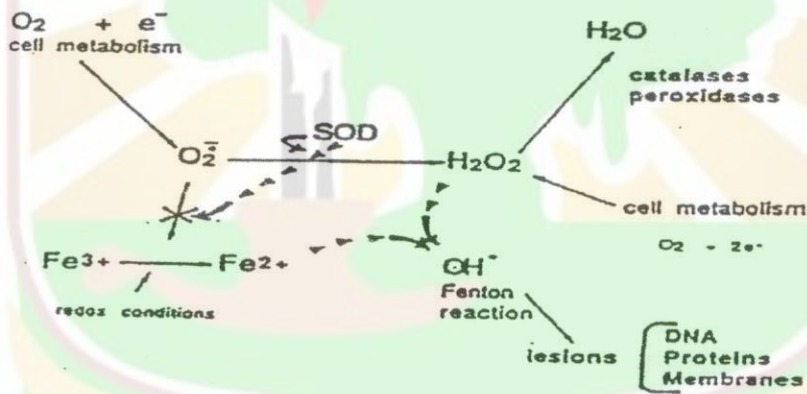
## 4. Penuaan dini.

Kerusakan jaringan secara perlahan akan menyebabkan penuaan terjadinya proses penuaan dini, seperti kulit kehilangan elastisitas, keriput pada kulit.

## 2.8 Antioksidan Enzimatis (intraseluler)

### 2.8.1 SOD (Super Oksida Dismutase)

Ada tiga jenis SOD yang diketahui, dua diantaranya terdapat pada manusia, yaitu CuZn-SOD dan Mn-SOD, sedangkan Fe-SOD tidak terdapat pada manusia. CuZn-SOD terdapat di reticulum endoplasmic, nucleus dan peroksisom sedangkan Mn-SOD terdapat pada mitokondria. Logam  $\text{Cu}^+$  sebagai katalisator sedangkan  $\text{Zn}^{2+}$  diperlukan sebagai stabilisator enzim. Fungsi SOD untuk mempercepat dismutasi  $\text{O}_2^{\bullet-}$  dan menjaga keseimbangan antara jumlah  $\text{O}_2^{\bullet-}$  dan pembentukan  $\text{H}_2\text{O}_2$ , sebagaimana gambar di bawah (Priyanto, 2007).



Gambar 1. Peran SOD dalam menjaga keseimbangan antara pembentukan superoksid dan peruraiannya.

Dari gambar di atas terlihat bahwa baik SOD kurang atau berlebihan akan mengganggu keseimbangan yang berakibat tidak baik. Jika SOD terlalu banyak,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , yang terbentuk dapat terlalu cepat dibandingkan peruraiannya oleh katalase atau peroksidase, yang potensial menghasilkan radikal  $\text{OH}^{\bullet}$ , begitu juga kalau kekurangan.



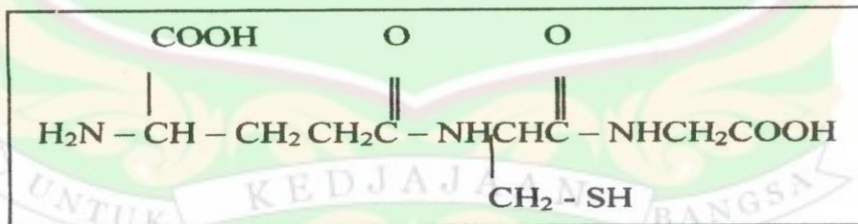
Kekurangan SOD akan terjadi akumulasi  $O_2^{\bullet-}$  yang dapat mereduksi  $Fe^{3+}$  menjadi  $Fe^{2+}$ , adanya ion ini akan memicu reaksi Fenton (Priyanto, 2007).

### 2.8.2 GSH-Px (Glutation Peroksidase)

Senyawa yang mengandung gugus sulfidril (-SH), pada dasarnya dibagi menjadi dua kelompok yaitu senyawa gugus -SH protein dan kelompok senyawa gugus -SH non protein (Meister, 1988).

Glutation adalah suatu senyawa tripeptida yang berperan dalam detoksifikasi, transfortasi, proses metabolisme dan sebagai antioksidan sel yang bekerja sinergis dengan antioksidan lemak dalam memecahkan peroksida lemak. Glutation tersebar luas dalam jaringan hewan (Meister, 1988).

Di dalam sel, lebih dari 90% total senyawa glutation merupakan glutation tereduksi (GSH), yang dapat teroksidasi menghasilkan senyawa disulfida yaitu glutation teroksidasi (GSSG) dengan bantuan enzim glutation peroksidase.



Gambar 2. Rumus bangun glutation (Meister, 1988).

Glutation peroksidase ditemukan di dalam sitosol dan mitokondria pada sejumlah jaringan. Enzim ini dapat mengoksidasi substratnya (GSH) menggunakan  $H_2O_2$  menjadi GSSG (glutatoin teroksidasi).

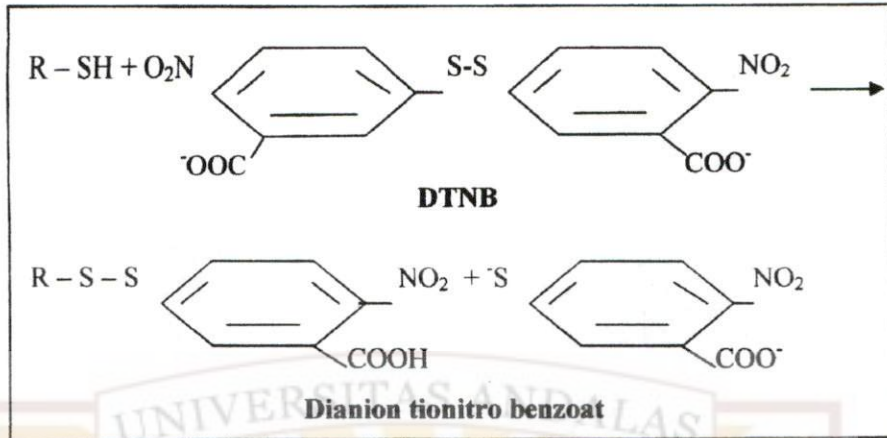
#### GSH-Px



Akumulasi GSSG dapat bersifat toksik karena dapat menginaktifkan sejumlah enzim, dapat berikatan dengan protein membentuk protein disulfid (protein S-S-G). Pada sel normal, ratio GSH/GSSG harus dijaga tetap tinggi, untuk itu harus ada mekanisme reduksi GSSG kembali ke GSH. Perubahan ini memerlukan enzim glutation reduktase melalui reaksi sebagai berikut :



Enzim glutation peroksidase pertama kali dideteksi oleh Mills pada tahun 1957 dalam eritrosit dan berfungsi melindungi hemoglobin dari pemecahan oksidatif. Pengukuran aktifitas GSH-Px dapat dilihat melalui kada glutation tereduksi, yaitu dengan cara mereaksikan glutation dengan pereaksi Ellman yang akan menghasilkan senyawa dianion tionitro benzoat yang berwarna kuning dan pembacaan serapan cahaya dilakukan pada panjang gelombang 412 nm (Meister 1988).



Gambar 3. Persamaan reaksi dalam pengukuran glutation (Meister 1988).

### 2.8.3 Katalase.

Katalase merupakan suatu enzim yang besar, mengandung 4 protein sub unit, yang masing-masing mempunyai Haem-Fe<sup>3+</sup>. Katalase bearada di peroksisom pada hampir semua jaringan mamalia. Namun di otot jantung kemungkinan juga terdapat di mitokondria. Semua sel aerobic mempunyai aktivitas katalase di eritrosit dan sel hepar. Enzim ini mengkatalisis peruraian peroksida menjadi air dan oksigen.

katalase



Proses ini sangat penting karena H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sangat berbahaya bagi kehidupan sel, baik tetap dalam bentuknya atau setelah mengalami perubahan menjadi radikal OH\*. Katalase mempunyai kapasitas yang sangat besar menguraikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> permolekul enzim tiap menitnya. Tetapi



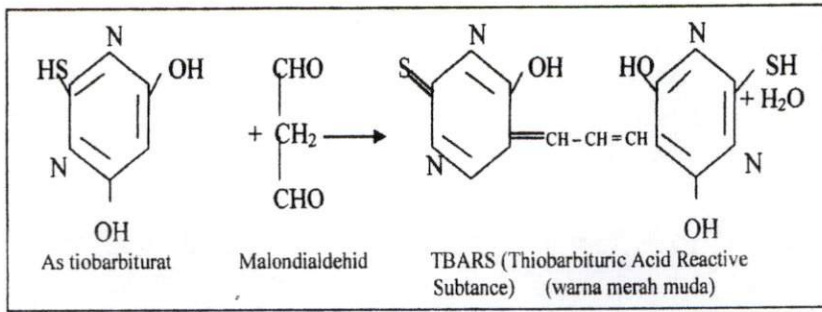
karena afinitasnya yang rendah terhadap  $H_2O$ , maka hanya akan bekerja kalau konsentrasi  $H_2O_2$  cukup tinggi.

## 2.9 Malonildialdehid (MDA) (Wills, 1996)

Malonildialdehid merupakan salah satu produk akhir yang rusak selama diproduksi karena peroksidasi lipid dan kerusakan membran akibat radikal bebas. MDA menyebar dan meningkatkan oedema sel dan mempengaruhi permeabilitas pembuluh darah, menyebabkan agregasi platelet sehingga menyebabkan inflamasi dan menurunkan aktifitas enzim.

Peroksidasi lipid terbentuk sebagai hasil reaksi antara radikal bebas dengan asam lemak tak jenuh pada struktur membran sel. Proses peroksidasi lipid umumnya dimulai dengan penarikan atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap asam lemak tak jenuh membentuk radikal lipid. Peroksidasi bersifat tidak stabil dan akan terurai menghasilkan sejumlah senyawa antara lain MDA. MDA terbentuk relatif konstan dan proporsional pada peroksidasi lipid sehingga merupakan indikator yang baik untuk mengetahui adanya peroksidasi lipid. Konsentrasi MDA dapat ditentukan dengan menggunakan metode Thiobarbituric acid (TBA).

Prinsip dari metode TBA ini adalah TBA bereaksi dengan gugus karbonil dari MDA akan berikatan dengan dua molekul TBA. Reaksi ini terjadi pada suhu panas ( $95^{\circ}C-100^{\circ}C$ ) pada suasana asam yang menghasilkan warna merah muda yang dapat diukur pada panjang gelombang 530 nm.



Gambar 4. Reaksi antara TBA dengan MDA



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.1.1 Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakologi UHAMKA, Litbangkes Biomedik dan Farmasi Kementerian Kesehatan Jakarta, Laboratorium Biokimia FK UI dan Laboratorium Histologi FMIPA UI Depok.

##### **3.1.2 Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2010 sampai dengan bulan Juni 1010 .

#### **3.2 Alat Dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat Penelitian.**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah toples berwarna gelap, rotary evaporator, oven, sonde, spuit, timbangan analitik, pinset, pipet tetes, botol timbang, alat-alat gelas, seperangkat alat bedah, sarung tangan, kapas steril, mikrosentrifuge, blender suhu 4°C, tabung sentrifuge, mikropipet dan spektrofotometer klinik (Varta-506).

##### **3.2.2 Bahan Penelitian.**

###### **3.2.2.1 Bahan Uji.**

Bahan yang akan diujikan adalah akar daruju yang diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Bogor dan diterminasi di herbarium Bogoriense-LIPI Cibinong.



### 3.2.2.2 Bahan Kimia Penelitian.

Untuk uji hepatoprotektor dibutuhkan karbon tetraklorida, minyak zaitun, aquadest, etanol 70%, etil asetat, eter, reagen dan SGPT (Diasys).

Untuk uji antioksidan dibutuhkan GSH, DTNB, larutan dapar pospat 0,1 N pH 7,4 dan pH 8, Tetra Etoksi Propan, Tiobarbituric acid dan TCA..

### 3.2.2.3 Hewan Uji.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus L.*) dari galur SD (Sprague Dawley) yang mempunyai berat badan sekitar 20-30 gram berumur 2 bulan yang diperoleh dari laboratorium Puslitbangkes Biomedik dan Dasar Teknologi Kesehatan Jakarta.

## 3.3 Prosedur Kerja

### 3.3.1 Determinasi Tanaman.

Simplisia yang digunakan adalah akar daruju diperoleh dari Balitro dan diteminasi di Herbarium Bogoriense, LIPI Bogor.

### 3.3.2 Persiapan Bahan Utama.

Akar daruju yang telah dikumpulkan disortir (dipisahkan) dari tanah dan kotoran lain, dicuci bersih, dan dipotong-potong melintang hingga tipis, kemudian ditiriskan untuk selanjutnya diangin-anginkan di udara terbuka hingga kering. Setelah kering, dihaluskan sampai menjadi serbuk dengan cara diblender. Kemudian ditimbang dan dicatat hasilnya.

### 3.3.3 Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Akar Daruju.

Serbuk halus simplisia sebanyak 500 gram dimasukkan dalam toples kaca lalu dimaserasi dengan etanol 70% sampai simplisia terendam. Selama perendaman dilakukan pengadukan beberapa kali agar senyawa yang terkandung dalam akar dapat lebih larut. Kemudian saring dengan kertas saring dan ampasnya direndam kembali dengan etanol 70%. Dilakukan 3 kali setiap 3 hari sekali perlakuan sehingga diperoleh maserat, kemudian maserat yang sudah jadi diuapkan dalam *rotary evaporator* pada suhu 60° C hingga diperoleh ekstrak yang kental yang masih dapat dituang.

### 3.3.4. Identifikasi Ekstrak.

#### 3.3.4.1 Identifikasi Alkaloid.

Sebanyak 500 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 ml amoniak kemudian digerus dengan mortir. Tambahkan 29 ml kloroform dan digerus kembali campuran disaring. Selanjutnya pada filtrat ditambahkan asam klorida 2N (1:10 V/V). Hasil penarikan masing-masing diberi pereaksi Dragendroff dan Mayer. Endapan merah dengan pereaksi Dragendroff dan endapan putih dengan pereaksi Meyer menunjukkan adanya alkaloid.

#### 3.3.4.2 Identifikasi Flavonoid.

Sebanyak 2 gram ekstrak simplisia ditambahkan 100 ml air panas. Dididihkan selama 15 menit, selanjutnya disaring dengan kertas saring dan filtrat yang diperoleh digunakan sebagai larutan percobaan. Sebanyak 1 ml larutan percobaan diuapkan sampai kering sisanya dilarutkan dengan etanol 70% P ditambahkan 500 mg serbuk magnesium P serta 2 ml asam

klorida 2N. Didiamkan selama 1 menit, lalu ditambahkan 10 tetes asam klorida P. Jika dalam 2-5 menit terjadi warna merah intensif, menunjukkan adanya flavonoid.

#### **3.3.4.3 Pemeriksaan Safonin.**

Dimasukkan 500 mg ekstrak ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 ml air panas, lalu didinginkan dan selanjutnya dikocok dengan kuat selama 10 detik. Kemudian amati ada tidaknya buih. Jika terbentuk buih setinggi  $\pm 3$  cm dan pada penambahan asam klorida buih tidak hilang, maka simplisia mengandung safonin.

#### **3.3.4.4 Pemeriksaan Terpenoid/Steroid.**

Sebanyak 3 gram ekstrak kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 5 ml kloroform. Dipanaskan sebentar di dalam penangas air sambil dikocok-kocok lalu didinginkan. Diambil 1 ml kloroform dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang lain. Ke dalam tabung reaksi diteteskan pereaksi Libermann-Bauchad yang terdiri dari 20 tetes anhidrat asetat dan 1 tetes  $H_2SO_4$  pekat maka akan terbentuk warna hijau sampai biru untuk terpen dan warna merah untuk steroid.

#### **3.3.4.5 Pemeriksaan Tanin.**

Ditimbang sebanyak 500 gram ekstrak lalu ditambahkan 50 ml air dan dididihkan selama 150 menit, dinginkan, saring dengan kertas saring. Filtratnya diambil lalu ditambahkan 1-2 tetes  $FeCl_3$  1% akan terbentuk biru tua (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekuat) menunjukkan adanya tanin.



### **3.3.5 Karakteristik Ekstrak Akar Daruju.**

#### **3.3.5.1 Uji Organoleptik.**

Untuk mengetahui karakteristik ekstrak akar daruju dapat diuji dengan pemeriksaan organoleptis yang meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

#### **3.3.5.2 Susut Pengeringan.**

Serbuk simplisia ditimbang secara seksama sebanyak 2 gram lalu dimasukkan ke dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya dipanaskan pada suhu 150°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelem ditimbang serbuk diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga terbentuk lapisan tebal yang kurang lebih 5 mm sampai 10 mm kemudian dimasukkan ke dalam oven. Setelah itu masukkan ke dalam eksikator dan timbang hingga bobot tetap.

### **3.3.6 Uji Identifikasi Mutu Ekstrak.**

#### **3.3.6.1 Penetapan Kadar Abu.**

Ekstrak ditimbang sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan ke dalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditara. Setelah ekstrak dimasukkan ke dalam krusibel silikat dipijarkan secara perlahan-lahan hingga arangnya habis, lalu didinginkan dan ditimbang. Jika arang tidak dapat dihilangkan, tambahkan air panas, saring dengan menggunakan kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa abu dan kertas saring dalam krusibel yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krusibel, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, lalu ditimbang. Hitung kadar abu yang telah dikeringkan di udara.

### 3.3.7 Persiapan Bahan Uji

#### 3.3.7.1 Pembuatan Larutan Karbon Tetraklorida (Vogel, *et. al.*, 2008).

Karbon tetraklorida mempunyai berat jenis 1,59 gram/ml, dibuat dengan pengenceran karena dosis yang akan diberikan sangat kecil. Untuk pengenceran digunakan minyak zaitun. Larutan karbon tetraklorida dosis 2 ml/kg BB (2,385 g/kg) sebanyak 2,5 ml dilarutkan dalam minyak zaitun hingga 30 ml.

#### 3.3.7.2 Pembuatan dosis ekstrak akar daruju

Berdasarkan International Journal of Phytomedicine I (2009) 1-3, bahwa ekstrak alkohol daun *Acanthus ilicifolius* L, dosis 250 mg/kg BB/ sampai dengan 500 mg/kg dapat menurunkan efek hepatotoksik pada tikus yang diinduksi dengan CCl<sub>4</sub>. Maka dibuatlah perlakuan dosis sebagai berikut :

- I. 250 mg mg/kg BB
- II. 1000 mg/kg BB
- III. 4000 mg/kg BB

#### 3.3.7.3 Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Mencit diadaptasikan di lingkungan laboratorium dan dikelompokkan dengan menggunakan rancangan acak lengkap. Setelah itu mencit diberi perlakuan sebagai berikut :

- 1). Kelompok A : Merupakan kelompok kontrol negatif . Mencit diberi aquades selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi minyak zaitun. Pada hari ke 11 diambil darahnya untuk diukur.

- 2). Kelompok B : Merupakan kelompok kontrol positif. Mencit diberi Aquades selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$ . Pada hari ke 11 diambil darahnya untuk diukur.
- 3). Kelompok C : Merupakan kelompok perlakuan dosis I. Mencit diberi ekstrak etanol akar dauju dosis 250 mg/kg BB selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$ . Pada hari ke 11 diambil darahnya untuk diukur.
- 4). Kelompok D : Merupakan kelompok perlakuan dosis II. Mencit diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$ . Pada hari ke 11 diambil darahnya untuk diukur.
- 5). Kelompok E: Merupakan kelompok perlakuan dosis III. Mencit diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mg/kg BB selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$ . Pada hari ke 11 diambil darahnya untuk diukur.

#### 3.3.7.4 Pengambilan Serum Darah

Hewan percobaan dimasukkan ke dalam toples yang berisi eter dan kapas. Setelah mencit pingsan, mencit diletakkan di atas papan bedah, keempat kakinya direntangkan dan diikat di pinggir papan bedah. Bersihkan dada dengan kapas yang telah diberi alkohol. Lalu dilakukan pembedahan. Jantung ditusuk dan diambil darahnya dengan menggunakan spuit 1 ml. Darah yang diambil dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge, letakkan dalam wadah berisi es dan didiamkan selama 10 menit. Sentrifuge 7500 rpm 10 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran SGPT menggunakan spektrofotometer.



### 3.3.7.5 Pengukuran SGPT

Darah diambil 50  $\mu$ l dengan mikropipet, lalu ditambahkan 500  $\mu$ l reagen kit pada suhu 37°C dan dikocok hingga homogen. Serapan diukur pada spektrofotometer klinik (Varta-506) pada panjang gelombang 340 nm.

### 3.3.7.6 Perhitungan Hasil

Data yang diperoleh adalah selisih serapan rata-rata / menit ( $\Delta A$ /menit). Pengukuran sampel dilakukan pada panjang gelombang 340 nm pada suhu 37°C. Uji antihepatotoksik dihitung dengan rumus

#### Pengukuran aktifitas SGPT

$$\frac{\text{Aktifitas SGPT CCl}_4 - \text{Aktifitas SGPT sampel}}{\text{Aktifitas SGPT CCl}_4 - \text{Aktifitas SGOT normal}} \times 100\%$$

### 3.3.8 Pembuatan Homogenat Hati

Organ hati diambil dari tubuh tikus yang sebelumnya telah dibius dengan eter dan dibedah. Selanjutnya organ hati dibersihkan dengan larutan NaCl 0,9% , lalu disimpan di dalam pot plastik dan disimpan pada suhu -20° C.

Selanjutnya diambil pot plastik yang berisi organ hati dalam NaCl 0,9%. Lalu gelas kimia diisi 50 ml dengan dapar posfat pH 7,4. Selanjutnya organ hati dicuci dengan larutan tersebut secukupnya sampai bersih lalu sisa larutan diserap dengan kertas saring sampai kering. Organ hati ditimbang, kemudian organ hati dicuci dengan larutan dapar posfat 5 kali berat jaringan hati, kemudian diblender. Sentrifuse 4000 rpm selama 5 menit (semua kegiatan dilakukan pada suhu 4° C. Lalu homogenat

diambil dengan mikropipet, lalu dimasukkan ke dalam pot dan disimpan di dalam lemari pendingin.

### 3.3.8.1 Penentuan kadar MDA (Wills, 1978)

Malonilaldehid bila direaksikan dengan asam tiobarbiturat (TBA) pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  akan membentuk senyawa berwarna merah muda yang serapannya dapat dibaca pada panjang gelombang 530 nm. Digunakan tetraetoksiopropan (TEP) sebagai standar dari pengukuran MDA.

Bahan :

- a. Homogenat hati.
- b. TCA 20%
- c. TBA 0,067%.
- d. Tetraetoksiopropan.

### 3.3.8.2 Pembuatan Kurva Standar

Untuk pembuatan kurva standar digunakan larutan standar tetraetoksiopropan (pengenceran 1/80.000 kali). Dari larutan tersebut diambil 10, 20, 30, 40, 50,  $\mu\text{l}$  menjadi 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 ; 2,5 nmol/ml masukkan ke tabung reaksi. Tambahkan aquades hingga 1 ml lalu dikocok sampai homogen. Kemudian ditambahkan 0,5 ml larutan TCA 20%, 1 ml larutan TBA 0,067% ke dalam masing-masing tabung tersebut, dikocok sampai homogen. Untuk blanko dimasukkan 1 ml aquades, 0,5 ml larutan TCA 20% dan 1 ml larutan TBA 0,67%, lalu dikocok sampai homogen. Larutan standar blanko dibuat duplo. Semua tabung dimasukkan dalam penangas air  $95^{\circ}\text{-}100^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit, kemudian didinginkan dengan

air mengalir. Absorban diukur pada panjang gelombang 530 nm. Dari data pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai absorban sebagai ordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar (nmol/ml) sebagai absis (X). Perhitungan dengan membuat persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar, yaitu :

$$Y = a + b x$$

### 3.3.8.3 Pengukuran Kadar Sampel

Ke dalam 1 ml homogenat hati ditambahkan 0,5 ml larutan TCA 20% kocok sampai homogen selama 1 menit lalu disentrifuse pada 400 rpm selama 5 menit. Ambil supernatan , lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 1 ml larutan TBA 0,67%, dikocok sampai homogen, lalu dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 95-100<sup>0</sup> C selama 10 menit, kemudian didinginkan dengan air mengalir. Serapan dibaca pada panjang gelombang 530 nm. Untuk penetapan kadar dibandingkan dengan kurva standar di atas.

### 3.3.8.4 Pengukuran Kadar GSH-Px (Ellman, 1959)

Larutan GSH 3 mg/25 ml dalam dapar posfat 0,1 M pH 8,0 digunakan sebagai standar. Dari larutan tersebut diambil 0,0 ; 50,0 ; 100,0 ; 150,0 ; 200,0  $\mu$ l menjadi 1,952 ; 3,904 ; 5,856 ; 7,809 nmol/ml dan masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya 1,0 ml larutan dapar posfat pH 8,0 dimasukkan dalam tabung tersebut. Kemudian ditambahkan aquades ad volume 10,0 ml, larutan tersebut dikocok ad homogen. Larutan tersebut dibuat duplo. Dari masing-masing tabung diambil 3,0 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam 5 tabung lainnya



dan ditambahkan dengan 0,02 µl reagen DTNB. Kemudian larutan tersebut dihomogenkan. Sisa larutan dari masing-masing tersebut digunakan sebagai blanko. Absorban diukur pada panjang gelombang 412 nm. Dari data pengukuran tersebut dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai absorban sebagai ordinat (Y) dan konsentrasi larutan standar (nmol/ml) sebagai absis (X). Perhitungan dengan membuat persamaan garis yang diperoleh dari kurva standar, yaitu :

$$Y = a + b x$$

Ke dalam 0,02 µl homogenat hati ditambahkan 1,0 ml larutan dapar posfat pH 8,0 dimasukkan dalam tabung tersebut. Kemudian ditambahkan aquades ad volume 10,0 ml, larutan tersebut dikocok ad homogen. Larutan tersebut dibuat duplo. Dari masing-masing tabung diambil 3,0 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam 5 tabung lainnya dan ditambahkan dengan 0,02 µl reagen DTNB, kemudian larutan tersebut dikocok kembali ad homogen, baca serapan pada panjang gelombang 412 nm. Untuk penetapan kadar dibandingkan dengan kurva standar di atas.

### 3.3.9 Pemeriksaan Histologi Hati Mencit Putih.

#### 3.3.9.1 Fiksasi.

Organ hati difiksasikan di dalam larutan Bouin selama 5 jam.

Komposisi larutan Bouin :

- Larutan asam pikrat jenuh 75 cc.
- Formalin komersial 20 cc.
- Asam asetat glasial 5 cc.

### 3.3.9.2 Pencucian.

Dicuci dengan ET-OH 80% dengan cara direndam selama 24 jam.

### 3.3.9.3 Dehidrasi.

Dehidrasi dilakukan secara bertahap dimulai dari merendam organ ke dalam larutan alkohol seri dimulai dari alkohol 50%, alkohol 60%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90% dan 100% selama 30 menit.

### 3.3.9.4 Penjernihan (clearing).

Penjernihan biasanya dilakukan secara bertahap. Setelah jaringan selesai didehidrasi di dalam alkohol 100%, selanjutnya organ hati dimasukkan di dalam larutan campuran alkohol 100% : xilol (1 : 1) selama 30 menit, lalu dilanjutkan di dalam xilol selama 30 menit.

### 3.3.9.5 Infiltrasi.

Infiltrasi merupakan tahapan dimana medium untuk menanam / embedding dimasukkan ke dalam jaringan secara bertahap. Medium yang digunakan untuk menanam adalah parafin.

Objek yang sudah dijernihkan di dalam xilol, dimasukkan ke dalam parafin lunak cair (di oven suhu 48°C) selama 15 menit. Lalu objek disalin ke dalam parafin medium (di oven suhu 52°C). Terakhir objek disalin ke dalam parafin keras (di dalam oven suhu 56°C).

### 3.3.9.6 Embedding (penanaman).

Embedding di dalam parafin. Pada saat penanaman / embedding dilakukan, maka sebelum jaringan / sampel ditanam terlebih dahulu, parafin di dalam kotak embedding harus membeku pada bagian dasarnya

sehingga objek tidak langsung menempel pada dasar kotak / tempat menanam.

#### **3.3.9.7 Penyayatan (Sectioning).**

Blok parafin yang berisi jaringan sebelum disayat, dibentuk terlebih dahulu (trimming). Bentuk blok parafin disesuaikan dengan bentuk serta ukuran pita yang diinginkan karena bentuk penampang pada blok parafin yang akan disayat merupakan bentuk pita yang akan diperoleh. Penyayatan dilakukan dengan rotary mikrotom.

Hasil sayatan berupa pita diletakkan pada baki khusus dan disusun sesuai dengan urutannya. Pengaturan tata letak pita biasanya dilakukan dengan kuas, sedangkan pemotongan dilakukan dengan pisau baja yang tajam.

#### **3.3.9.8 Menempel Sayatan**

Kaca objek dibersihkan dengan merendamnya di dalam alkohol 70% untuk menghilangkan kotoran atau sisa lemak, lalu dikeringkan. Kaca objek yang telah dibersihkan ditetesi albumin Meyer (Albumin / putih telur : glioserin (9 : 1) ), lalu disapukan secara merata pada permukaan kaca objek. Lalu dipanaskan pada meja pemanas (heating plate), sebelum sayatan diletakkan di atasnya kaca objek tersebut ditetesi air destilasi.

Air hangat pada kaca objek akan menghembangkan pita sayatan, sehingga ukuran sayatan akan mendekati ukuran yang sebenarnya. Setelah pita mengembang, kelebihan air dibuang dan sayatan yang menempel di kaca objek dilanjutkan dipanaskan. Setelah pita sayatan menempel dengan



baik pada kaca objek, maka preparat disimpan pada tempat yang tertutup (kotak preparat).

### 3.3.9.9 Pewarnaan (staining).

Pewarnaan yang digunakan adalah Haematoksislin Eosin. Pewarnaan dilakukan di dalam stainingjar dengan seri larutan sebagai berikut :

- a. Xilol I selama 3 menit.
- b. Xilol II selama 3 menit.
- c. Alkohol 100% selama 3 menit.
- d. Alkohol 96% selama 3 menit.
- e. Alkohol 80% selama 3 menit.
- f. Alkohol 70% selama 3 menit.
- g. Akuades selama 3 menit.
- h. Haematoksilin selama 3 menit.
- i. Sayatan dicuci dengan air ledeng mengalir selama 5 menit.
- j. Eosin.
- k. Alkohol 70% selama 3 menit.
- l. Alkohol 80% selama 3 menit.
- m. Alkohol 96% selama 3 menit.
- n. Alkohol 100% selama 3 menit.
- o. Alkohol 100% selama 3 menit.
- p. Xilol I selama 3 menit.
- q. Xilol II selama 3 menit.

### 3.3.9.10 Mounting.

Di atas sayatan ditetesi dengan Entellan atau Canada Balsam dengan penutup dengan cara membentuk sudut  $45^\circ$  guna mengurangi gelembung udara. Sisa Entellan dan zat warna dibersihkan setelah kering.

### 3.4 Analisa Data.

Penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit yang terbagi dalam 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 5 ulangan. Percobaan ini dihitung berdasarkan rumus Federer.

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

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$n \geq 4,7$$

$$n \approx 5$$

Dimana  $t$  = jumlah kelompok perlakuan

$n$  = ulangan

Kelompok hewan percobaan terdiri dari :

1. A adalah kelompok kontrol negatif
2. B adalah kelompok kontrol positif
3. C adalah kelompok perlakuan dosis I.
4. D adalah kelompok perlakuan dosis II
5. E adalah kelompok perlakuan dosis III.

Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan menggunakan uji ANOVA satu arah. Jika terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok dilakukan uji lanjut Tukey.





## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Determinasi dan Fitokimia

##### 4.1.1 Determinasi tanaman.

Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor didapat tanaman jenis *Acanthus illicifoliu* sL. dengan suku acanthaceae.

##### 4.1.2 Ekstraksi

Sebanyak 8 kg akar daruju segar yang telah dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan diperoleh akar daruju kering 1,2 kg. Akar daruju kering kemudian diserbukkan dengan menggunakan blender dan diperoleh 1 kg serbuk kering. Sebanyak 633,6 gr serbuk kering akar daruju dimaserasi dengan etanol 70% dan diperoleh maserat sebanyak 5 L. Selanjutnya maserat dirotary evaporator diperoleh ekstrak kental sebanyak 430 ml.

##### 4.1.2.1 Hasil identifikasi ekstrak

Tabel 1. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia

No.	Hasil pengujian	Ekstrak akar daruju
1.	Flavonoid	-
2.	Alkaloid	-
3.	Saponin	+
4.	Tanin	+
5.	Terpen	-
6.	Steroid	+

Tabel 2. Hasil susut pengeringan dan rendemen

No.	Hasil pemeriksaan / pengujian	Kandungan
1.	Rendemen	13,98%
2	Susut pengeringan	8,65%

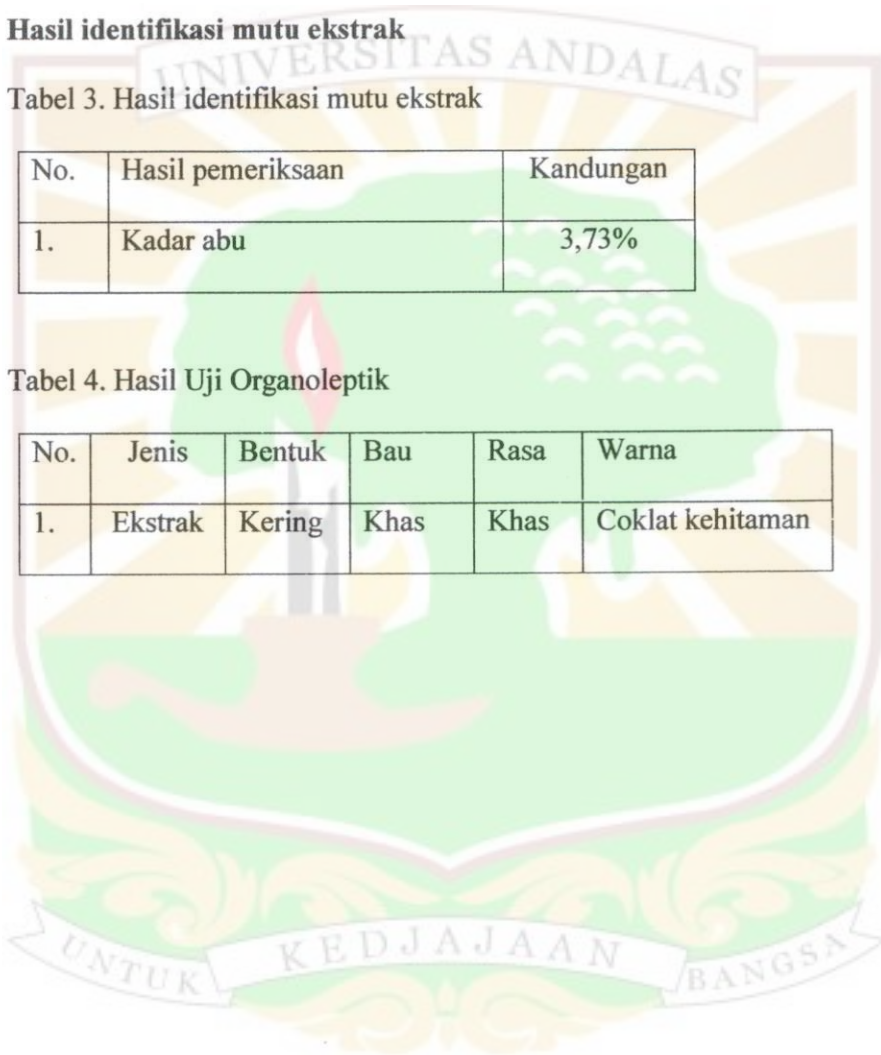
#### 4.1.3 Hasil identifikasi mutu ekstrak

Tabel 3. Hasil identifikasi mutu ekstrak

No.	Hasil pemeriksaan	Kandungan
1.	Kadar abu	3,73%

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik

No.	Jenis	Bentuk	Bau	Rasa	Warna
1.	Ekstrak	Kering	Khas	Khas	Coklat kehitaman



#### 4.2 SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transferase).

Hasil pengukuran aktifitas SGPT dapat dilihat dari Tabel 5 di bawah ini.

Tabel 5. Hasil Rerata SGPT (IU/L)

Perlakuan	Rerata SGPT (IU/L)
A	28.9156 ± 7.5548
B	224.1658 ± 83.9919
C	191.8663 ± 45.1292
D	377.3948 ± 74.1655
E	260.0658 ± 64.3722

Keterangan :

A = kontrol negatif

B = kontrol positif

C = Ekstrak akar daruju dosis 250 mg/kg BB

D = Ekstrak akar daruju dosis 1000 mg/kg BB

E = Ekstrak akar daruju dosis 4000 mg/kg BB

Dari hasil analisa statistik ditemukan adanya pengaruh perlakuan terhadap aktifitas enzim SGPT. Perbedaan bermakna ditemukan antara perlakuan A (kontrol negatif) dengan semua perlakuan (B, C, D dan E).

Perlakuan A adalah mencit yang diberi aquades selama 7 hari pada hari ke 8 diberi minyak zaitun (kontrol negatif), didapatkan rata-rata nilai SGPT adalah 28.9156 ± 7.5548 IU/L. Nilai SGPT masih dalam range normal.

Hasil histologi hati juga menunjukkan vena sentralis, hepatosit dan sinusoid normal. Enzim-enzim intraselluler tidak keluar dari dalam sel hepatosit. Hal inilah yang menyebabkan aktifitas enzim alanin transferase



atau serum glutamat piruvat transaminase rendah di dalam plasma (Gambar 5).

Perlakuan B adalah mencit yang diberi aquades selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$  (kontrol positif), didapatkan nilai rata-rata SGPT adalah  $224.1658 \pm 83.99190$  IU/L. Perlakuan B berbeda bermakna dengan perlakuan A (kontrol negatif) lebih kecil dan perlakuan D lebih tinggi, tetapi tidak berbeda bermakna dengan perlakuan C dan E.

Histologi hati menunjukkan terjadi kerusakan pada vena sentralis, sel hepatosit mengalami lisis (membran sel pecah) dan juga nekrosis. Enzim-enzim intraselluler seperti enzim alanin transferase atau serum glutamat piruvat transaminase keluar dari sel hepatosit yang lisis. Hal inilah yang menyebabkan meningkatnya aktifitas serum glutamat piruvat transferase tinggi di dalam plasma (Gambar 6).

Perlakuan C adalah mencit yang diberi ekstrak akar daruju 250 mg/kg BB selama 7 hari, dan pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$ . Nilai rata-rata SGPT adalah  $191.8663 \pm 45.1298$  IU/L, menunjukkan hasil yang berbeda dengan perlakuan A (kontrol negatif) tetapi tidak berbeda bermakna dengan perlakuan B (kontrol positif) dan perlakuan E, tetapi berbeda bermakna terhadap perlakuan D. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak akar daruju 250 mg/kg BB meningkatkan aktifitas alanin transferase atau serum glutamat piruvat transaminase.

Hasil histologi hati menunjukkan terjadi kerusakan pada membran sel hepatosit. Hal ini menyebabkan enzim intraselluler seperti alanin

transferase atau serum glutamat piruvat transaminase keluar dari sel sehingga aktifitasnya tinggi di dalam plasma (Gambar 7)

Perlakuan D adalah mencit yang diberi ekstrak akar daruju 1000 mg/kg BB selama 7 hari, pada ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$  menunjukkan rata-rata SGPT yang paling tinggi yaitu  $377.3948 \pm 74.1651$  IU/L. Hal ini menunjukkan semakin bertambah dosis kerusakan sel hepatosit bertambah besar. Pemberian karbon tetra klorida kepada mencit putih jantan memberikan efek sinergi dengan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanol akar daruju dalam merusak sel-sel hati.

Hasil histologi hati menunjukkan terjadi lisis pada membran sel hepatosit diikuti dengan pelebaran pada sinusoid serta nekrosis. Hal ini menyebabkan enzim intraselluler seperti alanin transaminase atau serum glutamat piruvat transferase keluar dari sel sehingga aktifitasnya tinggi di dalam plasma (Gambar 8).

Pada perlakuan E adalah mencit yang diberi ekstrak akar daruju 4000 mg/kg BB selama 7 hari, pada hari ke 8 diberi  $\text{CCl}_4$  menunjukkan nilai rata-rata SGPT  $260.0658 \pm 64.3722$  IU/L.

Hasil histologi hati dari perlakuan E menunjukkan terjadi lisis dari membran sel, sel tidak memiliki sitoplasma dan inti, sinusoid bertambah lebar dan juga terdapat vakuolasi serta nekrosis (Gambar 9).

### 4.3 Diameter Vena

Hasil pengukuran terhadap diameter vena sentralis dapat dilihat pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Hasil Rerata Diameter Vena Sentralis ( $\mu\text{m}$ )

Perlakuan	Rerata Diamter Vena Sentralis ( $\mu\text{m}$ )
A	41.49 $\pm$ 2.178
B	50.48 $\pm$ 2.454
C	59.91 $\pm$ 2.516
D	66.83 $\pm$ 2.347
E	70.56 $\pm$ 6.561

Keterangan :

A = kontrol negatif

B = kontrol positif

C = Ekstrak akar daruju dosis 250 mg/kg BB

D = Ekstrak akar daruju dosis 1000 mg/kg BB

E = Ekstrak akar daruju dosis 4000 mg/kg BB

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa ada pengaruh perlakuan terhadap diameter vena sentralis. Hasil ini dapat dilihat dari perlakuan A (kontrol negatif) berbeda bermakna terhadap perlakuan B (kontrol positif), perlakuan C, perlakuan D dan perlakuan E. Perlakuan B (kontrol positif) berbeda bermakna dengan perlakuan C, perlakuan D dan perlakuan E, tetapi tidak ada perbedaan bermakna antara perlakuan D dengan E.

Adanya perbedaan bermakna antara perlakuan B dengan perlakuan C perlakuan D dan perlakuan E menunjukkan adanya kerusakan oksidasi. Kerusakan oksidasi diakibatkan karena meningkatnya peroksidasi lipid pada membran sel terutama pada membran sel endotelia sehingga menyebabkan diameter vena sentralis bertambah besar.

Hal ini disebabkan sirkulasi darah dari vena vorta dan arteri hepatic menuju vena sentralis. Hasil metabolisme dari sel hepatosit diangkut melalui darah. Zat metabolisme yang toksik akan terakumulasi



pada vena sentralis, sehingga kerusakan pertama kali akan terlihat pada sel endotelia di vena sentralis. Sel-sel endotelia akan mengalami lisis atau hancur. Hal inilah yang menyebabkan diameter vena sentralis bertambah besar.

Bertambah besarnya diameter vena sentralis menunjukkan meningkatnya kerusakan pada sel-sel endotelia dari vena sentralis. Pemberian karbon tetraklorida dengan senyawa yang dikandung oleh ekstrak akar daruju memberikan efek sinergis dalam merusak endotelia vena sentralis.

#### 4.4 Persentase Kerusakan Sel Hepatosit

Hasil pengukuran terhadap persentase kerusakan sel hepatosit dapat dilihat dari Tabel 7 di bawah ini.

Tabel 7. Hasil Persentase Kerusakan Sel Hepatosit

Perlakuan	Hepatosit	1	2	3	4	5	Rata-rata(%)
A	Normal	80	80	60	70	90	76
	Rusak	20	20	40	30	10	24
B	Normal	45	55	55	70	65	58
	Rusak	55	45	45	30	35	42
C	Normal	45	75	40	65	85	62
	Rusak	55	25	60	35	15	38
D	Normal	25	50	55	40	50	44
	Rusak	75	50	45	55	50	56
E	Normal	50	5	30	15	70	34
	Rusak	50	95	70	65	30	66

Keterangan :

A = kontrol negatif

B = kontrol positif

C = Ekstrak akar daruju dosis 250 mg/kgBB

D = Ekstrak akar daruju dosis 1000 mg/kg BB

E = Ekstrak akar daruju dosis 4000 mg/kg BB

Dari Tabel 7, menunjukkan bahwa perlakuan A (kontrol negatif) persentase sel hepatosit normal sebesar 76% sedangkan yang rusak 24 %. Kecilnya persentase kerusakan sel hati pada perlakuan A menyebabkan aktifitas serum glutamat transferase menjadi kecil ( $28.9156 \text{ IU/L} \pm 7.5548$ ).

Pada perlakuan B (kontrol positif) persentase sel hepatosit normal sebesar 58%, sedangkan sel hepatosit yang rusak 42%. Besarnya kerusakan sel hati akan meningkatkan aktifitas serum glutamat transferase yaitu  $224.1658 \text{ IU/L} \pm 83.9919$

Pada perlakuan C, persentase sel hepatosit normal sebesar 62% sedangkan sel hepatosit yang rusak adalah 38%. Dari sini terlihat ada penurunan kerusakan sel hepatosit antara perlakuan B dengan perlakuan C. Walaupun secara statistik tidak berbeda bermakna Penurunan kerusakan sel hepatosit ini menyebabkan menurunnya aktifitas serum glutamat transferase pada perlakuan C yaitu  $191.8663 \text{ IU/L} \pm 45.1292$ .

Pada perlakuan D, sel hepatosit normal sebesar 44% dan sel hepatosit yang rusak adalah 56%. Pada perlakuan D terjadi peningkatan kerusakan sel hepatosit . Besarnya persentase kerusakan sel hepatosit inilah yang menyebabkan meningkatnya aktifitas serum glutamat transferase pada perlakuan D yaitu  $377.3948 \text{ IU/L} \pm 74.1651$

Pada perlakuan E, persentase sel hepatosit normal sebesar 34%, dan sel hepatosit yang rusak adalah 66%. Jika dilihat dari persentase keseluruhan sel hepatosit normal hanya 34%, sedangkan yang rusak sebesar 66%.

#### 4.5 MDA (Malonildialdehid)

Hasil pengukuran terhadap Malonildialdehid dapat dilihat pada Tabel 8 di bawah ini.

Tabel 8. Hasil Rerata MDA (nmol/ml)

Perlakuan	Rerata MDA (nmol/L)
A	3.318 ± 1.352
B	4.694 ± 3.580
C	3.658 ± 1.175
D	5.904 ± 1.255
E	4.574 ± 2.322

Keterangan :

A = kontrol negatif

B = kontrol positif

C = Ekstrak akar daruju dosis 250 mg/kg BB

D = Ekstrak akar daruju dosis 1000 mg/kg BB

E = Ekstrak akar daruju dosis 4000 mg/kg BB

Hasil analisa statistik pengukuran MDA menunjukkan bahwa perlakuan tidak mempengaruhi terhadap kadar MDA walaupun terjadi peningkatan kadar MDA.

MDA adalah produk akhir yang diproduksi selama kerusakan jaringan sebagai akibat peroksidasi lemak dan kerusakan membran akibat radikal bebas. MDA menyebar dan meningkatkan oedema sel dan



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

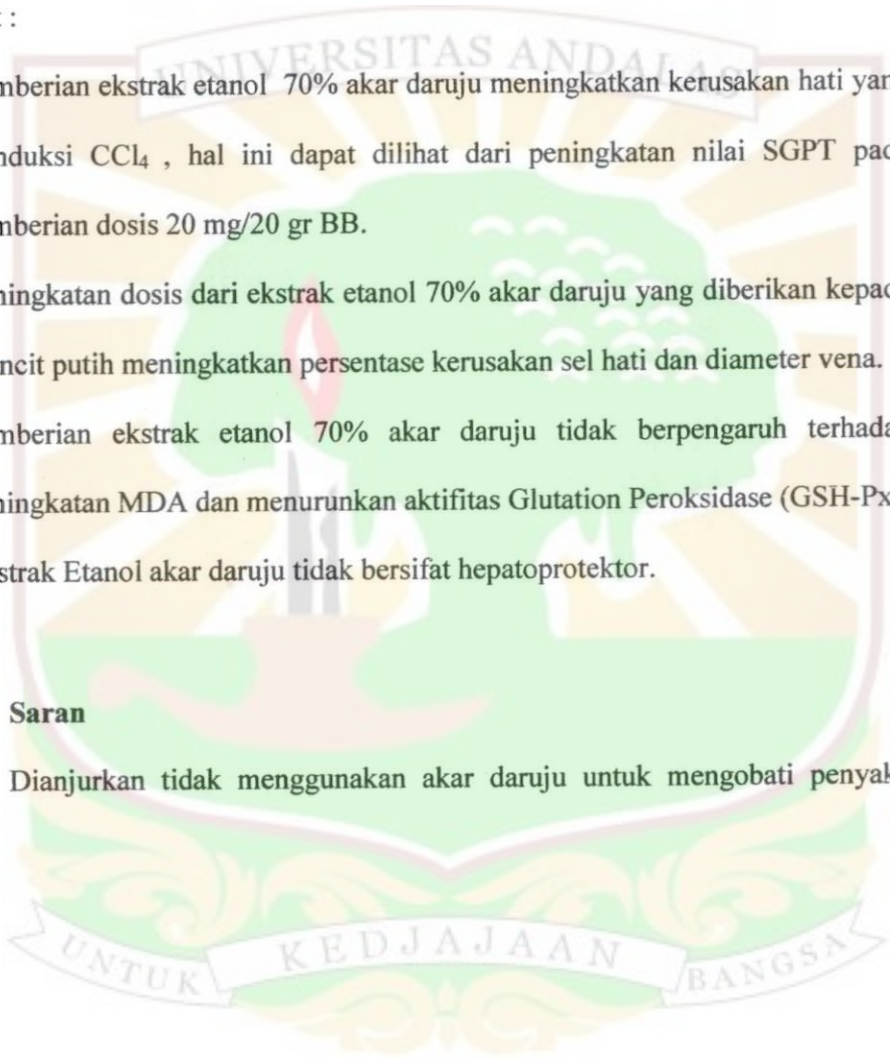
#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang diperoleh dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak etanol 70% akar daruju meningkatkan kerusakan hati yang diinduksi  $CCl_4$  , hal ini dapat dilihat dari peningkatan nilai SGPT pada pemberian dosis 20 mg/20 gr BB.
2. Peningkatan dosis dari ekstrak etanol 70% akar daruju yang diberikan kepada mencit putih meningkatkan persentase kerusakan sel hati dan diameter vena.
3. Pemberian ekstrak etanol 70% akar daruju tidak berpengaruh terhadap peningkatan MDA dan menurunkan aktifitas Glutation Peroksidase (GSH-Px).
4. Ekstrak Etanol akar daruju tidak bersifat hepatoprotektor.

#### 5.2.1 Saran

Dianjurkan tidak menggunakan akar daruju untuk mengobati penyakit hati.



### DAFTAR PUSTAKA

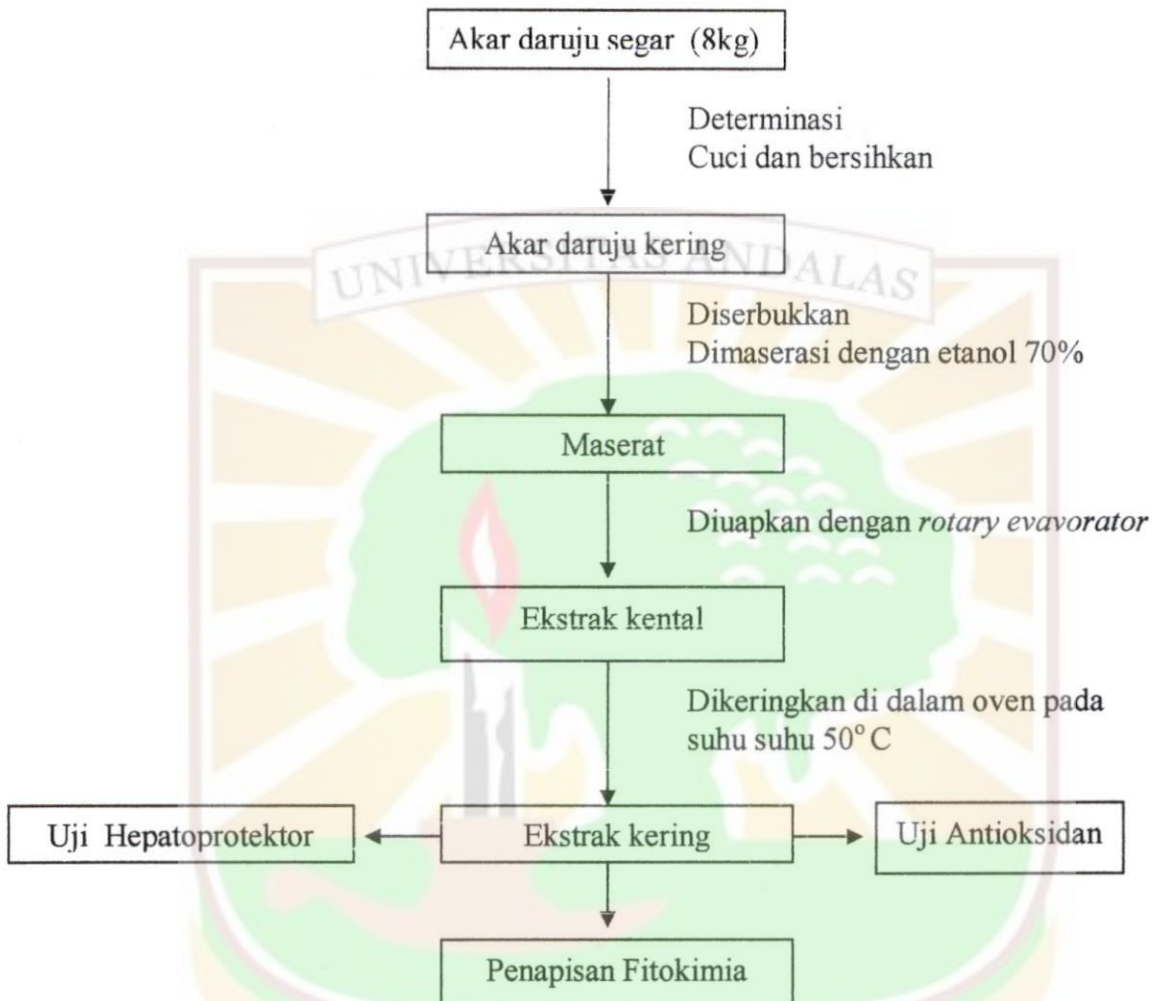
- Abuelgasim, A.I., Nuha, H.S. Mohammad, A.H. 2008. Hepatoprotective Effect of *Lepidium sativum* Against Carbon Tetrachlorida Induced Damage In Rats. *Research Journal of Animal and Veterinary Science*, 3 : 20-23, 2008 @ 2008. INSInet. Publication.
- Beane PH, Bourdi M. 1993. Autoantibodies against cytochrome P450 in drug induced autoimmune hepatitis. *Ann NY Acad Sci* 1993;685:641–645.
- Belay ED, Bresee JS, Holman RC, et al. 1999. Reye's syndrome in the United States from 1981 through 1997 [see comments]. *N Engl J Med* 1999;340:1377–1382.
- Bhattacharya, D., R. Mukherje, S. Pandit, N. Das, T.K. Sur. 2003. Prevention of Carbon Tetrachlorida Induced Hepatotoxicity in Rat By Himoliv, A Polyherbal Formulation. *Indian Journal of Pharmacology*. 2003 ; 35 : 183-185.
- Black M. Acetaminophen hepatotoxicity. *Gastroenterology* 1980;78:382–392.
- Bohan A, Boyer J. Mechanisms of hepatic transport of drugs: Implications for cholestatic drug reactions. *Semin Liver Dis* 2002;22:123–136.
- Cetin M, Demirci D, Unal A, et al. Frequency of flutamide induced hepatotoxicity in patients with prostate carcinoma. *Hum Exp Toxicol* 1999;18:137–140.
- Dalimartha, S. 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Edisi II. Puspa Swara. Jakarta. Hal 58 – 61.
- Danan G, Benichou C. Causality assessment of adverse reactions to drugs— I. A novel method based on the conclusions of international consensus meetings: Application to drug-induced liver injuries. *J Clin Epidemiol* 1993;46:1323–1330.
- Elizabeth, A. ; Frederich, L. F. ; 2001. *Comparative Veterinary Histology With Clinical Correlates*. Iowa State University. Press Ames.
- Evelyn, P. 2002. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hal. 201.

- Ellman, G.L. 1959. Tissue Sulfhydryl Group Archives of Biochemistry and Biophysics.
- Fernandes NF, Martin RR, Schenker S. Trazodone-induced hepatotoxicity: A case report with comments on drug-induced hepatotoxicity. *Am J Gastroenterol* 2000;95:532–535.
- Foitl DR, Hyman G, Leftowitch JH. Jaundice and intrahepatic cholestasis following high-dose megestrol acetate for breast cancer. *Cancer* 1989;63:438–439.
- Fontana RJ, McCashland TM, Benner KG, et al. Acute liver failure associated with prolonged use of bromfenac leading to liver transplantation. The Acute Liver Failure Study Group. *Liver Transpl Surg* 1999;5:480–484.
- Genester, F. Atlas Berwarna Histologi. Alih Bahasa Dr. Jan. Tambajong. Binarupa Aksara Jakarta.
- Hadi, S. 2002. Hepatologi. Mandar Maju. Bandung.
- Halliwell, B. Gutteridge CM. 1989. Free Radical In Biologyana Medicine. 2<sup>nd</sup> Ed. Clarendon Oxford Press. Oxford.
- Hashkes PJ, Balistreri WF, Bove KE, et al. 1999. The relationship of hepatotoxic risk factors and liver histology in methotrexate therapy for juvenile rheumatoid arthritis. *J Pediatr* 1999;134:47–52
- Konig SA, Schenk M, Sick C, et al. 1999. Fatal liver failure associated with valproate therapy in a patient with Friedreich's disease: Review of valproate hepatotoxicity in adults. *Epilepsia* 1999;40:1036–1040.
- Lee FI, Smith PM, Bennett B, Williams DMJ. 1996. Occupationally related angiosarcoma of the liver in the United Kingdom 1972–1994. *Gut* 1996;39:312–318.
- Lee WM. 1995. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 1995;333:1118–1127.
- Lee W. 2003. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 2003;349:474–485.
- Leo MA, Lieber CSJ. 1999. Alcohol, vitamin A, and beta-carotene: adverse interactions, including hepatotoxicity and carcinogenicity. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1071–1085.
- Lewis J. Drug-induced liver disease. *Med Clin North Am* 2000;84:1275–1311.

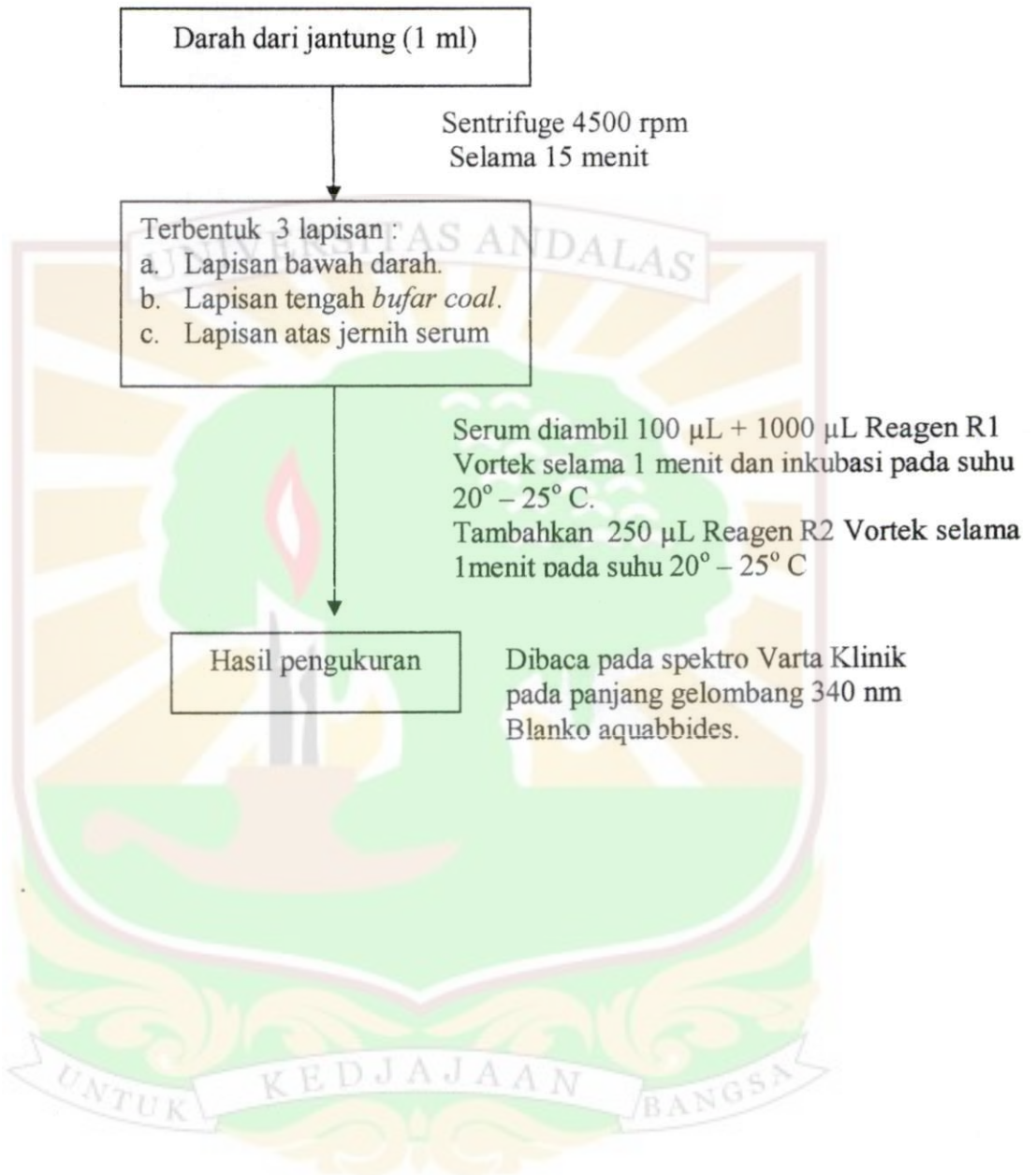


- Lindgren A, Olsson R. 1994. Liver reactions from trimethoprim. *J Intern Med* 1994;236:281–284.
- Magdalena, M. 2007. Efek Antioksidan Curdlan ( $\beta$ -1,3 Glukan) Terhadap Kadar MDA (Malonildialdehid) Dan GSH (Glutation) Pada Hati Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus* L.) Yang Mengalami Stress Oksidatif. Skripsi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. DR> HAMKA.
- Maheswari, C., R. Maryammal, R. Venkatanarayannan. Hepatoprotective Activity Of *Orthosiphon stamineus* On Liver Damage Caused By Paracetamol In Rats. *Jordan Journal Of Biologycal Science*. Vol. I. Number 3. Sepetember 2008. ISSN 1995-6673. Page : 105-108.
- Mariano, S.H. di Flore. Atlas Histology Manusia. (Atlas of Normal Histology). Edisi 6. Penerbit Buku Kedokteran.
- Marya, R.K. 2006. Pathophysiology. First Edition. CBS Publisher & Distributors. New Delhi. Bangalore. (India) Page 68 – 83.
- Meister, A. 1988. Glutathoin Metabolism and Selective Modification. *J. Bio. Chem.* 263.
- Monto AS. 1999. The disappearance of Reye's syndrome—a public health triumph [editorial; comment] [see comments]. *N Engl J Med* 1999;340: 1423–1424.
- Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H (August 2007). "Trends in oxidative aging theories". *Free Radic. Biol. Med.* 43 (4): 477–503. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.034
- Nakatani, N. 1992. Natural Antioxidants from Spices. Di dalam : M.T.
- Olsson R, Wiholm BE, Sand C, et al. 1992. Liver damage from flucloxacillin, cloxacillin and dicloxacillin. *J Hepatol* 1992;15:154–161.
- Pohl LR. 1990. Drug-induced allergic hepatitis. *Semin Liver Dis* 1990;10:305–315.
- Pratt, D.E. 1992. Natural Atioxidants From Plant Material. Di dalam Huang, C.T. Ho, dan C.Y. Lee, Editor. Phenolic Compounds in Food and Their Effect on Health. American Society, Washington DC.
- Price, N.P and Lewis S. 1981. Fundamental of Enzimology. Oxford University Press. Oxford. New York. Hal 384 – 408.
- Priyanto. 2007. Toksisitas. Obat, zat kimia dan Terapi Antidotum. Cetakan I. Penerbit Leskonfi. Jakarta.

- Pudjiastuti, 1997. Hasil Penelitian Tanaman Obat Pusat. Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi Litbangkes. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal 37-39.
- Rader JI, Calvert RJ, Hathcock JN. 1992. Hepatic toxicity of unmodified and time-release preparations of niacin. *Am J Med* 1992;92:77-81.
- Ran Q, Liang H, Ikeno Y (2007). "Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis". *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 62 (9): 932-42.
- Sen, A., Barbaros Sahin, Hizlan H. Agus, Merve Bayav, Hatice Sevim, Asli Semiz. Prevention of Carbon Tetrachlorida Induced Hepatotoxicity by *Urtica urens* In Rat. *Journal of Applied Biological Science* : 1 (3) : 29-32, 2007.
- Shahidi, F. Dan M. Nacz. 1995. Food Phenolics. Technomic Pub.Co. Inc. Lancaster-Basel.
- Singh, A., Sanjiv, D., Ashish, S. *Acanihus illicifolius* Linn.- Lesser Known Medical Plant with Significant Pharmacological Activities. *International Journal of Phytomedicine I* (2009) 1-3.
- Sibueaa, H., Marulam M.P., dan Gultom, 2005. Ilmu Penyakit Dalam. Rineka Cipta. Jakarta. Hal. 205-216.
- Soe KL, Soe M, Gluud CN. [Liver pathology associated with anabolic androgenic steroids]. *Ugeskr Laeger* 1994;156:2585-2588.
- Stevend, AD. 1995. Lipid Peroxidation, Hand Book of Methode for Oxygen Radical Research. CRC Press
- Syamsuhidayat, S.S. 1995. Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia. Jilid II Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal 3-4.
- Tjitrosoepomo, G. 1994. Taksonomi Tumbuhan Obat. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Vogel, H.G. ; Benward A. S. ; Jurgen, S. ; Gunter, M. ; Wolfgang, F. F. 2008. *Drug Discovery Bioassay Method*. Hal. 940-944.
- Wills, E.D. 1978. Evaluation of Lipid Peroxidation and Biological Membran. In Snel K. Mullock. B. Eds. *Biochemical Toxycology*. IRL. Press Oxford. 127-137.

**Lampiran 1. Alur Penelitian Akar Daruju**



**Lampiran 2. Cara Kerja Pengukuran Aktifitas SGOT dan SGPT**

**Lampiran 3. Konversi perhitungan untuk berbagai jenis hewan dan manusia menurut Lawrence dan Bacharach.**

Tabel 10. Tabel Paget dan Barners

Dicari Diketahui	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmut 400 gr	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,90
Tikus 200 gr	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmut 400 gr	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0



#### Lampiran 4. Hasil Perhitungan Rendemen dan Susut Pengeringan

##### 1. Hasil Rendemen

Diketahui :

Serbuk akar daruju = 633,6 gr

Ekstrak kering akar daruju = 88,6 gr

Randemen =  $\frac{88,6 \text{ gr}}{633,6 \text{ gr}} \times 100\% = 13,98\%$

Jadi, randemen ekstrak akar daruju adalah 13,98 %

##### 2. Perhitungan Susut Pengeringan

Berat bobot timbang awal = 12,225 gr

Berat bobot setelah dikeringkan = 12,212 gr

Berat bobot timbang + serbuk = 14,552 gr

Berat bobot timbang + serbuk setelah dikeringkan = 14,379 gr

Berat serbuk = 2 gr

Berat air dalam serbuk = 0,173 gr

% susut pengeringan =  $\frac{0,173 \text{ gr}}{2 \text{ gr}} \times 100\% = 8,65\%$



## Lampiran 5. Hasil Perhitungan Kadar Abu

**Tabel 11. Hasil Perhitungan Kadar Abu**

No.	Berat Kurs Kosong (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Berat Kurs + Abu (gr)	Kadar abu (gr)	Rata-rata kadar abu (%)
1.	20,330	2	20,442	4,6	
2.	22,426	2	22,534	5,4	3,37
3.	25,536	2	25,560	1,2	

$$1. \% \text{ Kadar abu} = \frac{20,442 - 20,330}{2} \times 100 \% = 4,6 \%$$

$$2. \% \text{ Kadar Abu} = \frac{22,534 - 22,426}{2} \times 100 \% = 5,4 \%$$

$$3. \% \text{ Kadar abu} = \frac{25,560 - 25,536}{2} \times 100 \% = 1,2 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{4,6\% + 5,4\% + 1,2\%}{3} = 3,73 \%$$

**Lampiran 6. Perhitungan dosis ekstrak Etanol 70% akar daruju.**

**1). Dosis 5 mg/ 20 gr BB mencit perhari = 250 mg/kg BB**

$$5 \text{ mg} = 20 \text{ gr BB}$$

$$X = 30 \text{ gr BB}$$

$$X = \frac{30 \text{ gr BB}}{20 \text{ gr BB}} \times 5 \text{ mg} = 7,5 \text{ mg}/30 \text{ gr BB}$$

Volume yang diberikan 0,3 ml.

$$0,3 \text{ ml} = 7,5 \text{ mg}$$

$$20 \text{ ml} = X \text{ gr}$$

$$X = \frac{7,5 \text{ mg}}{0,3 \text{ ml}} \times 20 \text{ ml} = 500 \text{ mg}/20 \text{ ml} = 0,5 \text{ gr}/20 \text{ ml}$$

Pembuatan :

Timbang 0,5 gr ekstrak, lalu disuspensikan dengan 0,25 ml Tween 80, lalu ditambahkan akuades sampai volume 20 ml. Aduk dan dikocok hingga homogen.

**2). Dosis 20 mg/20 gr BB mencit perhari = 1000 mg/kg BB**

$$20 \text{ mg} = 20 \text{ gr BB}$$

$$X = 30 \text{ gr BB}$$

$$X = \frac{30 \text{ gr BB}}{20 \text{ gr BB}} \times 20 \text{ mg} = 30 \text{ mg}/30 \text{ gr BB}$$

Volume yang diberikan 0,3 ml

$$0,3 \text{ ml} = 30 \text{ mg}$$

$$20 \text{ ml} = X \text{ gr}$$

$$X = \frac{30 \text{ mg}}{0,3 \text{ ml}} \times 20 \text{ ml} = 2000 \text{ mg}/20 \text{ ml} = 2 \text{ gr}/20 \text{ ml}$$

Pembuatan :

Timbang 2 gr ekstrak, lalu disuspensikan dengan 0,25 ml Tween 80, lalu ditambahkan akuades sampai volume 20 ml. Lalu diaduk hingga homogen.

**3). Dosis 80 mg/20 gr BB mencit perhari = 4000 mg/kg BB**

$$80 \text{ mg} = 20 \text{ gr BB}$$

$$X = 30 \text{ gr BB}$$

$$X = \frac{30 \text{ gr BB}}{20 \text{ gr BB}} \times 80 \text{ mg} = 120 \text{ mg}/30 \text{ gr BB}$$

Volume yang diberikan 0,3 ml

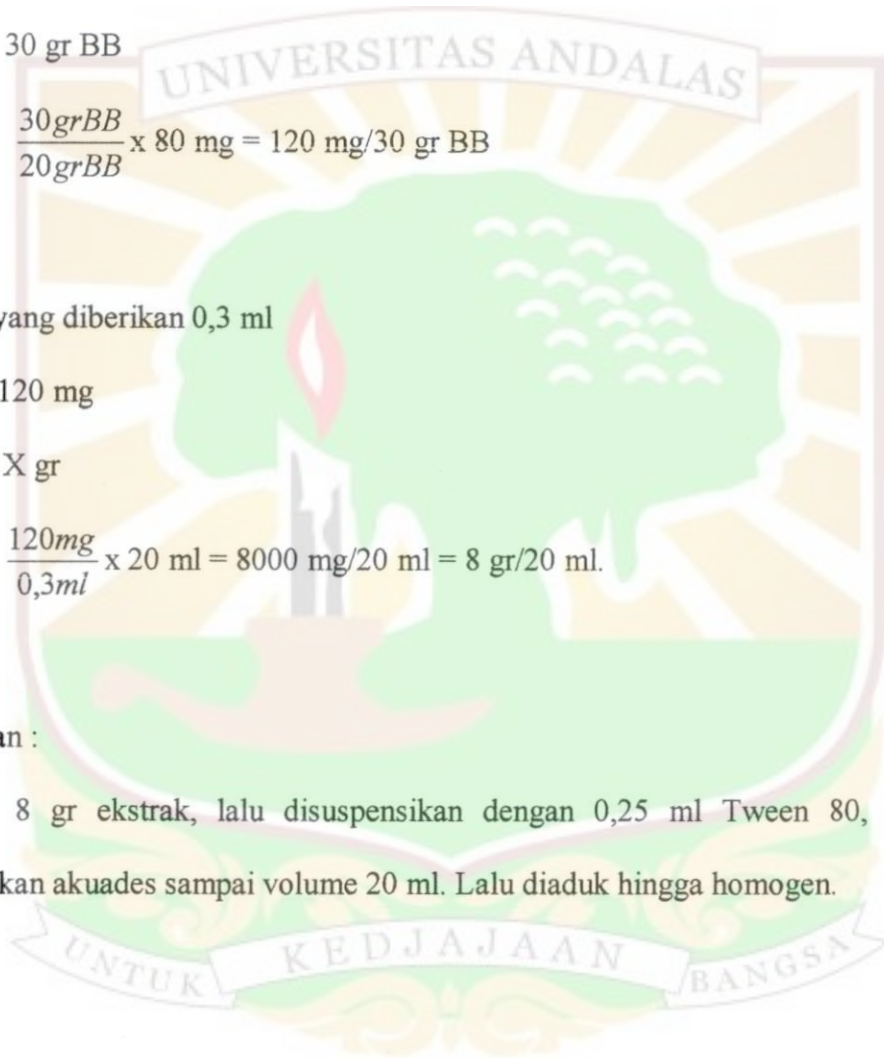
$$0,3 \text{ ml} = 120 \text{ mg}$$

$$20 \text{ ml} = X \text{ gr}$$

$$X = \frac{120 \text{ mg}}{0,3 \text{ ml}} \times 20 \text{ ml} = 8000 \text{ mg}/20 \text{ ml} = 8 \text{ gr}/20 \text{ ml}.$$

Pembuatan :

Timbang 8 gr ekstrak, lalu disuspensikan dengan 0,25 ml Tween 80, lalu ditambahkan akuades sampai volume 20 ml. Lalu diaduk hingga homogen.





**Lampiran 7. Perhitungan Pengenceran Karbon Tetraklorida dalam minyak zaitun**

Dosis CCl<sub>4</sub> yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2 ml/kg BB dan BJ CCl<sub>4</sub> = 1,59 gr/ml.

Dosis Karbon Tetraklorida :

$$2 \text{ ml/kg BB} \times 1,59 = 3,18 \text{ gr/kg BB}$$

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ gr} = \frac{200 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 3,18 \text{ gr/kg BB} = 0,636 \text{ gr/kg BB}$$

Dikonsumsi dalam berat badan mencit  $20 \text{ gr} = 0,636 \times 0,14 = 0,089 \text{ gr/20 kg BB}$

$$\text{Untuk mencit } 30 \text{ gr} = \frac{30 \text{ gr}}{20 \text{ gr}} \times 0,089 \text{ gr/kg BB} = 0,1349/30 \text{ gr BB.}$$

Volume pembatan 30 ml, maka :

$$= 0,134 \text{ gr/ml} \times 30 \text{ ml} = 4,02 \text{ gr}$$

$$= \frac{4,02 \text{ gr}}{1,59} = 2,5 \text{ ml}$$

Volume yang diberikan 0,3 ml/30 gr BB

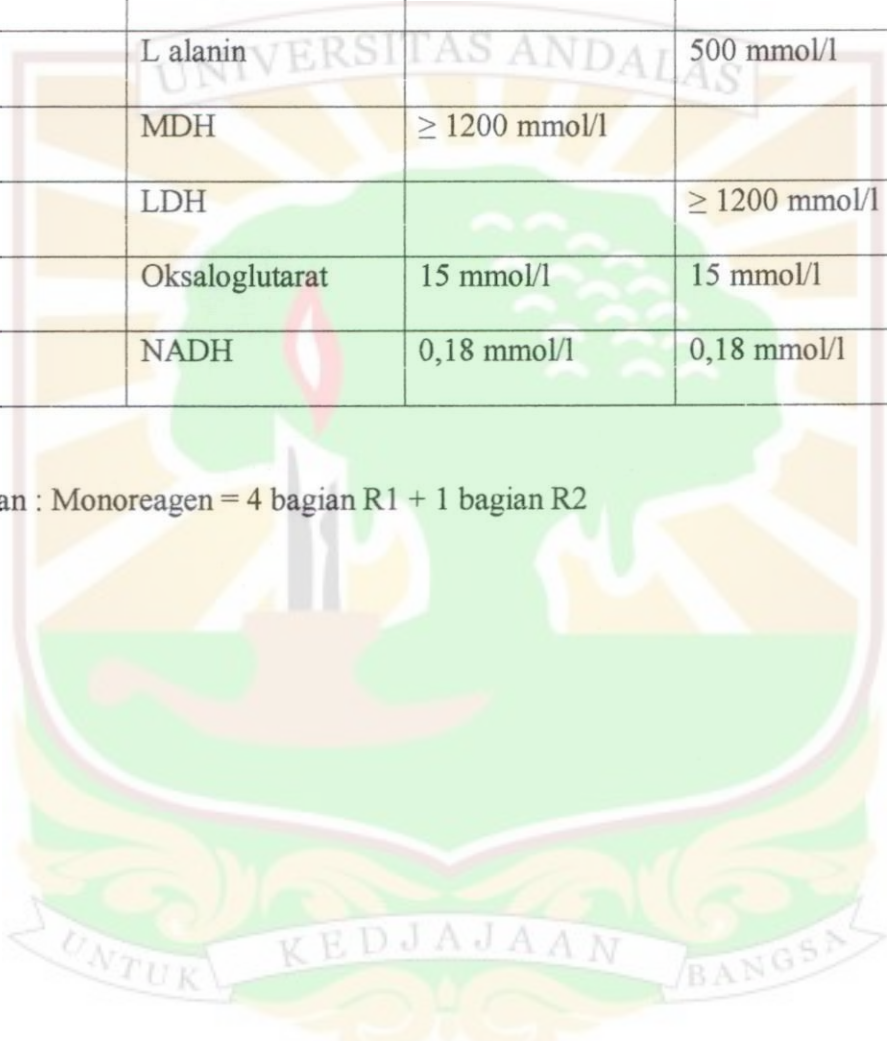
Jadi untuk mendapatkan larutan CCl<sub>4</sub> dengan dosis 2 ml/kg BB dilakukan dengan cara mengencerkan 2,5 ml larutan CCl<sub>4</sub> dalam minyak zaitun sampai volume 30 ml.

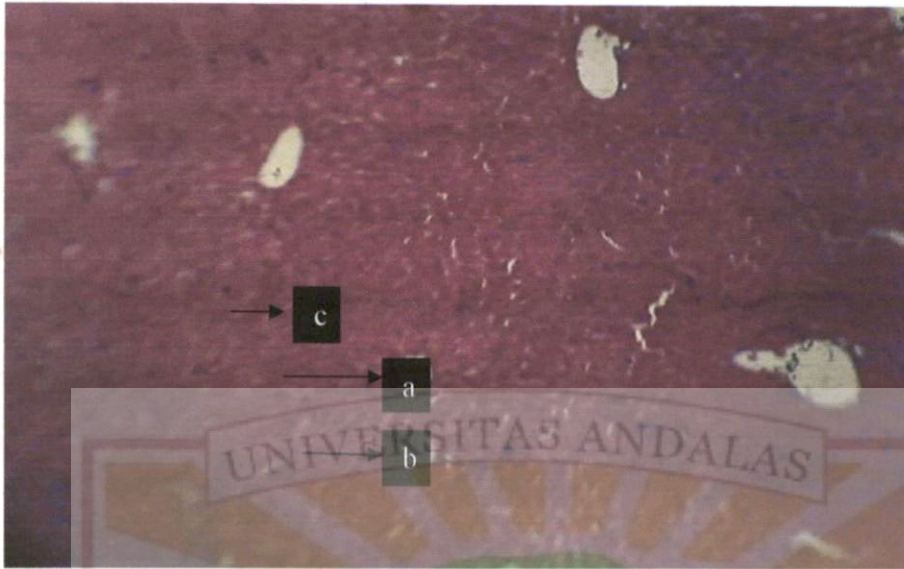
### Lampiran 8. Komponen Senyawa dalam Reagen KIT Diasys

Tabel 12. Komponen Senyawa dalam reagen KIT Diasys

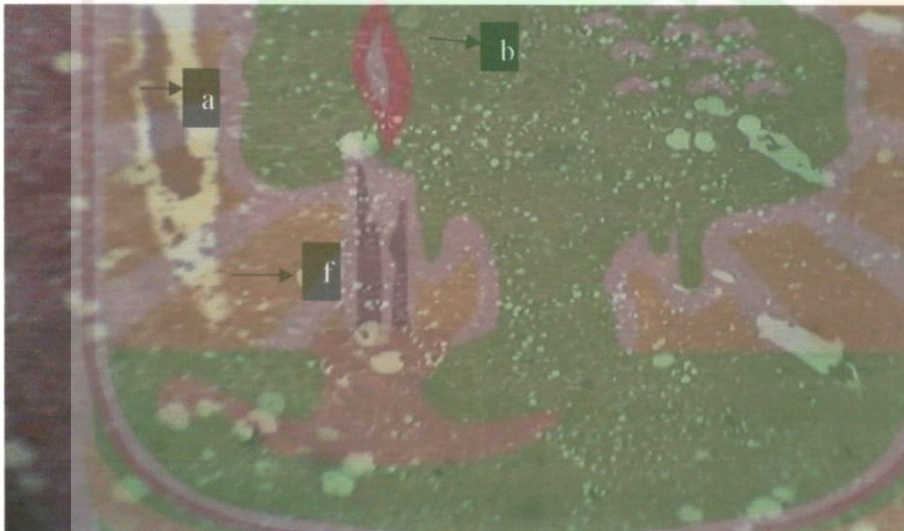
Reagen	Nama Zat	Konsentrasi GOT	Konsentrasi GPT
R1	TRIS	80 mmol/l	100 mmol/l
	L aspartat	240 mmol/l	
	L alanin		500 mmol/l
	MDH	$\geq 1200$ mmol/l	
	LDH		$\geq 1200$ mmol/l
R2	Oksaloglutarat	15 mmol/l	15 mmol/l
	NADH	0,18 mmol/l	0,18 mmol/l

Keterangan : Monoreagen = 4 bagian R1 + 1 bagian R2





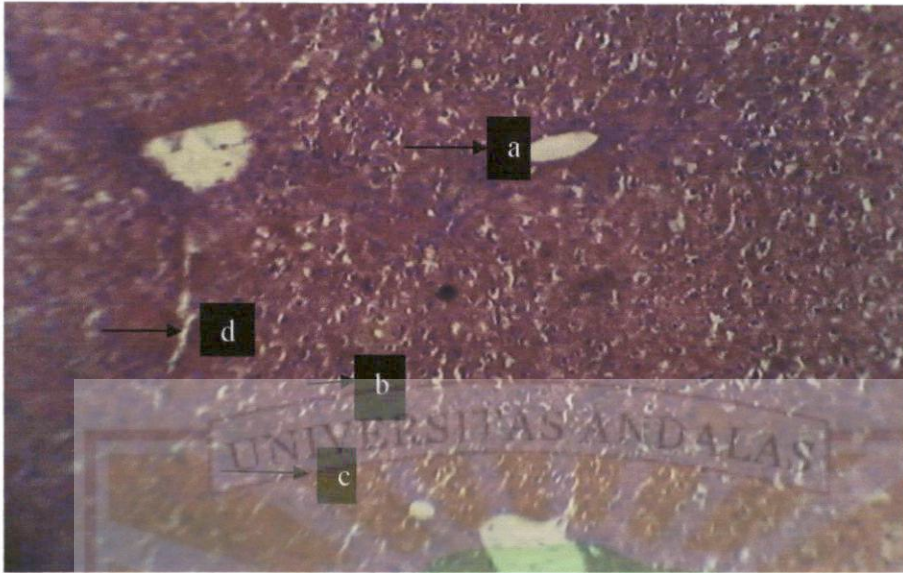
Gambar 5. Histologi hati mencit putih dari perlakuan A (pembesaran 10 x 10)



Gambar 6. Histologi hati mencit putih dari perlakuan B (pembesaran 10 x 10)

Keterangan : a. vena centralis normal ; b. sinusoid normal ; c. hepatosit normal ;  
d. hepatosit lisis e. nekrosis : f. vakuolasi



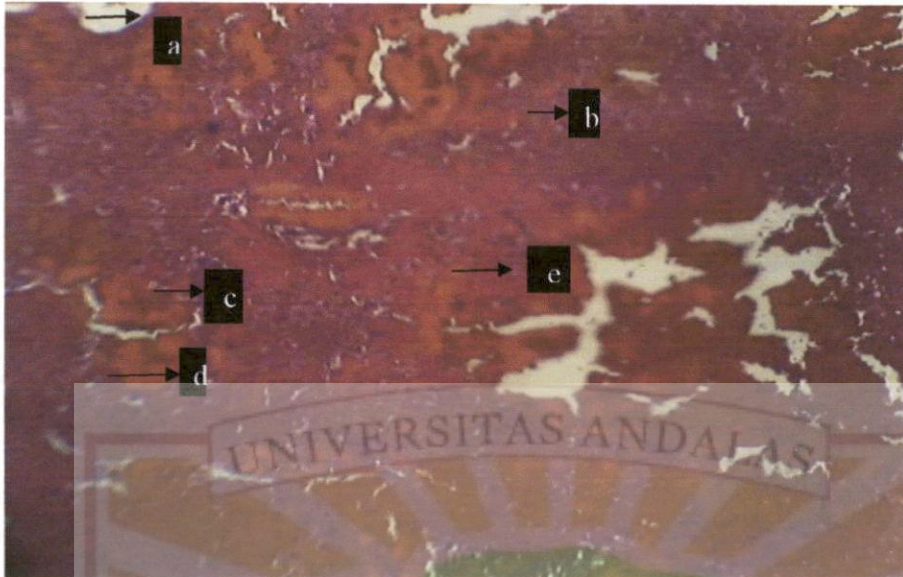


Gambar 7. Histologi hati mencit putih dari perlakuan C (pembesaran 10 x 10)

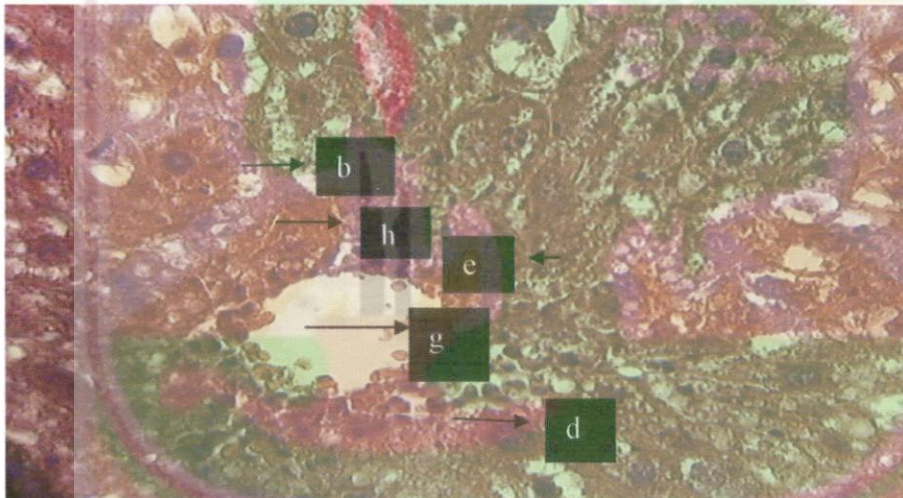


Gambar 8. Histologi hati mencit putih dari perlakuan D (pembesaran 10 x 10).

Keterangan: a. vena centralis normal b. sinusoid normal ; c. hepatosit normal ;  
d. hepatosit lisis i. Sinusoid lisis



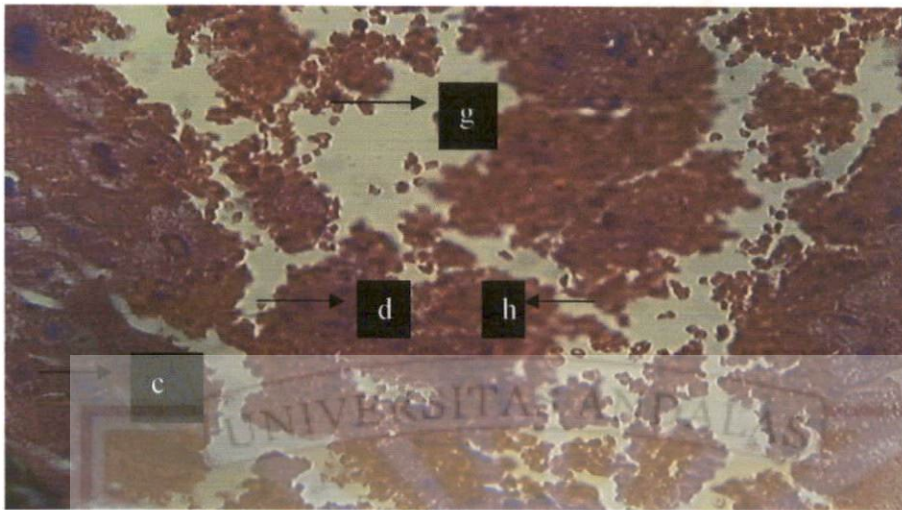
Gambar 9. Histologi hati mencit putih dari perlakuan E (pembesaran 10 x 10)



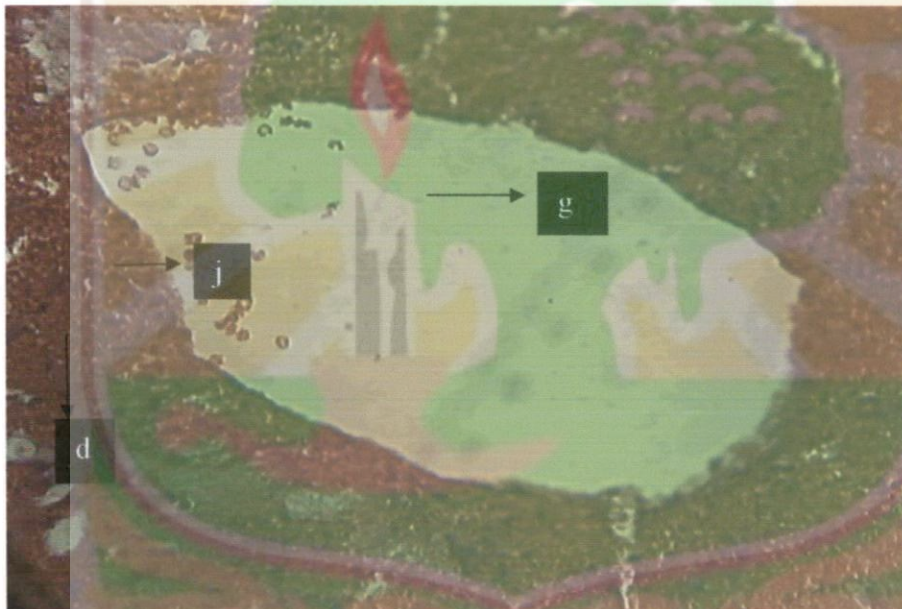
Gambar 10. Histologi hati mencit pada perlakuan C (pembesaran 10 x 40)

Keterangan: a. vena centralis ; b. sinusoid normal ; c. hepatosit normal ;  
 d. hepatosit lisis ; e. nekrosis ; g. Vena sentralis yang rusak ;  
 h. Sel Kufler ;





Gambar 11. Histologi hati mencit pada perlakuan E (pembesaran 10 x 40)



Gambar 12. Histologi hati mencit putih pada perlakuan D (pembesaran 10 x 40)

Keterangan : c. hepatosit normal ; d. hepatosit lisis ; g. vena sentralis rusak ;  
h. Sel Kufler ; j. endotelia lisis

Keterangan :

- A. Kontrol negatif
- B. Kontrol positif
- C. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 250 mg/kg BB
- D. Peralkuan ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB
- E. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mgkg BB



**Lampiran 9. Analisis statistik untuk diameter vena.**

Tabel 13. Diameter vena sentralis perlakuan A ( $\mu\text{m}$ )

	A1	A2	A3	A4	A5
	49.33	49.33	49.33	35.87	49.33
	40.36	40.36	44.84	40.36	49.33
	35.87	44.84	49.33	40.36	40.36
	31.39	44.84	40.36	44.84	49.33
	49.33	31.39	44.84	44.84	40.36
	35.87	40.36	49.33	58.29	40.36
	35.87	31.39	44.84	53.81	44.84
	26.91	35.87	35.87	31.39	40.36
	44.84	40.36	40.36	44.84	40.36
	49.33	44.84	40.36	44.84	44.84
	26.91	31.39	44.84	40.36	44.84
	49.33	40.36	40.36	40.36	35.87
	49.33	35.87	40.36	40.36	44.48
	31.39	31.39	49.33	49.33	44.84
	40.36	40.36	49.33	40.36	44.84
	40.36	35.87	35.87	49.33	44.84
	40.36	40.36	44.84	40.36	40.36
	35.87	44.84	44.84	44.84	49.33
	40.36	49.33	49.33	44.84	49.33
	44.84	31.39	40.36	35.87	44.84
	49.33	40.36	44.84	40.36	44.84
	40.36	31.39	40.36	40.36	40.36
	35.87	35.87	40.36	44.84	40.36
	31.39	40.36	49.33	44.84	40.36
	49.33	44.84	49.33	35.87	35.87
$\Sigma$	1004.49	977.56	1103.14	1071.72	1085.19
$\bar{x}$	40.18	39.10	44.13	42.87	43.41
SD	7.38	6.72	4.42	5.80	4.03

**Keterangan:**

Perlakuan A (kontrol negatif) adalah mencit diberi aquadest selama 7 hari, pada hari ke-8 diberi minyak zaitun.

Tabel 14. Diameter vena sentralis perlakuan B ( $\mu\text{m}$ )

	B1	B2	B3	B4	B5
	49.33	53.81	49.33	49.33	58.30
	49.33	40.36	53.81	53.81	31.40
	40.36	53.81	44.84	44.84	62.78
	44.84	53.81	49.33	53.81	67.26
	49.33	49.33	31.40	49.33	53.81
	44.84	40.36	49.33	53.81	49.33
	49.33	49.33	49.33	58.30	49.33
	53.81	58.30	40.36	44.84	49.33
	49.33	49.33	44.84	58.30	44.84
	44.84	53.81	44.84	53.81	40.36
	53.81	40.36	53.81	58.30	49.33
	49.33	58.30	62.78	53.81	58.30
	49.33	58.30	58.30	62.78	62.78
	49.33	44.84	44.84	40.36	58.30
	71.75	44.84	49.33	53.81	53.81
	40.36	40.36	44.84	53.81	58.30
	44.84	53.81	53.81	53.81	53.81
	49.33	53.81	49.33	67.26	58.30
	40.36	44.84	44.84	53.81	44.84
	53.81	40.36	44.84	62.78	49.33
	44.84	44.84	44.84	58.30	44.84
	44.84	40.36	58.30	62.78	49.33
	53.81	53.81	49.33	44.84	58.30
	53.81	49.33	44.84	62.78	49.33
	62.78	35.87	53.81	40.36	44.84
$\Sigma$	1237.67	1206.28	1215.25	1349.77	1300.48
$\bar{x}$	49.51	48.25	48.61	53.99	52.02
SD	6.90	6.76	6.43	7.14	7.98

Keterangan:

Perlakuan B (kontrol positif) adalah mencit diberi aquadest selama 7 hari, pada hari ke-8 diberi  $\text{CCl}_4$

Tabel 15. Diameter vena sentralis perlakuan C ( $\mu\text{m}$ )

	C1	C2	C3	C4	C5
	53.81	80.72	62.78	44.84	53.81
	80.72	53.81	71.75	53.81	67.26
	53.81	80.72	49.33	58.30	58.30
	58.30	67.26	67.26	44.84	71.75
	58.30	80.72	62.78	40.36	49.33
	53.81	76.23	62.78	49.33	76.23
	71.75	67.26	53.81	62.78	58.30
	71.75	67.26	62.78	44.84	62.78
	76.63	58.30	62.78	44.84	67.26
	71.75	62.78	67.26	67.26	49.33
	71.75	62.78	49.33	58.30	49.33
	58.31	58.30	58.30	76.23	53.81
	62.78	58.30	62.78	67.26	58.30
	58.30	58.30	58.30	53.81	53.81
	58.30	44.84	67.26	67.26	62.78
	62.78	49.33	62.78	44.84	58.30
	67.26	40.36	53.81	44.84	58.30
	62.78	49.33	53.81	44.84	67.26
	76.23	44.84	80.72	62.78	58.30
	62.78	53.81	62.78	71.75	62.78
	53.81	44.84	53.81	53.81	44.84
	58.30	62.78	44.84	62.78	71.75
	67.26	58.30	71.75	58.30	58.30
	58.30	58.30	58.30	76.23	62.78
	53.81	44.84	67.26	53.81	53.81
$\Sigma$	1578.48	1484.31	1529.14	1408.04	1488.80
$\bar{x}$	63.14	59.37	61.17	56.32	59.55
SD	8.28	11.81	8.07	10.76	7.82

Keterangan:

Perlakuan C adalah mencit diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 5 mg/20g BB selama 7 hari, hari ke-8 diberi CCl<sub>4</sub>.



Tabel 16. Diameter vena sentralis perlakuan D ( $\mu\text{m}$ )

	D1	D2	D3	D4	D5
	76.23	71.75	49.33	80.72	58.30
	67.26	58.30	71.75	58.30	71.75
	58.30	85.20	53.81	67.26	76.23
	76.23	58.30	76.23	62.78	67.26
	58.30	67.26	62.78	58.30	58.30
	67.26	71.75	67.26	62.78	67.26
	62.78	44.84	58.30	67.26	58.30
	67.26	71.75	71.75	71.75	58.30
	67.26	49.33	67.26	71.75	80.72
	71.75	58.30	62.78	62.78	76.23
	67.26	58.30	71.75	71.75	76.23
	76.23	53.81	67.26	62.78	58.30
	67.26	80.72	76.23	67.26	49.33
	58.30	80.72	80.72	62.78	53.81
	80.72	62.78	67.26	71.75	62.78
	62.78	67.26	80.72	71.75	67.26
	71.75	58.30	71.75	71.75	49.33
	80.72	62.78	85.20	71.75	67.26
	89.67	58.30	62.78	71.75	62.78
	62.78	53.81	71.75	67.26	62.78
	67.26	49.33	67.26	67.26	49.33
	67.26	71.75	62.78	62.78	85.20
	58.30	62.78	67.26	80.72	67.26
	67.26	67.26	67.26	49.33	76.23
	62.78	76.23	85.20	85.20	53.81
$\Sigma$	1712.96	1600.91	1726.43	1699.55	1614.34
$\bar{x}$	68.52	64.04	69.06	67.98	64.57
SD	7.93	10.48	8.78	7.73	10.11

Keterangan:

Perlakuan D adalah mencit diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 20 mg/20g BB selama 7 hari, hari ke-8 diberi CCl<sub>4</sub>.

Tabel 17. Diameter vena sentralis perlakuan E ( $\mu\text{m}$ )

	E1	E2	E3	E4	E5
	62.78	76.23	49.33	85.20	94.17
	67.26	85.20	62.78	58.30	76.23
	71.75	67.26	85.20	53.81	76.23
	53.81	71.75	71.75	49.33	80.72
	53.81	67.26	67.26	58.30	71.75
	58.30	89.67	58.30	49.33	94.17
	76.23	71.75	49.33	67.26	89.67
	62.78	89.67	80.72	67.26	80.72
	76.23	80.72	62.78	94.17	67.26
	71.75	67.26	58.30	62.78	76.23
	67.26	71.75	67.26	80.72	94.17
	85.20	71.75	80.72	85.20	98.66
	62.78	76.23	58.30	67.26	76.23
	76.23	80.72	80.72	53.81	94.17
	44.84	80.72	49.33	71.75	62.78
	71.75	89.67	62.78	62.78	67.26
	62.78	76.23	67.26	49.33	53.81
	58.30	80.72	80.72	67.26	85.20
	58.30	76.23	58.30	58.30	94.17
	44.84	67.26	76.23	58.30	80.72
	71.75	76.23	44.84	80.72	71.75
	71.75	58.30	53.81	76.23	85.20
	62.78	76.23	67.26	71.75	76.23
	76.23	58.30	85.20	85.20	58.30
	49.33	76.23	67.26	67.26	85.20
$\Sigma$	1618.82	1883.34	1645.74	1681.61	1991.00
x	64.75	75.33	65.83	67.26	79.64
SD	10.44	8.48	11.98	12.68	12.09

Keterangan:

Perlakuan E adalah mencit diberi ekstrak etanol akar daruju dosis 80 mg/20g BB selama 7 hari, hari ke-8 diberi  $\text{CCl}_4$ .

Tabel 18. Rerata diameter vena sentralis ( $\mu\text{m}$ )

	A	B	C	D	E
	40.18	49.51	63.14	68.52	64.75
	39.10	48.25	59.37	64.04	75.33
	44.13	48.61	61.17	69.06	65.83
	42.87	53.99	56.32	67.98	67.26
	43.41	52.02	59.55	64.57	79.64
$\Sigma$	209.68	252.38	299.55	334.17	352.82
$\bar{x}$	41.94	50.48	59.91	66.83	70.56
SD	2.18	2.45	2.51	2.35	6.56

### HASIL UJI SPSS DIAMETER VENA SENTRALIS

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
PERLAKUAN	.166	25	.074	.923	25	.061

a. Lilliefors Significance Correction

$p > 0.05$  maka data diameter vena sentralis berdistribusi normal

#### Test of Homogeneity of Variances

PERLAKUAN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.067	4	20	.123

$P > 0.05$  maka data diameter vena sentralis bervariasi homogen

#### ANOVA

PERLAKUAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.245	4	.061	82.905	.000
Within Groups	.015	20	.001		
Total	.260	24			

$p < 0.05$  maka faktor perlakuan yang diberikan berpengaruh secara nyata



## Multiple Comparisons

Dependent Variable: PERLAKUAN

LSD

(I) ULANGAN	(J) ULANGAN	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	B	-.10200*	.01720	.000	-.1379	-.0661
	C	-.19400*	.01720	.000	-.2299	-.1581
	D	-.24800*	.01720	.000	-.2839	-.2121
	E	-.26600*	.01720	.000	-.3019	-.2301
B	A	.10200*	.01720	.000	.0661	.1379
	C	-.09200*	.01720	.000	-.1279	-.0561
	D	-.14600*	.01720	.000	-.1819	-.1101
	E	-.16400*	.01720	.000	-.1999	-.1281
C	A	.19400*	.01720	.000	.1581	.2299
	B	.09200*	.01720	.000	.0561	.1279
	D	-.05400*	.01720	.005	-.0899	-.0181
	E	-.07200*	.01720	.000	-.1079	-.0361
D	A	.24800*	.01720	.000	.2121	.2839
	B	.14600*	.01720	.000	.1101	.1819
	C	.05400*	.01720	.005	.0181	.0899
	E	-.01800	.01720	.308	-.0539	.0179
E	A	.26600*	.01720	.000	.2301	.3019
	B	.16400*	.01720	.000	.1281	.1999
	C	.07200*	.01720	.000	.0361	.1079
	D	.01800	.01720	.308	-.0179	.0539

\*. The mean difference is significant at the .05 level.



**Lampiran 10. Analisis statistik untuk SGPT**

		kelompok percobaan	nilai sgpt
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.00	216.48164
	Std. Deviation	1.443	128.024013
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.117
	Positive	.156	.117
	Negative	-.156	-.077
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	.586
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.883

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

nilai sgpt

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	28.91560	7.554886	3.378648	19.53497	38.29623	20.289	39.041
B	5	224.16580	83.991907	37.562323	119.87607	328.45553	158.753	364.250
C	5	191.86620	45.129285	20.182430	135.83079	247.90161	136.710	258.893
D	5	377.39480	74.165149	33.167663	285.30660	469.48300	287.179	483.220
E	5	260.06580	64.372251	28.788146	180.13709	339.99451	155.644	313.484
Total	25	216.48164	128.024013	25.604803	163.63592	269.32736	20.289	483.220

### Test of Homogeneity of Variances

nilai sgpt

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.686	4	20	.193

$P(0,193) > 0,05$  berarti data SGPT bervariasi homogen.

### UNIVERSITAS ANDALAS

#### Anova

Nilai SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	318193.048	4	79548.262	21.165	.000
Within Groups	75170.501	20	3758.525		
Total	393363.549	24			

$P(0,000) < 0,05$  maka faktor perlakuan yang diberikan berpengaruh terhadap SGPT secara nyata

Tabel 19. Rerata SGPT (IU/L)

	A	B	C	D	E
	26.104	209.460	136.710	483.220	268.638
	39.041	228.109	258.893	412.555	250.921
	20.289	160.257	177.775	287.179	311.648
	24.957	158.753	207.308	343.664	155.644
	34.187	364.250	178.645	360.359	313.484
$\Sigma$	144.578	1120.829	959.331	1886.974	1300.329
$\bar{x}$	28.915	224.163	191.866	377.395	260.066
SD	7.554	83.992	45.129	74.165	64.372



Nilai SGPT  
Tukey HSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	B	-195.250200*	38.773832	.001	-311.27603	-79.22437
	C	-162.950600*	38.773832	.004	-278.97643	-46.92477
	D	-348.479200*	38.773832	.000	-464.50503	-232.45337
	E	-231.150200*	38.773832	.000	-347.17603	-115.12437
B	A	195.250200*	38.773832	.001	79.22437	311.27603
	C	32.299600	38.773832	.917	-83.72623	148.32543
	D	-153.229000*	38.773832	.006	-269.25483	-37.20317
	E	-35.900000	38.773832	.884	-151.92583	80.12583
C	A	162.950600*	38.773832	.004	46.92477	278.97643
	B	-32.299600	38.773832	.917	-148.32543	83.72623
	D	-185.528600*	38.773832	.001	-301.55443	-69.50277
	E	-68.199600	38.773832	.423	-184.22543	47.82623
D	A	348.479200*	38.773832	.000	232.45337	464.50503
	B	153.229000*	38.773832	.006	37.20317	269.25483
	C	185.528600*	38.773832	.001	69.50277	301.55443
	E	117.329000*	38.773832	.047	1.30317	233.35483
E	A	231.150200*	38.773832	.000	115.12437	347.17603
	B	35.900000	38.773832	.884	-80.12583	151.92583
	C	68.199600	38.773832	.423	-47.82623	184.22543
	D	-117.329000*	38.773832	.047	-233.35483	-1.30317

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 10. Analisa statistik untuk GSH-Px

nilai GSH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	4.00840	2.834865	1.267790	.48845	7.52835	.924	8.493
B	5	3.59200	.577086	.258081	2.87545	4.30855	2.627	4.141
C	5	3.59200	2.477710	1.108066	.51552	6.66848	.640	7.358
D	5	3.66780	.412203	.184343	3.15598	4.17962	3.006	4.046
E	5	4.02720	.279379	.124942	3.68030	4.37410	3.762	4.425
Total	25	3.77748	1.581252	.316250	3.12477	4.43019	.640	8.493

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kelompok percobaan	nilai GSH
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	3.00	3.77748
	Std. Deviation	1.443	1.581252
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.266
	Positive	.156	.266
	Negative	-.156	-.209
Kolmogorov-Smirnov Z		.779	1.331
Asymp. Sig. (2-tailed)		.579	.058

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Test of Homogeneity of Variances**  
**nilai GSH-Px**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.593	4	20	.068

**P (0,068) > 0,05** maka data GSH bervariasi homogen

**ANOVA**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.983	4	.246	.083	.987
Within Groups	59.026	20	2.951		
Total	60.009	24			

**P (0,987) > 0,05** maka faktor perlakuan tidak mempengaruhi secara nyata.

Tabel 20. Rerata GSH-Px (nmol/ml)

	A	B	C	D	E
	2.438	2.627	3.857	3.762	4.425
	4.235	3.573	3.762	3.952	3.762
	3.952	4.141	0.64	4.046	4.046
	8.493	3.762	7.358	3.573	3.762
	0.924	3.857	2.343	3.006	4.141
$\Sigma$	20.042	17.960	17.960	18.339	20.136
$\bar{x}$	4.008	3.592	3.592	3.667	4.027
SD	2.834	0.577	2.477	0.412	0.279



**Lampiran 11. Analisa statistik untuk MDA.**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	3.31760	1.352130	.604691	1.63871	4.99649	1.315	4.917
B	5	4.69340	3.580460	1.601230	.24767	9.13913	2.190	11.004
C	5	3.65780	1.175240	.525583	2.19855	5.11705	2.533	5.557
D	5	5.90460	1.255856	.561636	4.34525	7.46395	4.473	7.726
E	5	4.57440	2.322526	1.038665	1.69060	7.45820	2.120	6.965
Total	25	4.42956	2.165004	.433001	3.53589	5.32323	1.315	11.004

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		nilai MDA	kelompok percobaan
N		25	25
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	4.42956	3.00
	Std. Deviation	2.165004	1.443
Most Extreme Differences	Absolute	.118	.156
	Positive	.118	.156
	Negative	-.103	-.156
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	.779
Asymp. Sig. (2-tailed)		.874	.579

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Test of Homogeneity of Variances**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.834	4	20	.162

$P(0,162) > 0,05$ , berarti data MDA bervariasi homogen

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20.492	4	5.123	1.114	.378
Within Groups	92.002	20	4.600		
Total	112.494	24			

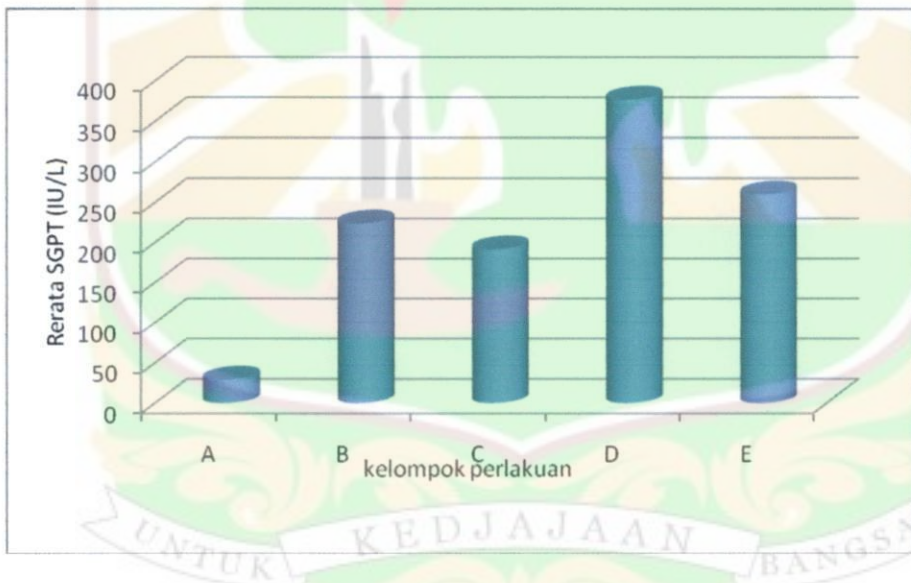
$P (0,378) > 0,05$  berarti perlakuan tidak berpengaruh terhadap MDA

Tabel 21. Rerata MDA (nmol/L)

	A	B	C	D	E
	2.983	11.004	5.557	4.473	2.120
	1.315	2.190	2.533	6.280	2.330
	3.262	3.839	3.947	7.726	6.762
	4.111	3.439	3.167	5.018	4.695
	4.917	2.995	3.085	6.026	6.965
$\Sigma$	16.588	23.467	18.289	29.523	22.872
$\bar{x}$	3.318	4.694	3.658	5.9046	4.574
SD	1.352	3.580	1.1752	1.255	2.322



Gambar 13. Grafik Rerata Diameter Vena Sentralis (µm).

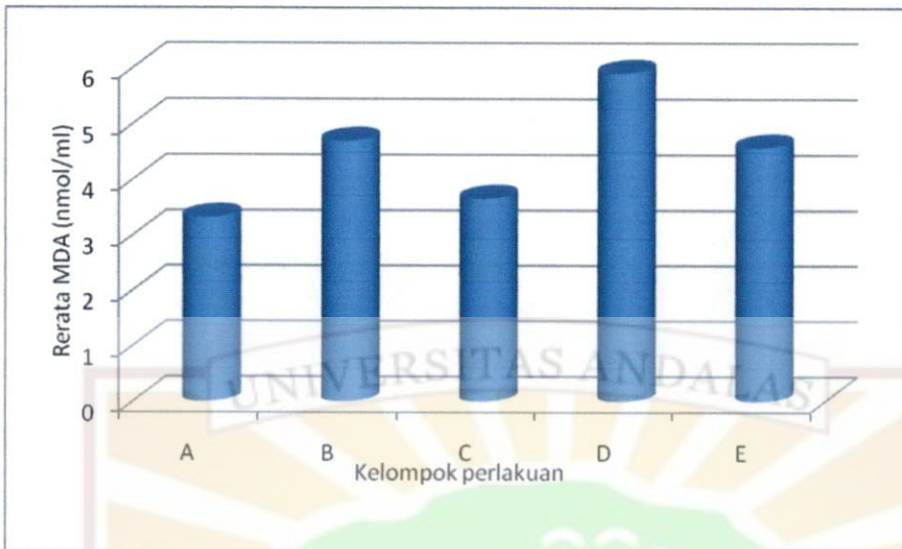


Gambar 14. Grafik Rerata SGPT (IU/L).

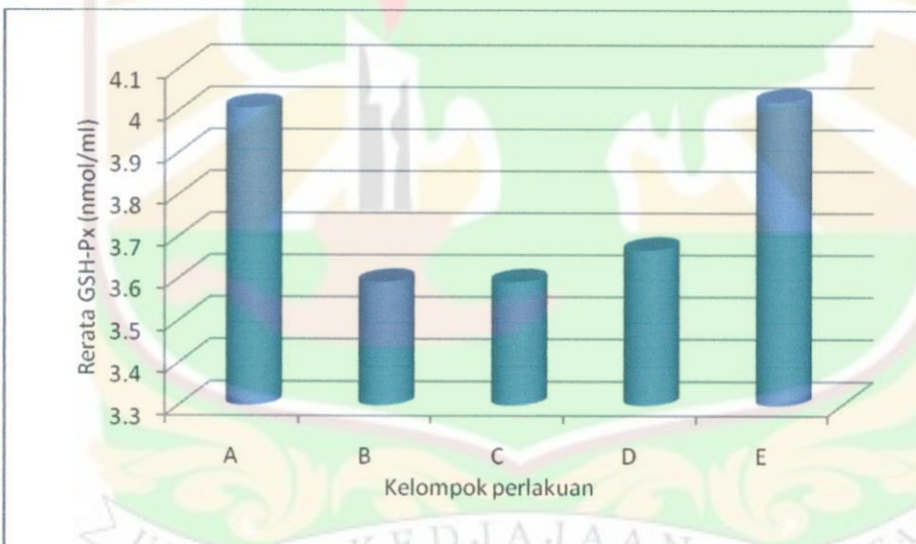
Keterangan :

- A. Kontrol negatif
- B. Kontrol positif
- C. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 250 mg/kg BB
- D. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB
- E. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mg/kg B





Gambar 15. Grafik Rerata MDA (nmol/ml).



Gambar 16. Grafik Rerata GSH-Px (nmol/ml).

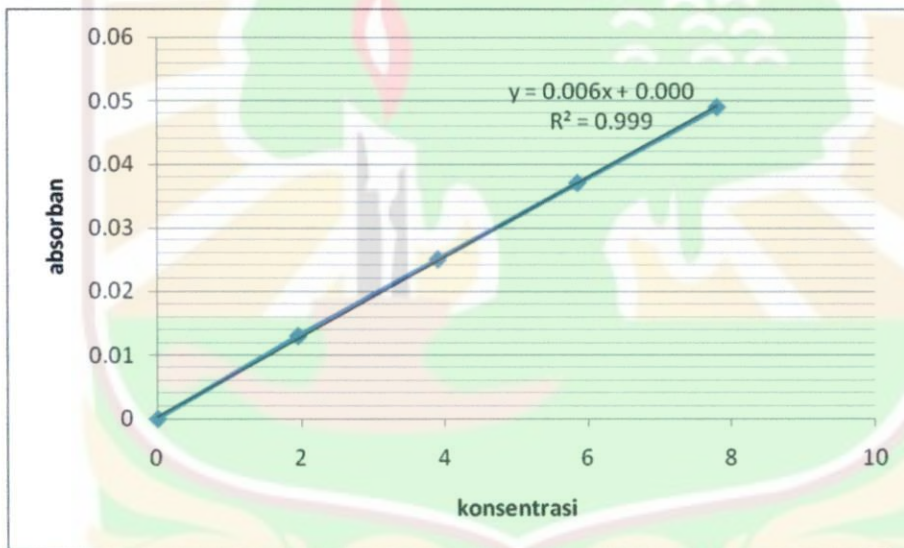
Keterangan :

- A. Kontrol negatif
- B. Kontrol positif
- C. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 250 mg/kg BB
- D. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 1000 mg/kg BB
- E. Perlakuan ekstrak etanol akar daruju dosis 4000 mg/kg B

**Lampiran 13. Hasil pengukuran Kurva Kalibrasi GSH**

Tabel 23. Absorban kurva kalibrasi GSH

Konsentrasi (nmol/ml)	Absorban
0.000	0.000
1.952	0.013
3.904	0.025
5.856	0.037
7.809	0.049

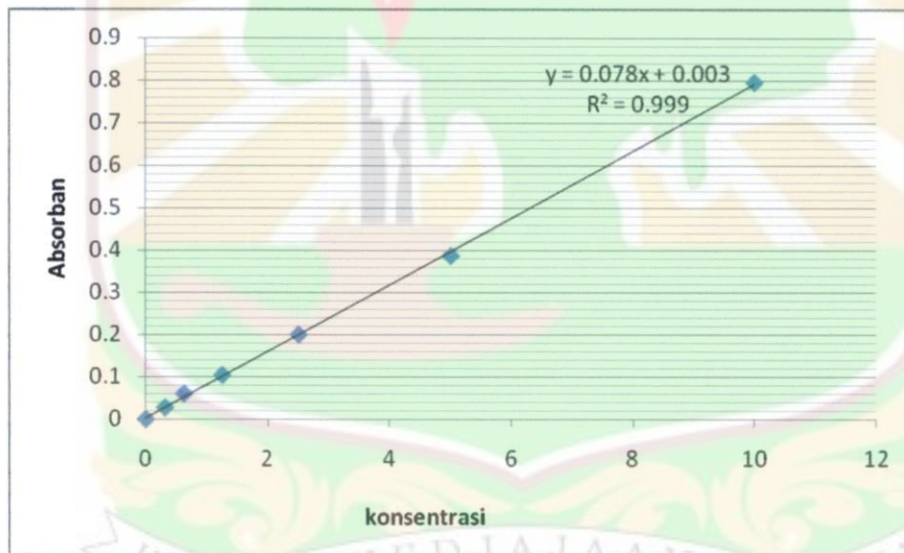


Gambar 17. Grafik Kurva Kalibrasi GSH

### Lampiran 12. Hasil Pengukuran Kurva Kalibrasi Tetraetoksipropan

Tabel 22. Absorban kurva kalibrasi Tetraetoksipropan

Konsentrasi (nmol/ml)	Absorban
0.000	0.000
0.313	0.027
0.625	0.06
1.250	0.104
2.500	0.2
5.000	0.387
10	0.796



Gambar 18. Grafik Kurva Kalibrasi Tetraetoksipropan



## Lampiran 13. Surat Keterangan Determinasi Tanaman Daruju



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
 (Indonesian Institute Of Sciences)  
**PUSAT PENELITIAN BIOLOGI**  
 (Research Center For Biology)

Jl.Ir.H Juanda 1P Bogor 16002.Indonesia P.O Box 208. Bogor  
 Telp (0251) 321038-321041 Fax. 325854

Nomor : *617*/IPH.1.02/If.8/VI/2010 Cibinong, *W* Juni 2010  
 Lampiran : -  
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
 Bpk/Ibu/Sdr(i). Hayati

Dengan hormat.

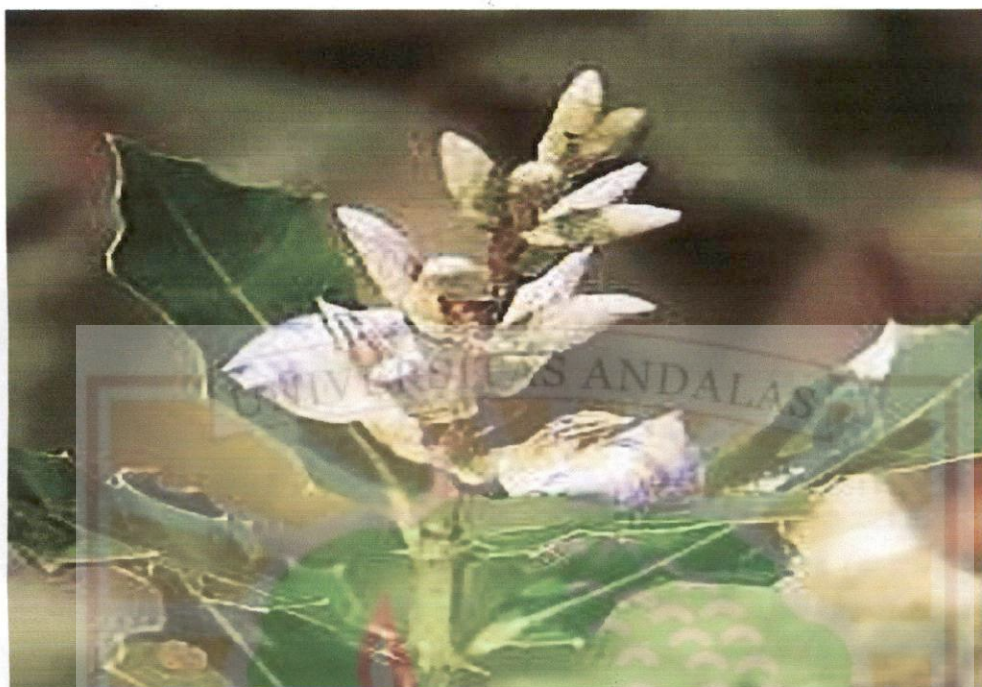
Bersama ini kami sampaikan hasil indentifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No.Kol.	Jenis	Suku
1	Akar daruju	<i>Acanthus illicifolicus</i> L.	Acanthaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani  
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI

*Eko Baronto Walujo*  
 Prof. Dr. Eko Baronto Walujo  
 NIP. 195111041975011001



Gambar 19. Tanaman Daruju (*Acanthus illicifolius* L.)

