

**PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*)
TERHADAP KADAR ENZIM SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CCL4**

SKRIPSI

Oleh:
NAILA ARUM RIFKIANA
NIM. 15620070



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*)
TERHADAP KADAR ENZIM SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CCL4**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan
dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
NAILA ARUM RIFKIANA
NIM. 15620070**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*)
TERHADAP KADAR ENZIM SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CCL4**

SKRIPSI

Oleh:

**NAILA ARUM RIFKIANA
NIM. 15620070**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal 14 Februari 2020

Pembimbing I

Kholifah Holil, M.Si
NIP. 19751106 200912 2 002

Pembimbing II

Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512 201903 1 002



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002

**PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN KESAMBI (*Schleichera oleosa*)
TERHADAP KADAR ENZIM SGPT DAN HISTOPATOLOGI HEPAR
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI CCL4**

SKRIPSI

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Pengaji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 14 Februari 2020

Pengaji Utama

Dr. Retno Susilowati, M.Si

NIP. 19671113 199402 2 001

(.....)

Ketua Pengaji

Dr. drh. Bayyinatul M., M.Si

(.....)

NIP. 19710919 200003 2 001

Sekretaris

Kholifah Holil, M.Si

(.....)

Pengaji

NIP. 19751106 200912 2 002

Anggota Pengaji

Mujahidin Ahmad

(.....)

NIP. 19860512 201903 1 002

(.....)

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Kvika Sandi Savitri, M.P

NIP. 197410182003122002

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah puji syukur atas kehadirat Allah SWT atas berkat, rahmat, dan ridhoNya. Saya dijadikan manusia yang senantiasa berfikir, berusaha, dan sabar dalam melaksanakan kewajiban. Semoga dengan terselesaikannya tugas akhir ini, Allah SWT memberikan manfaat terhadap ilmu untuk kedepannya. Semoga Allah SWT jadikan karya ini sebagai jalan untuk tercapainya tujuan – tujuan selanjutnya.

Kupersembahkan sebuah karya kecil ini kepada orang-orang tersayang dan paling berpengaruh di dalam hidup saya terkhusus kepada:

1. Kedua orang tua tercinta Bapak Joko Prayitno dan Ibu Siti Andarumi yang tiada hentinya telah memberikan semangat, doa, nasehat dan materi untuk kelancaran terselesaikannya skripsi ini
2. Bapak dan ibu guru, Ustadz dan Ustadzah yang telah membimbing dan mendidik, mengajarkan ilmu pengetahuan kepada saya sehingga saya bisa berada diposisi saat ini dan dapat menyelesaikan tugas akhir ini. Beliau – beliau yang telah mengantarkan saya untuk meraih tujuan dan cita-cita
3. Tak lupa kepada adek Ahmad Baskoro Dwi Sultoni, keluarga besar dan teman – teman tercinta, terima kasih telah meberikan dorongan dan semangat, sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini

Atas dukungan, nasehat, dan semangat yang telah diberikan untuk saya semoga Allah SWT menghaddiahkan surga untuknya. Semoga Allah SWT membalas kebaikan yang telah diberikan dan senantiasa member rahmat dan ridhoNya kepada kita. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi saya dan orang lain. Aamiin.

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ٥ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ٦

**“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan,
sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”**

(QS. Al - Insyirah 5 & 6)

إِنْ أَحْسَنْتُمْ أَحْسَنْتُمْ لِأَنفُسِكُمْ

**“Jika kalian berbuat baik, sesungguhnya kalian berbuat baik bagi
diri kalian sendiri”**

(QS. Al-Isra 7)

**“Keridhoan Allah itu di dalam keridhoan orang tua dan
kemarahan Allah itu di dalam kemarahan kedua orang tua.”**
(HR. At-Tirmidzi)

“Sepiro gedhening sengsoro yen tinompo amung dadi cobo”

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Naila Arum Rifkiana
NIM : 15620070
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi /Biologi
Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Terhadap Kadar Enzim SGPT dan Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi CCl₄

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa hasil penelitian ini tidak terdapat unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila pernyataan hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 14 Februari 2020

Yang Membuat Pernyataan



Naila Arum Rifkiana

NIM. 15620070

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



ABSTRAK

Rifkiana, Naila Arum. 2020. Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Terhadap Kadar Enzim SGPT dan Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi CCl₄. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si; Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Kata kunci: CCl₄, Enzim SGPT, Hepar, Kesambi

CCl₄ merupakan senyawa yang memiliki efek hepatotoksik sehingga dapat menyebabkan kerusakan hepar. Kerusakan hepar akibat induksi CCl₄ berupa perubahan struktur histologi dan keluarnya enzim hepar ke pembuluh darah. Sementara itu, enzim SGPT merupakan bioindikator terjadinya kerusakan hepar. Apabila terjadi kerusakan pada hepatosit kadar enzim SGPT akan meningkat di serum darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT dan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl₄. Hewan coba yang digunakan yaitu mencit jantan *Balb/c* berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok, 1 kelompok tidak diberi perlakuan apapun (N). Kelompok 2 sampai kelompok 6 diinjeksi intraperitoneal CCl₄ 0,5 µl/gram bb sebanyak 2x seminggu selama 2 minggu. Kelompok tersebut dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K+ (asam mefenamat 500 mg/kg bb), K- (CCl₄), P1 (ekstrak 400 mg/kg bb), P2 (ekstrak 500 mg/kg bb), dan P3 (ekstrak 600 mg/kg bb). Pemberian ekstrak dilakukan selama 12 hari. Parameter dalam penelitian berupa kadar enzim SGPT dan histologi hepar. Data yang normal dan homogen dilakukan uji one-way Anova, apabila terdapat pengaruh maka dilakukan uji lanjut. Hasil analisis one-way Anova menunjukkan bahwa ekstrak metanol kesambi tidak berpengaruh terhadap kadar enzim SGPT tetapi berdasarkan uji Brown forsythe menunjukkan bahwa ekstrak metanol kesambi berpengaruh terhadap histologi hepar mencit. Pemberian ekstrak metanol kesambi dengan dosis 400 mg/kg bb merupakan dosis yang paling optimal dalam memperbaiki histologi hepar.

ABSTRACT

Rifkiana, Naila Arum. 2020. The Effect of Methanol Extract of Kesambi Leaf (*Schleicheraoleosa*) to SGPT Enzyme Levels and Liver Histopathology of Mice (*Musmusculus*) Induced by CCl₄. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor: Kholifah Holil, M.Sc; Religious Supervisor: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Keywords: CCl₄, SGPT enzymes, liver, Kesambi

CCl₄ is a compound that has a hepatotoxic effect that can cause liver damage. Liver damage that is induced by CCl₄ is in the form of changes in histological structure and the release of liver enzymes into blood vessels. Meanwhile, the SGPT enzyme is a bio-indicator of liver damaged. If there is damage to thehepatocytes level of the SGPT enzyme will increase in blood serum. The purposes of the researchare to determine the influence of methanol extract ofkesambi (*Schleicheraoleosa*) against the levels of SGPT enzymes and liver histopathology of mice (*Musmusculus*) induced by CCl₄. The experimental animals used Balb/c malemice with aged of 2-3 months with a body weight of 25-30 grams. The type of research used an experimental study by using a completely randomized design (CRD) with 6 treatments and 4 replications. Experimental animals were divided into 6 groups, 1 group was not given any treatment (N). Group 2 to group 6 that were injected by CCl₄ intra-peritoneal of 0.5 µl/gram weightwere twice a week for 2 weeks. The group was divided into 5 groups namely K + (mefenamic acid 500 mg/kg bw), K- (CCl₄), P1 (extract 400 mg/kg bw), P2 (extract 500 mg/kg bw), and P3 (extract 600 mg/kg bw (body weight). Giving extracts were carried out for 12 days. The parameters were SGPT enzyme levels and liver histology. Normal and homogeneous data were conducted by Anova one-way test. If there is an influence, further tests are performed. Anova one-way analysis results showed that the kesambi leaf methanol extract did not affect the SGPT enzyme levels but based on Brown forsythe test showed that the methanol kesambi extract influenced the liver histology of mice. Givingkesambi methanol extract at a dose of 400 mg/kg bwwas the most optimal dose in improving liver histology.

مستخلص البحث

ريفكيانا، نيلا أروم. 2020. تأثير عصارة الميتانول في ورق كسمبي (*Schleicheraoleosa*) على مقدار إنزيم SGPT والكبд من الفئران (*Musmusculus*) المستحدث بواسطة CCl₄. البحث الجامعي. قسم علم الأحياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم مالانج. مشرف علم الأحياء: خليفة خليل، الماجستير، مشرف الدين: مجاهدين أحمد، الماجستير

الكلمات المفتاحية: CCl₄, إنزيم SGPT, الكبد، كسمبي

هو المركب الذي له تأثير تسمم الكبد يمكن أن يسبب تلف الكبد. تلف الكبد بسبب تحريض CCl₄ في شكل تغييرات في التركيب النسيجي وإطلاق أنزيمات الكبد في الأوعية الدموية. في أثناء ذلك، إن إنزيم SGPT هو أحد العوامل الحيوية في تلف الكبد. إذا حدث التلف في كبد مقدار إنزيم SGPT سيزيد في مصل الدم. الهدف من هذا البحث لمعرفة تأثير عصارة الميتانول في ورق كسمبي (*Schleicheraoleosa*) على مقدار إنزيم SGPT والكبد من الفئران (*Musmusculus*) المستحدث بواسطة CCl₄. كانت الحيوانات التجريبية المستخدمة من الفئران الذكور بال/ج 2-3 أشهر من العمر ويبلغ وزن الجسم من 30-25 غراماً. المنهج في هذا البحث هو المنهج التجاري باستخدام تصميم العشوائي الكامل مع 6 علاجات و 4 مكررات. تم تقسيم الحيوانات التجريبية إلى 6 مجموعات، ولم تعطى المجموعة الواحدة أي علاج (N). والمجموعة الثانية حتى المجموعة السادسة حقن CCl₄ داخل الصفاق 0.5 ميكرو لتر / غرام ب ب مرتين في الأسبوع لمدة أسبوعين. تم تقسيم المجموعة إلى 5 مجموعات وهي K₊ (حمض الميفيناميك 500 مغ / كغ من وزن الجسم)، K₋ (CCl₄، P1)، P2 (عصارة K₋ 400 مغ / كغ من وزن الجسم)، P3 (عصارة 500 مغ / كغ من وزن الجسم)، و P4 (عصارة 600 مغ / كغ من وزن الجسم). إعطاء مقتطفات نفذت لمدة 12 يوماً. المعلومات في البحث كان مقدار إنزيم SGPT ونسج الكبد. تم إجراء البيانات العادية والماجانسة عن طريق اختبار أحادي الاتجاه Anova، وإذا يوجد التأثير ف يتم إجراء مزيد من الاختبارات. دلت نتائج التحليل أحادي الاتجاه Anova أن عصارة الميتانول في ورق كسمبي (*Schleicheraoleosa*) لم يتاثر على مقدار إنزيم SGPT ولكن استناداً إلى اختبار Brownforsythe دل أن عصارة الميتانول في ورق كسمبي يتاثر على الأنسجة الكبد من الفئران. إعطاء عصارة الميتانول من كسمبي بجرعة 400 مغ / كغ من وزن الجسم هو أفضل جرعة في تحسين الأنسجة الكبد.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayahNyalah penulis mampu menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “**Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Terhadap Kadar Enzim SGPT dan Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi CCl4**”. Sholawat serta salam tak lupa terpanjatkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang memberikan bimbingan menuju jalan yang rahmatal lil alamin.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak mampu terselesaikan jik tidak adanya bimbingan, arahan, dukungan dan support dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd. Haris, M. Ag. Selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ruri Siti Resmisari, M.Si, selaku dosen wali yang senantiasa memberikan pengarahan dan nasehat kepada penulis
5. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen pembimbing yang penuh dengan keikhlasan dan kesabaran memberikan bimbingan, nasehat, dan motivasi kepada penulis selama penyusunan skripsi ini.

6. Mujahidin Ahmad, M.Sc, selaku dosen pembimbing agama yang telah dengan sabar memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini pada kajian Al-Qur'an dan As-Sunnah.
7. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Dr. Retno Susilowati, M.Si sekalu dosen ketua penguji dan penguji utama yang telah memberikan saran, nasehat dan kritiknya untuk kelancaran penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh dosen, laboran, dan staf administrasi di jurusan biologi yang membantu memberikan kemudahan dalam penyusunan skripsi ini.
9. Muhamad Basyarudin, M.Si, yang telah memberikan bantuan, arahan, dan masukan yang membangun kepada penulis.
10. Kedua orang tua tercinta Bapak Joko Prayitno dan Ibu Siti Andarumi serta adikku Ahmad Baskoro Dwi Sultoni yang selalu mendoakan dan memberi support baik moril maupun materil kepada penulis.
11. Teman-teman Biologi C 2015 yang telah menjadi teman, sahabat sekaligus keluarga dan penyemangat selama menuntut ilmu di UIN Malang.
12. Sahabat mencitku Siti Nur Annisah S.Si dan rekan satu bimbingan Habibi, S.Si, Syafrudin, S.Si, Nuri Thobibatus Shofia A, S.Si, dan Aulia Ramadhani, S.Si terima kasih telah menemaniku, mensupportku, mengiburku, dan membantuku, semoga kesuksesan menjadi hadiah untuk kita nanti.
13. Sahabatku (Devi Vitriana L, S.Si, Hibatulloh Muhda, S.Si, Siti Wardatun N, S.Si, Lila Biar Rohmah, S.Si, M Farid A, S.Si) dan lainnya yang tidak bisa disebutkan satu per satu, terimakasih telah membantu, memberikan

semangat, menjadi motivasi untukku, tempat berbagi keluh kesah, dan berbagi kebahagiaan bersama.

14. Seluruh penghuni kontrakan fiswan dan seluruh teman – teman biologi khususnya angkatan 2015, terimakasih telah menjadi teman sekaligus keluarga selama 4 tahun diperkuliahannya hingga berjuang bersama untuk menyelesaikan tugas akhir.
15. Adek-adek di jurusan biologi terima kasih supportnya, semoga penelitian ini memberikan manfaat untuk kalian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat kepada pembacanya. Aamiin.

Malang, 13 Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN.....	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRAC	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Hipotesis.....	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
1.6 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kesambi	9
2.1.1 Deskripsi	9
2.1.2 Klasifikasi	10
2.1.3 Kandungan Senyawa dan Manfaat Tanaman kesambi.....	10
2.2 Mencit	13
2.2.1 Deskripsi	13

2.2.2 Klasifikasi	14
2.3 Hepar	15
2.3.1 Anatomi	15
2.3.2 Histologi	16
2.3.3 Fungsi Hepar	19
2.3.4 Histopatologi Hepar	20
2.3.5 SGPT (<i>Serum Glutamic Pyruvic Acid</i>).....	26
2.4 Antioksidan.....	27
2.5 Radikal Bebas	28
2.6 Karbon Tetraklorida (CCl ₄).....	29
2.6.1 Deskripsi	29
2.6.2 Metabolisme CCl ₄	30
2.6.3 Efek CCl ₄ Terhadap Histopatologi Hepar.....	31
2.7 Asam Mefenamat	33

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian	34
3.2 Variabel Penelitian.....	34
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	34
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian.....	34
3.5 Alat dan Bahan	35
3.5.1 Alat	35
3.5.2 Bahan	35
3.6 Prosedur Penelitian	35
3.6.1 Persiapan Hewan Coba.....	35
3.6.2 Persiapan Perlakuan	36
3.6.2.1 Pembagian Kelompok Sampel.....	36
3.6.2.2 Perhitungan Dosis Ekstrak.....	36
3.6.3 Kegiatan Penelitian	37
3.6.3.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kesambi	37
3.6.3.2 Induksi CCl ₄ pada Hewan Coba.....	37
3.6.3.3 Pemberian Ekstrak Metanol Daun Kesambi	38
3.6.3.4 Pengambilan Sampel Serum Darah.....	38

3.6.3.5 Pengukuran Kadar Enzim SGPT.....	39
3.6.3.6 Pembuatan Preparat Histologi.....	39
3.6.4 Pengambilan Data	41
3.6.4.1 Penentuan Kerusakan Hepar	41
3.7 Analisis Data.....	43
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi Terhadap Kadar Enzim SGPT yang Diinduksi CCl ₄	44
4.2 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi Terhadap Histopatologi Hepar Mencit yang Diinduksi CCl ₄	49
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	57
5.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	71

DAFTAR TABEL

Table	Halaman
3.1 Kriteria penilaian gambaran histologi hepar	43
4.1 Pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (<i>Schleichera oleosa</i>) terhadap kadar enzim SGPT	45
4.2 Hasil uji one-way ANOVA kadar enzim SGPT (U/l).....	48
4.3 Hasil scoring kerusakan hepatosit (%)	49
4.4 Hasil uji Robust skoring histopatologi hepar mencit	50
4.5 Hasil uji lanjut Games-Howell skoring histopatologi hepar mencit.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi tanaman kesambi	9
2.2 Struktur anatomi hepar	16
2.3 Histologi hepar.....	17
2.4 Asinus hepar	18
2.5 Saluran porta menunjukkan infiltrasi inflamasi.....	22
2.6 Degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik	22
2.7 Perlemakan makro dan mikro.....	23
2.8 Badan acidopil	24
2.9 Hepatosit nekrosis	25
2.10 Septa fibrosis pada kasus nekrosis	26
2.11 Struktur CCl4.....	29
2.12 Mekanisme kerusakan sel.....	32
3.1 Plasma darah.....	38
3.2 Linea alba	39
3.3 Sel hepatosit normal.....	41
3.4 Kerusakan hepatosit	42
4.1 Rerata kadar enzim SGPT	45
4.2 Rerata nilai skoring tingkat kerusakan sel.....	52
4.3 Pengamatan mikroskopik histopatologi hepar.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

1. Perhitungan dosis ekstrak metanol kesambi (*Schleichera oleosa*) 71
2. Hasil SPSS uji normalitas kadar enzim SGPT 72
3. Hasil SPSS uji homogenitas kadar enzim SGPT 72
4. Hasil skoring kerusakan sel hepar 73
5. Hasil SPSS uji normalitas skoring hepatosit 76
6. Hasil SPSS uji homogenitas skoring hepatosit 76
7. Hasil SPSS uji lanjut Games-Howell skoring hepatosit 77

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hepar merupakan salah satu organ terbesar yang memiliki fungsi vital di dalam tubuh. Hepar memainkan peran penting dalam mengatur proses homeostasis fisiologis dalam tubuh seperti metabolisme, sekresi, dan penyimpanan (Shanmugasundaram, 2006; Verma, 2009). Organ tersebut berfungsi dalam proses metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Selain fungsi tersebut hepar juga berperan dalam pembentukan protein plasma, aktivasi vitamin, ekskresi kolesterol, sekresi empedu dan detoksifikasi senyawa asing (Sherwood, 2016).

Hepar mendetoksifikasi tubuh dengan membersihkan darah dari zat-zat asing seperti senyawa kimia, obat-obatan, dan senyawa toksik lainnya yang membahayakan tubuh (Junqueira, 2018). Senyawa tersebut akan dimetabolisme di hepar dan diekskresikan tubuh (Cline, 2015). Proses tersebut menyebabkan hepar sangat rentan terhadap akumulasi senyawa kimia dan toksik. Oleh karena itu, hepar menjadi target utama yang mengalami kerusakan karena kemampuannya dalam menetralisir racun di dalam tubuh (Pratiwi, 2016).

Kerusakan hepar ditandai dengan adanya perubahan struktur secara makroskopik dan mikroskopik dan perubahan enzim transaminase pada hepar. Perubahan makroskopik yang terjadi pada hepar dapat berupa perubahan warna dan perubahan berat (Isdadiyanto, 2009; Tatukude, 2014). Sedangkan, kerusakan hepar secara mikroskopik dapat berupa degenerasi, nekrosis hepatosit, kongesti sinusoid, dan pembengkakan sel hepar (Malekinejad, 2013; Maulina, 2018). Sementara itu, enzim transaminase akan meningkat ketika terjadi kerusakan hepar (Ramadhani, 2017). Kerusakan hepar tersebut dapat menyebabkan terjadinya penyakit hepar.

Penyakit hepar menyumbang sekitar 2 juta kasus kematian per tahun di seluruh dunia, 1 juta karena komplikasi sirosis dan 1 juta karena hepatitis virus dan karsinoma hepatoseluler (HCC). Kasus kematian akibat hepatitis akut (145.000) dan gangguan penggunaan alkohol (AUD) (129.000). Angka-angka ini menunjukkan bahwa sekitar 2 juta kematian di seluruh dunia dapat dikaitkan

dengan penyakit hepar (Asrani, 2019). Penyakit tersebut dapat terjadi karena infeksi parasit, virus, defisiensi nutrisi, obat-obatan, dan senyawa toksik (Rajaratman, 2014). Apabila hal tersebut tidak dicegah maka dapat menyebabkan stress oksidatif yang berakibat pada aktivasi sel hepatis stellate, disfungsi mitokondria, peroksidasi lipid, aduksi protein, dan kerusakan DNA (Li, 2015).

Paparan berkepanjangan terhadap hal-hal tersebut dapat menyebabkan kematian pada penderitanya (Bernal, 2013). Hal ini disebabkan hepar mengalami disfungsi yang dapat memicu respon multi-organ (Cardoso, 2017). Salah satu contoh yaitu dapat memicu kerusakan organ lain, seperti kerusakan otak dan gagal ginjal (Palma, 2014). Kondisi tersebut menyebabkan tingkat kematian kasus gagal hepar tergolong tinggi meskipun ada kemajuan besar termasuk dukungan multi-organ intensif dan transplantasi hepar (Pyleris, 2010).

Tahapan penyakit hepar terjadi dalam beberapa fase dari steatosis ringan dan steatohepatitis menjadi fibrosis, sirosis dan kanker hepatoseluler (Gordillo, 2017) atau tahap akut dan kronis. Tahap akut merupakan periode pendek terjadinya kerusakan yang menjadi patologi umum berbagai penyakit hepar. Pada fase tersebut terjadi nekrosis sel, pembengkakan hepatosit, respon inflamasi, perusakan struktur hepar dan peningkatan enzim transaminase (Li, 2018).

Apabila pada tahap akut penyakit hepar dapat diobati maka peradangan akan hilang dari tubuh, karena kerusakan yang terjadi sebagian besar bersifat reversibel (Mitchell, 2009; American Liver Foundation, 2016). Sementara itu, kerusakan yang terjadi pada fase kronis biasanya bersifat irreversibel dan mungkin memerlukan transplantasi organ untuk pengobatannya (Xing, 2017). Oleh karena itu perlu dilakukan pengobatan atau terapi pada fase akut untuk mengobati penyakit hepar.

Terapi yang dilakukan berdasarkan prinsip pengobatan barat seringkali terbatas dalam kemanjuran, membawa resiko efek samping, dan seringkali terlalu mahal khususnya bagi negara berkembang (Stickel, 2007). Sedangkan, transplantasi menjadi tidak mungkin ketika pembedahan menjadi kontra indikasi karena kegagalan multi organ (Bernal, 2013). Pengobatan penyakit hepar masih bersifat simptomatis dan seringkali mengecewakan karena masih banyak yang belum jelas penyebabnya (Verma, 2009). Namun, hakikatnya setiap penyakit yang

diberikan Allah SWT untuk hambaNya pasti ada jalan penyembuhannya. Dalam sebuah hadist yang diriwayatkan oleh Imam Muslim dari Jabir Bin Abdillah beliau berkata bahwa Nabi Muhammad SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “*Setiap penyakit ada obatnya, jika obat yang diberikan tepat, maka dia akan sembuh dengan izin Allah ‘Azza wa Jalla.*”(HR. Muslim).

Hadist di atas mengandung makna bahwa segala penyakit pasti ada obatnya. Jika pengobatan dan obat yang diberikan tepat dengan izin Allah SWT maka penyakit tersebut akan sembuh. Obat yang tepat yaitu yang sesuai untuk mengobati penyakit tersebut dan dosis yang diberikan takarannya sesuai sehingga dapat menyembuhkan. Namun, kesembuhan suatu penyakit tetap menjadi kuasa Allah SWT.

Manusia diperintahkan Allah SWT untuk melakukan usaha-usaha mencari pengobatan yang tepat. Salah satu cara untuk mencari obat tersebut yaitu dengan memperhatikan ciptaan Allah SWT sebagaimana dijelaskan dalam Al-Qur'an surah Asy-Syu'ara (26) ayat 7:

أَوْ لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتَنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٌ ٧

Artinya: “*Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami turunkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?*”(Q.S. Asy-Syu'ara (26): 7).

Ayat di atas merupakan perintah Allah SWT kepada hambaNya untuk memperhatikan kekuasaanNya. Kata “يَرَوْا” dalam ayat di atas artinya melihat atau memperhatikan (Al-Jazairi, 2008), sedangkan di dalam kamus al- Munawir dapat diartikan menduga atau menyangka. Allah SWT memerintahkan untuk melihat dan memperhatikan ciptaanNya yang berupa tumbuh-tumbuhan di bumi. Memperhatikan tumbuhan-tumbuhan tidak hanya sekedar melihat saja tetapi juga mengamati dan mencermati sehingga timbul rasa ingin tahu. Munculnya rasa ingin tahu yang semakin kuat dapat mendorong manusia untuk melakukan penelitian semua yang ada di alam semesta sebagai bentuk untuk mengetahui tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Allah SWT menunjukkan berbagai kekuasaannya di bumi agar manusia semakin bertaqwah kepadaNya.

Kekuasaan Allah SWT yaitu dengan diturunkannya berbagai macam tumbuh-tumbuhan di bumi. Hal tersebut dapat dilihat dari kata “زوج” artinya adalah warna (Qurthubi, 2009) atau jenis (Al-Jazairi, 2008), kata tersebut mengindikasikan keanekaragaman tumbuhan. Allah SWT menghidupkan bumi dengan menciptakan tumbuh-tumbuhan yang beragam baik dari segi warna, bentuk, dan rasa.

Berbagai macam tumbuh-tumbuhan tersebut merupakan rahmat dan nikmat Allah SWT kepada makhlukNya. Hal tersebut terdapat dalam kata “كربيه” yang artinya adalah baik dan mulia, asal kata “الكرم” dalam bahasa arab adalah “الفضل” (Keutamaan) (Qurthubi, 2009) bahwa tumbuhan memiliki banyak manfaat. Tumbuh-tumbuhan itu unggul, mulia dengan segala kehidupan yang ada didalamnya yang bersumber dari Allah SWT. Ungkapan tersebut memerintahkan manusia untuk memuliakan dan memperhatikan (Quthb, 2008).

Salah satu cara untuk mengamalkan ayat tersebut dapat dilakukan dengan penelitian. Penelitian yang dapat dilakukan yaitu dengan mengeksplorasi apa yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan tersebut. Tumbuhan diketahui memiliki kandungan fitokimia yang beragam begitu pula dengan manfaat yang diberikan. Oleh karena itu, kandungan fitokimia tersebut dapat diteliti untuk dijadikan alternatif pengobatan sebagai obat herbal.

Penyakit hepar merupakan penyakit yang memungkinkan untuk diobati dengan herbal. Obat herbal memiliki efek samping yang rendah atau tidak berbahaya daripada pengobatan konvensional (Stickel, 2007). Berdasarkan penelitian sebelumnya obat herbal dan fitokimianya dapat melindungi hepar dengan beberapa cara seperti menghilangkan virus dan mencegah stress oksidatif (Del prete, 2012).

Stress oksidatif terjadi ketika radikal bebas melebihi antioksidan yang ada didalam tubuh sehingga terjadi ketidakseimbangan (Muriel, 2016). Toksikan akan dimetabolisme oleh enzim CYP450 menjadi metabolit intermediet yang lebih toksik dari senyawa asalnya. Metabolit tersebut selanjutnya dibiotransformasi menjadi racun yang larut dalam air sehingga siap diekskresikan. Jika metabolit tersebut tidak dibiotransformasi maka dapat menyerang sel sehingga terjadi kerusakan (Cline, 2015). Kerusakan sel diindikasikan dengan meningkatnya kadar

enzin transaminase didalam darah. Meningkatnya konsentrasi enzim transaminase mencerminkan derajat kerusakan di hepar. Semakin tinggi kadar enzim maka tingkat kerusakan hepar semakin parah (Ramadhani, 2017).

Enzim SGPT (*Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*) merupakan salah satu enzim transaminase. Enzim tersebut menjadi biomarker yang spesifik terhadap kerusakan hepar, karena konsentrasinya paling tinggi di hepar daripada di jaringan lain (Woreta, 2014). Enzim ini akan keluar dari hepar ketika mengalami kerusakan sehingga konsentrasinya meningkat di serum darah. Berdasarkan penelitian Hassanein (2016) pemberian CCl_4 pada tikus *Sprague-Dawley* menyebabkan terjadinya peningkatan enzim SGPT sebanyak 14% dibandingkan dengan kontrol.

CCl_4 dimetabolisme CYP450 menghasilkan metabolit reaktif CCl_3 dan CCl_3O_2^* yang bersifat elektrofilik (Boll, 2001). Radikal tersebut lebih reaktif dan menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang berakibat pada kerusakan sel, sehingga membutuhkan perlindungan nutrisi antioksidan dari luar. Berdasarkan alasan tersebut, antioksidan memiliki aktivitas yang diperlukan untuk mencegah agen penyakit agar tidak menginfeksi tubuh (Motawi, 2011).

Antioksidan dapat mendonorkan elektron dan sebagai agen pereduksi sehingga mengurangi potensi radikal dalam tubuh (Sayuti, 2015). Kemampuan antioksidan endogen dapat meningkat dengan adanya antioksidan dari sumber alami dalam mencegah penyakit (Sulaiman, 2013). Antioksidan dari bahan tanaman bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan mengubahnya menjadi radikal yang kurang reaktif. Berbagai antioksidan penangkap radikal bebas dapat ditemukan dalam sumber makanan seperti buah-buahan, sayuran, dan lainnya (Kumar, 2014).

Salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan adalah kesambi (*Schleichera oleosa*). Kesambi diketahui memiliki manfaat sebagai tanaman obat tradisional (Jose, 2019). Berdasarkan penelitian kesambi memiliki aktivitas sebagai antikanker, antimikroba, antiinflamasi, antiarthritis, dan antioksidan (Thind, 2011; Ghosh, 2013; Khan, 2017; Santha, 2017). Daun kesambi diketahui memiliki kandungan karbohidrat, glikosida, polisakarida, protein, alkaloid, steroid, triterpen, flavonoid, tanin, dan minyak (Jose, 2018). Flavonoid dapat

berikatan atau membentuk *chelate* yang merubah radikal bebas menjadi non-toksik. Hal tersebut menyebabkan radikal bebas tidak dapat merusak hepar. Selain itu, flavonoid juga dapat mencegah aktivitas enzim sitokrom p450 dan metabolitnya sehingga mencegah stress oksidatif (Ramadhani, 2017).

Dasar perlakuan pada penelitian ini terdiri dari 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal (N), kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), dan tiga kelompok perlakuan. Berdasarkan penelitian Jose (2019) konsentrasi 100 μ l ekstrak metanol daun kesambi memiliki aktivitas antioksidan sebesar 33,81% dalam uji penangkapan radikal nitrit oksida. Penelitian Santha (2017) menunjukkan dosis 400 dan 600 mg/kg BB ekstrak kulit batang kesambi berpotensi sebagai antiinflamasi yang diinduksi asam asetat pada mencit albino swiss. Aktivitas penghambatannya masing-masing sebesar 63,4% dan 73,1%, lebih tinggi dari kontrol.

Penelitian Khan (2017) menunjukkan dosis 200 dan 400 mg/kg BB ekstrak kulit batang kesambi dapat menghambat inflamasi (edema telinga) yang diinduksi 12-O-Tetradecanoylphorbol 13-Acetate (TPA) pada mencit. Pengujian DPPH ekstrak metanol kulit batang kesambi menunjukkan aktivitas sebesar 81, 98% (Thind, 2011), sedangkan pengujian DPPH ekstrak metanol daun kesambi menunjukkan aktivitas sebesar 54, 94% (Jose, 2018). Oleh karena itu, dosis kesambi yang diberikan kepada mencit (*Mus musculus*) pada penelitian ini yaitu 400, 500, 600 mg/kg BB. Pada penelitian ini ekstrak metanol kesambi (*Schleichera oleosa*) digunakan sebagai agen untuk mengurangi radikal bebas akibat induksi CCl₄.

CCl₄ termasuk zat oksidan yang dapat memicu terjadinya kerusakan pada hepar. CCl₄ digunakan sebagai agen hepatotoksik dalam penelitian untuk mengetahui efek hepatoprotektif suatu tumbuhan ataupun senyawa lain (Mir, 2010). Pemberian CCl₄ menyebabkan meningkatnya ROS dan peroksidasi lipid sehingga integritas sel terganggu dan memicu respon inflamasi yang dapat berakibat pada kematian sel (Dutta, 2018). Scholten (2015) menjelaskan bahwa dosis CCl₄ yang umumnya diberikan berkisar 0,5 μ l – 0,7 μ l/gram BB mencit. CCl₄ menginduksi peningkatan kadar enzim hepar dan kerusakan histopatologi hepar

(Hassanein, 2016). Oleh karena itu, dosis CCl_4 yang diberikan yaitu $0,5 \mu\text{l}/\text{gram}$ BB karena dapat menginduksi kerusakan pada hepar.

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti bermaksud untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT dan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diberi karbon tetraklorida (CCl_4). Mencit diaklimatisasi hingga kondisi stabil dan penelitian dilakukan selama kurang lebih 4 minggu. Oleh karena itu, peneliti melakukan penelitian yang berjudul “pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT dan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4 ”).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan dari latar di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah ada pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)?
2. Apakah ada pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)
2. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4)

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah ada pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT dan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Secara teoritis, penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT dan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) setelah diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄)
2. Secara aplikatif, hasil dari penelitian ini diharapkan ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) dapat dijadikan sebagai hepatoprotektor dan terapi obat akibat radikal bebas.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) jl. Soekarno Hatta Malang. Mencit yang digunakan berjenis kelamin jantan strain *Balb/c* yang berusia 2-3 bulan, berat badan 25-30 gram sebanyak 25 ekor
2. Simplisia daun kesambi diekstraksi dengan pelarut metanol menggunakan metode maserasi
3. Penelitian ini dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok control normal (N), kontrol positif (K+), kontrol negatif (K-), dan tiga kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kesambi dosis 400, 500, 600 mg/kg BB. Dosis karbon tetraklorida (CCl₄) yang diberikan yaitu 0,5µl/gram BB melalui injeksi intraperitoneal
4. Pembuatan preparat histologi menggunakan metode paraffin dan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)
5. Parameter yang diamati yaitu kadar enzim SGPT dan histologi jaringan hepar mencit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kesambi (*Schleichera oleosa*)

2.1.1 Deskripsi

Kesambi (*Schleichera*) merupakan genus tanaman dari family *sapindaceae* yang masih berhubungan dengan pohon lerak (*Reetha*), leci dan rambutan, *Dodonaea viscosa*, dan lainnya. Umumnya tanaman ini ditemukan di anak benua India di hutan gugur dan di Asia Tenggara (Srinivas, 2011; Jose, 2018). Tanaman tersebut tumbuh disekitar kaki bukit Himalaya dan berasal dari Pakistan, Nepal, Bangladesh, India, Thailand, Sri-Lanka dan tumbuh alami di Indonesia khusunya di Bali dan Jawa (Anuragi, 2017).

Salah satu spesies dari genus Schleichera adalah *Schleichera oleosa* (kesambi) (Gambar 2.1). Secara morfologi tanaman tersebut termasuk jenis pohon berukuran sedang hingga besar, ketinggiannya dapat mencapai 40 meter. Cabangnya berbentuk silindris, berwarna hitam ketika muda kemudian menjadi cokelat kekuningan. Daunnya menyirip tersusun 2-4 pasang, tepi daun rapi dan ujung lancip, daun muda berwarna ungu pekat, tangkai daun silindris di atasnya pipih atau berlekuk – lekuk dan panjang 2 – 6 cm (Suita, 2012; Jannat, 2016) (Gambar 2.1).



Gambar 2.1 Morfologi tanaman kesambi, a. Tanaman kesambi, b. Daun dan buah kesambi (Useful Tropical Plants, 2014).

Morfologi bagian bunga berwarna kuning pucat atau hijau pucat, kelopak berbentuk oval hingga delta dengan panjang 1,5 mm. Jumlah kelopak bunga 4 - 6 helai, menyatu di pangkal, berwarna hijau dan mahkota berwarna putih, dan

termasuk bunga majemuk bertandan. Bunga kesambi berada di ketiak daun atau cabang yang tidak berdaun. Morfologi buah kesambi berbentuk bulat telur hingga subglobular dan panjangnya 15 x 13 mm. biji buah kesambi berbentuk subglobular dengan panjang 12 x 10 mm. Tanaman ini biasanya berbunga dan berbuah selama bulan Maret – November (Suita; 2012; Jannat, 2016).

Tanaman kesambi dapat tumbuh pada daerah dataran rendah kering hingga ketinggian 600 mdpl. Umumnya jika ditanam di pantai hingga ketinggian 250 mdpl. Di daerah Jawa kesambi dapat ditemukan di dataran rendah, namun dapat juga ditemukan pada dataran tinggi (900 – 1200 mdpl). Tanaman ini memerlukan intensitas curah hujan tahunan 750 – 2500 mm. Kesambi dapat hidup pada suhu maksimal 35 – 47,5 °C dan suhu minimal 2,5 °C. Tanaman ini menyukai kondisi tanah yang kadang berkerikil, berbatu, drainase yang baik, dan sedikit asam (Suita, 2012).

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman kesambi (*Schleichera oleosa* Lour) berdasarkan Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (2019) adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Viridiplantae
Infrakingdom	:	Streptophyta
Superdivisi	:	Embriophyta
Divisi	:	Tracheophyta
Subdivisi	:	Spermatophyta
Kelas	:	Magnoliopsida
Superordo	:	Rosanae
Ordo	:	Sapindales
Famili	:	Sapindaceae
Genus	:	Schleichera
Spesies	:	<i>Schleichera oleosa</i> (Lour)

2.1.3 Kandungan Senyawa dan Manfaat Tanaman Kesambi

Tanaman kesambi digunakan sebagai inang serangga lac untuk menghasilkan resin yang digunakan untuk pernis dan industri lainnya. Kayu kesambi sangat keras dan tahan lama sehingga digunakan sebagai roller pada

pabrik minyak dan gula. Selain itu, kayu kesambi sangat cocok untuk kayu bakar dan membuat arang yang sangat baik. Bagian daun dan ranting kesambi sering digunakan sebagai pakan ternak (Ghosh, 2011; Bhatia, 2013; Jannat, 2016; Anuragi, 2017).

Biji kesambi diolah menjadi minyak yang disebut minyak kusum atau minyak macassar. Minyak tersebut digunakan untuk memasak, penerangan, menumbuhkan rambut, biofuel, dan sebagai obat tradisional (Anuragi, 2017). Secara umum daun, minyak, buah, dan kulit pohon kesambi digunakan sebagai obat tradisional untuk astringen dan melawan inflamasi kulit, ulcer, jerawat dan infeksi kulit lainnya. Selain itu, kesambi juga diketahui dapat digunakan sebagai antibiotik, analgesik, dan obat disentri (Santha, 2017).

Berdasarkan penelitian kandungan fitokimia, diketahui bahwa kulit batang kesambi mengandung lupeol, lupeol asetat, betulin, asam betulin, betasitosterol, dan scopoletin. Dalam turunan lupan, betulin dan asam betulin merupakan senyawa yang paling efektif dalam inflamasi kulit. Asam betulin dan betulin menghambat phospolipase A2 dan menunjukkan aktivitas anti-inflamasi (Santha, 2017). Kesambi diketahui juga memiliki senyawa triterpen yang dapat melawan kanker (Thin, 2011). Tanaman ini memiliki senyawa taraxeron dan asam trikadenik yang mampu melawan bakteri dan jamur (Ghosh, 2011).

Ekstrak daun kesambi menggunakan pelarut metanol diketahui memiliki kandungan fitokimia berupa karbohidrat, glikosida, polisakarida, protein, alkaloid, steroid, triterpen, flavonoid, tanin, dan minyak (Jose, 2018). Kesambi ditemukan memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena adanya senyawa fenolik dan polifenol. Tanaman tersebut mengandung beragam senyawa polifenol yang dapat menangkap radikal bebas dan mencegah kerusakan sel, anti-hipersensitif, dan khasiat obat lainnya (Bhatia, 2013; Jose, 2019).

Senyawa fenol dan polifenol seperti flavonoid, tanin, dan alkaloid memiliki aktivitas antioksidan dan terutama karena sifat redoksnya. Senyawa tersebut memungkinkan mereka bertindak sebagai agen pereduksi, pendonor hidrogen, meredamkan oksigen singlet atau kelat logam. Oleh karena itu, senyawa tersebut memerankan efek antioksidasi yang dapat mengurangi pembentukan radikal bebas (Jose, 2019).

Flavonoid merupakan kelas penting dari produk alam khususnya metabolit sekunder tanaman yang memiliki struktur polifenol. Senyawa tersebut memiliki efek biokimia dan antioksidan yang menguntungkan untuk mengobati berbagai penyakit. Flavonoid diaplikasikan dalam berbagai hal seperti nutraceutical, farmasi, obat - obatan, dan kosmetik. Hal tersebut karena sifat antioksidan, antiinflamasi, antimutagenik, dan antikanker ditambah kemampuannya untuk memodulasi fungsi enzim seluler utama (Panche, 2016).

Flavonoid dapat mencegah cedera yang disebabkan radikal bebas dengan berbagai cara salah satunya dengan menangkap radikal bebas. Flavonoid akan dioksidasi oleh radikal bebas, sehingga radikal menjadi lebih stabil dan kurang reaktif. Hal tersebut disebabkan reaktivitas yang tinggi gugus hidroksil dari flavonoid sehingga radikal menjadi tidak aktif. Flavonoid akan mendonorkan atom hidrogennya atau transfer elektron tunggal, sebagaimana dijelaskan dalam persamaan berikut: Flavonoid (OH) + R (O) + RH, R merupakan radikal bebas dan (O) adalah oksigen dari radikal bebas (Prochazkova, 2011; Banjarnahor, 2014; Panche, 2016).

Flavonoid juga berpengaruh terhadap enzim- enzim di dalam tubuh. Senyawa tersebut menghambat enzim – enzim penghasil radikal bebas seperti xantin oksidase, lipoksigenase, protein kinase C, siklooksigenase, monooksigenase mikrosomal, suksinoksidase mitokondira dan NADPH oksidase. Flavonoid dapat menghambat isozim sitokrom P450 untuk membentuk prokarsinogen. Selain itu, flavonoid juga membantu produksi enzim metabolisme seperti glution- S- transferase, quinine reduktase, dan uridin- 5- diphosphoglucoronyl transferase yang berfungsi untuk pertahanan diri dan detoksifikasi xenobiotik (Prochazkova, 2011; Banjarnahor, 2014; Panche, 2016).

Kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalam suatu tanaman merupakan salah satu tanda- tanda kekuasaan Allah SWT. Hal tersebut tersirat dalam Al-Qur'an surah Al-Imran (3) ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْتِلَافِ الَّلَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيٌّ لِّلَّذِينَ لَا يُبَيِّنُونَ ۗ

Artinya: "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal" (QS.Al-Imran (3): 190).

Kata “لَيْتَ” maknanya adalah bukti yang jelas atas eksistensi Allah SWT dan kemahakuasaanNya. Sedangkan kata “لُّؤْلِي الْأَلْبَبِ” yaitu orang- orang yang berakal dan dengan akal tersebut mampu menangkap dan memahami tanda- tanda pada ciptaanNya (al-Jazairi, 2007). Ayat tersebut menjelaskan bahwa sesuatu yang ada di bumi seperti pepohonan, tumbuhan, hewan, dan lainnya merupakan tanda kekuasaan Allah SWT (Ibnu Kasir, 2000). Tanda- tanda tersebut hanya dapat ditangkap atau dipahami oleh orang- orang yang berakal, hal ini sebagai salah satu fungsi diciptakannya akal bagi manusia (Qurthubi, 2009).

Hal tersebut berkorelasi dengan manfaat yang terdapat pada suatu tumbuhan yaitu senyawa fitokimia. Apabila manusia tidak mau memperhatikan ataupun mencari tahu maka kebaikan yang terdapat pada tanaman tersebut akan menjadi sia-sia. Kebaikan Allah SWT menciptakan senyawa fitokimia yang dapat digunakan untuk berbagai kepentingan salah satunya sebagai pencegah penyakit. Dengan pemikiran dan pemahaman yang benar maka manusia dapat membuka pandangan dan menerima ayat – ayat Allah SWT pada alam semesta (Quthb, 2008).

2.2 Mencit (*Mus musculus*)

2.2.1 Deskripsi

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan vertebrata yang tergolong dalam kelas mamalia penggerat (rodentia). Ciri – ciri mencit yaitu bentuk tubuhnya kecil, rambut yang menutupi tubuhnya berwarna putih, siklus estrus teratur yaitu 4 – 5 hari, ekor berwarna kemerahan, dan berat badan jantan dewasa sekitar 20 – 40 gram (Akbar, 2010). Selain itu, karakteristik mencit yang lain yaitu jinak, takut cahaya, aktif pada malam hari, perkembangbiakannya mudah, memiliki siklus hidup yang pendek antara 1 – 3 tahun, dan tergolong binatang poliestrus (Silitonga, 2008).

Mencit banyak digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian laboratorium, sekitar 40 – 80%. Hewan ini mudah didapatkan dengan harga yang relatif murah dan biaya pakan yang rendah (Silitonga, 2008). Mencit digunakan sebagai model dalam penelitian berbagai macam penyakit termasuk dengan metabolismenya, perkembangan, kelainan saraf, imunitas dan lainnya (Rixey, 2015). Selain itu, mencit juga berkembang biak dengan cepat, mudah dipelihara,

genetiknya bervariasi serta sifat anatomi dan fisiologinya terkarakteristik dengan baik (Akbar, 2010).

Penciptaan mencit dan pemanfaatannya sebagai hewan percobaan merupakan salah satu nikmat dari Allah SWT kepada makhluknya. Hal tersebut secara tersirat dijelaskan dalam Al-Qur'an surah Luqman (31) ayat 20:

أَلَمْ تَرَوْ أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ عَلَيْكُمْ نِعْمَةً
ظَهِيرَةً وَبَاطِنَةً وَمِنَ النَّاسِ مَنْ يُجْدِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ وَلَا هُدًى وَلَا كِتْبٍ مُّنِيرٍ
٢٠

Artinya: "Tidakkah kamu perhatikan sesungguhnya Allah telah menundukkan untuk (kepentingan)mu apa yang di langit dan apa yang di bumi dan menyempurnakan untukmu nikmatnya lahir dan batin. Dan diantara manusia ada yang membantah tentang (keasaan) Allah tanpa ilmu pengetahuan atau petunjuk dan tanpa kitab yang memberi penerangan" (Q.S. Luqman (31): 20).

Kata "سَخَّرَ" artinya adalah "menundukkan" (Qurthubi, 2009), bahwa Allah SWT telah menundukkan sesuatu yang ada di bumi untuk kepentingan manusia. Salah satunya yaitu dengan ditundukannya mencit, hewan yang tergolong liar namun atas izin Allah SWT dapat dikendalikan oleh manusia untuk berbagai kepentingan salah satunya untuk penelitian. Ditundukannya mencit dapat menghasilkan sebuah pengetahuan seperti kata "ظَهِيرَةً", berarti kenikmatan dunia atau " apa yang dilihat mata dan kata " وَبَاطِنَةً " adalah apa yang didapatkan manusia untuk dirinya (Qurthubi, 2009). Pengetahuan yang didapat tersebut dapat bermanfaat untuk manusia.

2.2.2 Klasifikasi

Berdasarkan Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (2019) secara taksonomi klasifikasi mencit adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Bilateria
Infrakingdom	: Deuterostomia
Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Infrafilum	: Gnathostomata
Superkelas	: Tetrapoda
Kelas	: Mammalia

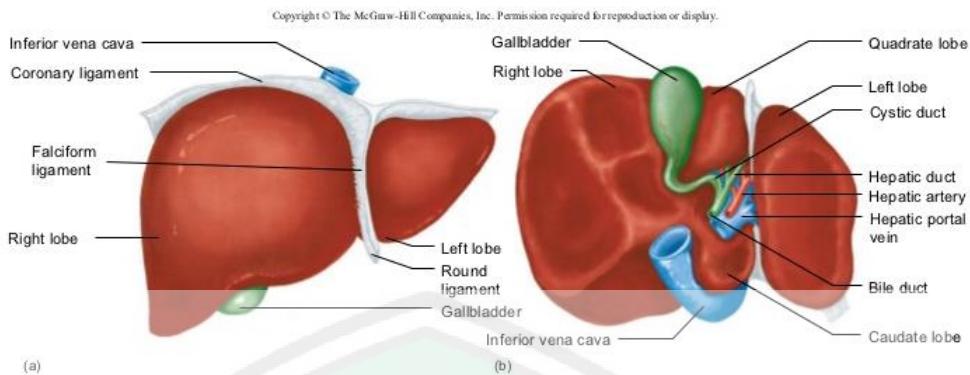
Subkelas	: Theria
Infrakelas	: Eutheria
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Mymorpha
Superfamili	: Muroidea
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Mus
Subgenus	: Mus (Mus)
Spesies	: <i>Mus musculus</i> . Linnaeus

2.3 Hepar

2.3.1 Anatomi

Hepar merupakan organ internal dan kelenjar asesori terbesar di dalam tubuh manusia. Berat hepar antara 1000 – 2000 gram atau menyumbang 2% dari total berat tubuh dewasa. Hepar berwarna merah kecokelatan dan disuplai dengan pembuluh darah. Organ tersebut terletak di rongga perut sebelah kanan atas di bawah diafragma. Sebagian hepar dikelilingi oleh tulang rusuk dan meluas dari interkostal kelima hingga batas bawah tulang rusuk. Hepar tertutupi oleh kapsul jaringan ikat dan lapisan peritoneum visceral, kecuali bagian kecil di permukaan diafragma yang disebut daerah telanjang (Shier, 2004; McKinley, 2006; Syaifuddin, 2012; Hall, 2016).

Hepar terbagi atas empat lobus yang tidak sepenuhnya terpisah dan didukung 2 ligamen. Lobus yang paling utama yaitu lobus kanan dan lobus kiri. Lobus kanan dipisahkan dengan lobus kiri yang lebih kecil oleh ligament falciform, yaitu lipatan peritoneal yang menahan hepar ke dinding perut anterior. Dibagian tepi bebas inferior ligamentum falciform terdapat ligamentum bundar (ligamentum teres) yang merupakan sisa dari vena umbilikalis janin. Lobus kanan terbagi atas lobus kaudatus dan lobus kuadratus. Lobus kaudatus terletak disebelah bawah bagian ekor berbatasan dengan vena kava inferior. Sedangkan, lobus kuadratus berdekatan dengan *gallbladder* atau di belakang berbatasan dengan pars pilorika, ventrikula, dan duodenum superior (McKinley, 2006; Syaifuddin, 2012) (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Struktur anatomi hepar (Shier, 2004).

Sepanjang permukaan inferior hepar adalah beberapa struktur yang secara kolektif menyerupai huruf H. Kantong empedu dan ligamentum bundar hepar membentuk bagian superior vertikal H; vena cava inferior dan ligamentum venosum membentuk bagian inferior vertikal. Porta hepatis mewakili palang horizontal H dan merupakan tempat darah dan pembuluh limfistik, saluran empedu, dan saraf masuk dan meninggalkan hepar (McKinley, 2006)

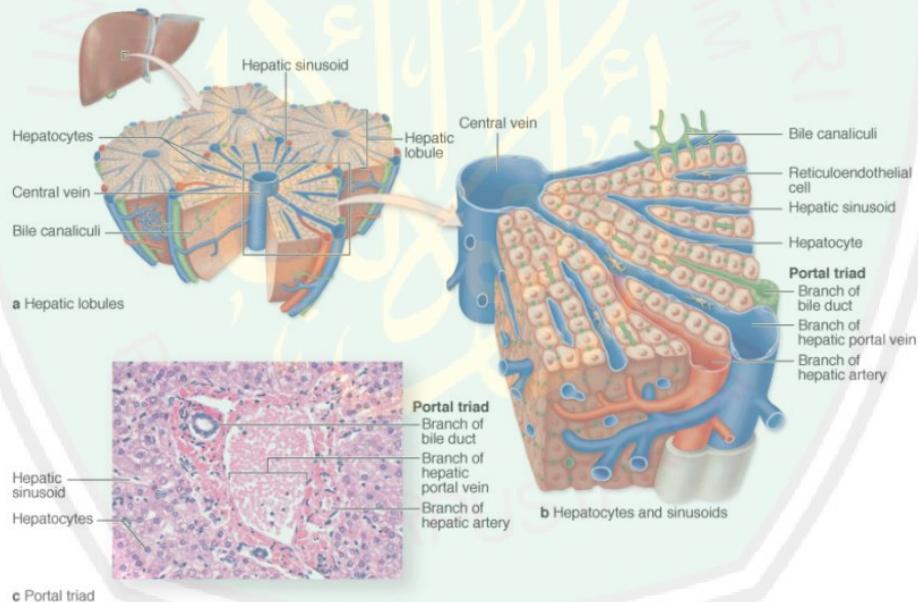
2.3.2 Histologi

Hepar tersusun atas unit – unit fungsional yang disebut lobulus, yaitu jaringan yang tersusun mengelilingi vena sentral, berbentuk heksagonal, dibatasi vaskuler dan saluran empedu (Sherwood, 2016 ; Hall, 2016) (Gambar 2.3). Lobulus terdiri dari vena sentralis, hepatosit, sinusoid, dan portal triad. Sel hepar atau hepatosit adalah sel epitel yang dikelompokkan dalam lempeng yang saling berhubungan. Hepatosit disusun menjadi ribuan lobulus hepatic polihedral yang kecil ($\sim 0,7 \times 2$ mm) yang merupakan unit struktural dan fungsional klasik hati (Mescher, 2009).

Hepatosit adalah sel polihedral besar, dengan enam permukaan atau lebih, dan diameter khas 20-30 mm. Pada preparat HE sitoplasma biasanya eosinofilik karena jumlah besar mitokondria, hingga 2000 per sel. Hepatosit memiliki inti bulat besar dengan nukleolus. Permukaan setiap hepatosit berbatasan dengan dinding sinusoid, melalui ruang perisinusoidal, dan dengan permukaan hepatosit lain. Perbatasan antara dua hepatosit terdapat ruang tubular yang disebut kapiler empedu yang mengalir menuju bill duktus (Eroschenko, 2008; Mescher, 2009; Hall, 2016).

Lobulus terutama disusun oleh beberapa lempengan seluler hepar yang memutar seperti jari – jari roda (Shier, 2004; Hall, 2016). Setiap lobulus memiliki tiga hingga enam area portal di pinggirannya dan sebuah venula yang disebut vena sentral di tengahnya. Zona portal di sudut lobulus terdiri dari jaringan ikat yang terdiri dari venula (cabang vena porta), arteriol (cabang arteri hepatis), dan saluran epitel kuboid (cabang dari sistem saluran empedu), tiga struktur yang disebut portal triad (Mescher, 2009; Sherwood, 2016) (Gambar 2.3).

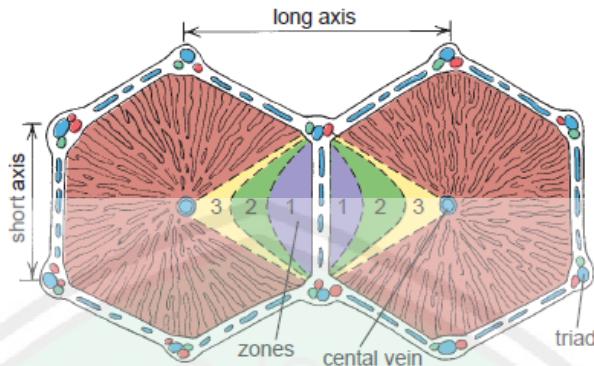
Hepatosit pada setiap asinus hepar digambarkan diatur dalam tiga zona elips konsentris yang mengelilingi sumbu pendek (Gambar 2.3). Zona 1 paling dekat dengan sumbu pendek dan suplai darah dari penetrasi cabang vena porta dan arteri hepatis. Sel pada zona 1 adalah sel yang pertama menerima oksigen, nutrisi, dan racun dari darah sinusoidal dan yang pertama menunjukkan perubahan morfologis setelah oklusi saluran empedu (stasis empedu). Sel-sel ini juga yang terakhir mati jika sirkulasi terganggu dan yang pertama beregenerasi (Ross, 2011).



Gambar 2.3 Histologi hepar (McKinley, 2006).

Zona 3 adalah zona terjauh dari sumbu pendek dan terdekat dengan vena hepatica terminal (vena sentral). Sel – sel pada zona tersebut merupakan yang pertama menunjukkan nekrosis iskemik (nekrosis sentrilobular) dalam situasi penurunan perfusi dan yang pertama menunjukkan akumulasi lemak. Zona 2 terletak di antara zona 1 dan 3 tetapi tidak memiliki batas yang jelas. Sel-sel di

zona 2 memiliki karakteristik fungsional dan morfologis dan respons menengah ke zona 1 dan 3. (Ross, 2011) (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Asinus hepar (Ross, 2011)

Hepar dibantu suplai darah ganda yaitu vena porta dan arteri hepatis. Vena porta hepatis membawa darah dari pembuluh kapiler saluran pencernaan, limpa, dan pankreas. Pembuluh tersebut membawa sekitar 75% volume darah ke hati. Darah ini kaya akan nutrisi dan substansi yang diserap lainnya namun secara keseluruhan rendah oksigen. Arteri hepatis merupakan cabang dari batang celiac. Pembuluh tersebut membawa darah yang kaya oksigen dan mensuplai darah ke hepar. Darah dari dua pembuluh cabang ini akan bercampur saat melalui lobulus hepar (Shier, 2004; McKinley, 2006).

Darah yang berisi nutrisi dari vena porta melalui sinusoid dan diserap untuk memberi makan kepada sel. Sinusoid adalah saluran pembuluh darah yang seperti jari – jari roda yang dibatasi lempeng hepatosit. Pembuluh tersebut merupakan kapiler berdinding tipis, fenestrasi atau “leaky” dimana darah vena dan arteri bercampur dan kemudian mengalir perlahan menuju vena sentral keluar dari hepar. Sinusoid dibatasi oleh sel endotelial dan sel Kuffer (sel retikuloendotelial) (McKinley, 2006 ; Eorschenco, 2008; Hall, 2016).

Sel Kuffer merupakan makrofag yang mampu memfagositosis bakteri dan benda asing lainnya di dalam darah sinus hepar (Shier, 2004). Sel Kuffer berfungsi sebagai garis pertahanan pertama terhadap partikel dan bahan imunoreaktif yang lewat saluran pencernaan melalui sirkulasi porta, dan sebagai barier yang terakhir. Sel Kupffer memainkan peran anti-inflamasi utama dengan mencegah pergerakan zat-zat imunoreaktif dari usus yang melewati sinusoid hati. Sel tersebut juga

membersihkan partikel, sel-sel eritrosit yang mati dan tua dalam parenkim hepatis, dari sirkulasi sistemik (Eroschenko, 2008; Dixon, 2013).

2.3.3 Fungsi Hepar

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di langit dan bumi dengan sebaik- baiknya. Begitu banyak tanda – tanda kekuasaan Allah SWT yang dapat dipelajari oleh manusia sebagaimana dijelaskan di dalam Al- Qur'an surah Fussilat (41) ayat 53:

سَنُرِيهِمْ إِلَيْنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ أَوْ لَمْ يَكُنْ بِرَبِّكُمْ
أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ ٥٣

Artinya: “Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda- tanda (kebesaran) kami disegenap penjuru dan pada diri mereka sendiri, sehingga jelaslah bagi mereka bahwa Al-Qur'an itu adalah benar. Tidak cukupkah (bagi kamu) bahwa Tuhanmu menjadi saksi atas segala sesuatu?”(Q.S. Fussilat (41): 53).

Berdasarkan ayat di atas Allah SWT memperlihatkan tanda – tanda kekuasaanNya di seluruh penjuru, yaitu di langit dan bumi. Kekuasaan Allah SWT itu dapat berupa tumbuhan, pepohonan, gunung – gunung, dan lainnya. Kata “وَ فِي أَنفُسِهِمْ” artinya “dan pada diri mereka sendiri” (Qurthubi, 2009), Allah SWT juga menunjukkan tanda kebesaraNya tidak hanya secara umum yang ada di langit dan bumi, namun juga pada diri makhluknya.

Salah satu kekuasaan Allah SWT yaitu dengan menciptakan kelengkapan pada tubuh, organ, dan sistem yang berjalan harmonis di dalam tubuh. Keteraturan sistem di dalam tubuh menyebabkan manusia dapat melakukan aktivitas dengan baik. Mengetahui fungsi organ dan apa yang terjadi di dalam tubuh dapat menambah rasa syukur dan pengetahuan. Salah satu contoh organ yang fungsional di dalam tubuh adalah hepar.

Hepar merupakan pabrik biokimia utama di dalam tubuh, selain membantu pencernaan dan penyerapan lemak hepar juga memiliki fungsi yang lain. Berikut adalah fungsi hepar (Hall, 2016):

1. Hepar mengkonversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, terlibat dalam glukoneogenesis, dan pembentukan beberapa senyawa kimia dari produk intermediet metabolisme karbohidrat. Hepar berperan penting dalam mempertahankan konsentrasi gula darah

2. Dalam metabolisme lemak hepar memiliki fungsi untuk oksidasi asam lemak untuk suplai energi fungsi tubuh yang lain, sintesis jumlah besar kolesterol, lipid, dan sebagian besar lipoprotein, dan sintesis lemak dari protein dan karbohidrat
3. Fungsi penting hepar dalam metabolisme protein yaitu deaminasi asam amino, pembentukan urea untuk menghilangkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, interkonversi bermacam – macam asam amino dan sintesis senyawa lain dari asam amino
4. Hepar memiliki kecenderungan untuk menyimpan vitamin. Vitamin yang disimpan dalam jumlah terbesar adalah vitamin A, namun vitamin D dan vitamin B12 normalnya juga disimpan dengan baik di hepar
5. Hepar menyimpan besi dalam bentuk *ferritin*. Sel hepar mengandung sejumlah besar protein *apoferritin*, yang mampu menggabungkan secara reversibel dengan besi
6. Hepar membentuk substansi darah yang digunakan untuk koagulasi, pembentukan substansi di hepar untuk proses koagulasi meliputi *fibrinogen*, *prothrombin*, *accelerator globulin*, faktor VII, dan beberapa faktor penting lainnya
7. Hepar memiliki kemampuan untuk detoksifikasi atau mengeluarkan obat ke dalam empedu, termasuk sulfonamid, penicilli, ampicillin, dan eritromisin, yang kemudian diekresi.

2.3.4 Histopatologi Hepar

Hepar merupakan organ kunci dalam proses metabolisme nutrisi (glikogen, protein, lemak) dan bahan kimia eksogen (obat – obatan dan racun). Organ tersebut memiliki kapasitas kompensasi yang sangat besar dan kemampuan regeneratif (Ryan, 2012). Hepar memiliki kemampuan dalam proses detoksifikasi, yaitu tugas vital seluler yang apabila tidak dilakukan dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas dini (Cline, 2015). Dalam proses detoksifikasi beberapa toksikan dibiotransformasi menjadi lebih toksik (Lu, 2010). Oleh karena itu kerusakan hepar akibat agen hepatotosik merupakan akibat yang serius (Motawi, 2011).

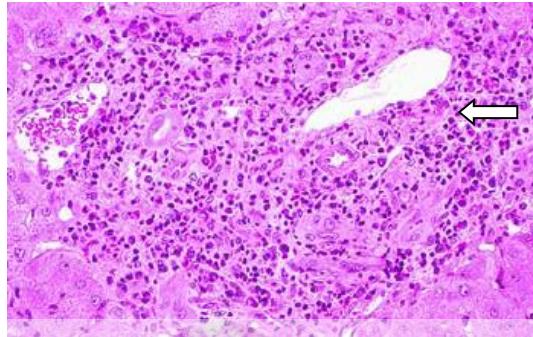
Hepar sering mengalami kerusakan akibat dari sebagian toksikan yang diserap oleh sistem gastrointestinal dibawa vena porta ke hepar (Lu, 2010). Kerusakan hepar mungkin tidak terdeteksi hingga tahap akhir, namun tanda-tanda penyakit hepar mudah terlihat dengan deteksi transaminase hepatoselular (ALT) yang dikeluarkan ke dalam serum. Selain itu, pemeriksaan histologi jaringan hepar juga dapat menunjukkan perubahan histologi seperti steatosis, peradangan, pembengkakkan hepatosit, badan Mallory-Denk, apoptosis, dan fibrosis atau sirosis (Guicciardi, 2013).

Patologi hepar pada dasarnya dapat dikelompokkan ke dalam beberapa kategori utama yaitu gangguan degeneratif, atrofi, dan nekrotik (Ryan, 2012). Menurut Mitchell (2009) pola cedera struktur hepar akibat dari toksikan adalah sebagai berikut:

1. Peradangan

Peradangan adalah respon fisiologis untuk melindungi tubuh dari berbagai infeksi mikroba, senyawa kimia, zat fisik, dan lainnya. Meskipun demikian, peradangan dapat pula membahayakan karena menyebabkan hipersensitivitas yang dapat menyebabkan kematian atau kerusakan organ. Pada umumnya peradangan ditandai dengan respon dinding vaskuler dan respon sel – sel radang (Mitchell, 2009).

Peradangan pada sel menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah sehingga menyebabkan peningkatan aliran darah ke daerah cedera (Mitchell, 2009). Selain itu secara mikroskopis ditemukan sel – sel radang berupa mononuklear termasuk makrofag, limfosit, dan sel plasma di saluran porta dan parenkim (Mitchell, 2009; Weber, 2011). Pada saluran porta biasanya menunjukkan adanya infiltrasi limfositik dan hiperplasia sel kupffer dengan semua lobulus sama-sama terpengaruh, terkadang limfositosis sinusoidal juga dapat terjadi (Kanel, 2017).



Gambar 2.5 Saluran porta menunjukkan infiltrasi inflamasi (panah putih) (Kanel, 2017).

2. Degenerasi

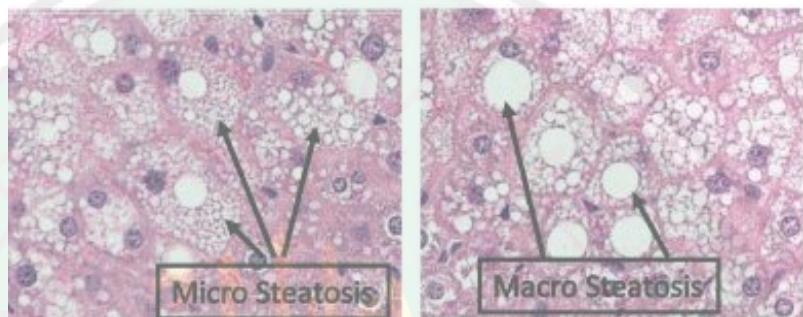
Degenerasi merupakan perubahan morfologi sel yang bersifat reversible. Kondisi ini biasanya ditandai dengan pembengkakan sel akibat lemak ataupun air. Pembengkakan sel dapat terjadi ketika sel tidak dapat mempertahankan keseimbangan ion dan cairan (Mitchell, 2009). Degenerasi ada dua macam yaitu degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik (Amiralevi, 2017) (Gambar 2.6).



Gambar 2.6 Degenerasi parenkimatosa (panah biru), degenerasi hidropik (Panah putih) (Prasetya, 2017).

Secara mikroskopis indikator degenerasi parenkimatosa yaitu pembengkakan sel dengan sitoplasma tampak keruh bergranula (Amiralevi, 2017). Degenerasi tersebut merupakan degenerasi yang paling ringan dan dapat kembali normal (Sari, 2018). Degenerasi hidropik akan terlihat berupa vakuola – vakuola kecil didalam sitoplasma. Vakuola tersebut terbentuk akibat segmen retikulum endoplasma (RE) teregang (Maulina, 2018). Selain itu, juga terjadi perubahan perlemakan pada sel dengan munculnya vakuola – vakuola lipid (Mitchell, 2009).

Perlemakan yang terjadi dapat berupa perlemakan makro dan mikro (gambar 2.7). Perlemakan mikro ditandai dengan munculnya vakuola kecil namun tidak mendesak inti sel. Sementara itu, perlemakan makro dapat terlihat berupa vakuola besar yang hampir memenuhi hepatosit dan mendesak inti sel ke pinggir. Degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik dapat kembali normal ketika cedera berakhir, namun jika kerusakan terus terjadi dan semakin parah maka dapat terjadi nekrosis (Maulina, 2018) (Gambar 2.7).



Gambar 2.7 Perlemakan makro dan mikro (Sethunath, 2018)

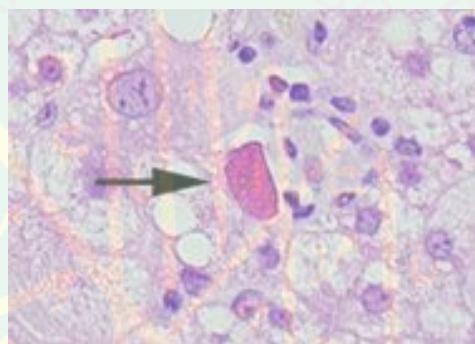
3. Nekrosis

Nekrosis merupakan kematian sel yang tidak disengaja akibat efek dari hepatotoksik yang dapat dipredksi dan langsung dari obat atau racun. Hal tersebut adalah konsekuensi fatal akibat kekurangan oksigen seluler, di mana pembangkitan reaktif oksigen spesies (ROS) menyebabkan disfungsi mitokondria dan penurunan ATP di bawah ambang batas yang diperlukan untuk mempertahankan integritas seluler (Eguchi, 2014; Kanel, 2017). Kematian sel hepar biasanya bersamaan dengan pecahnya membran plasma dan biasanya merupakan kerusakan akut (Lu, 2010).

Secara histologi, perubahan morfologi nekrosis ditandai dengan pembengkakan sel, pembentukan *blebbing* membran, dan akhirnya membran sel pecah dengan mengeluarkan isi seluler (Eguchi, 2014). Pada tahap awal sel hepar muncul dengan nukleus piknosis (penyusutan inti dan memadat), karioreksi (inti yang menyusut menjadi terfragmen), dan kemudian menjadi eosinofilik (kariolisis; sel terlihat pucat). Akhirnya hepatosit keluar dengan hancurnya kerangka reticulin lobulus (Fahmi, 2015; Kanel, 2017).

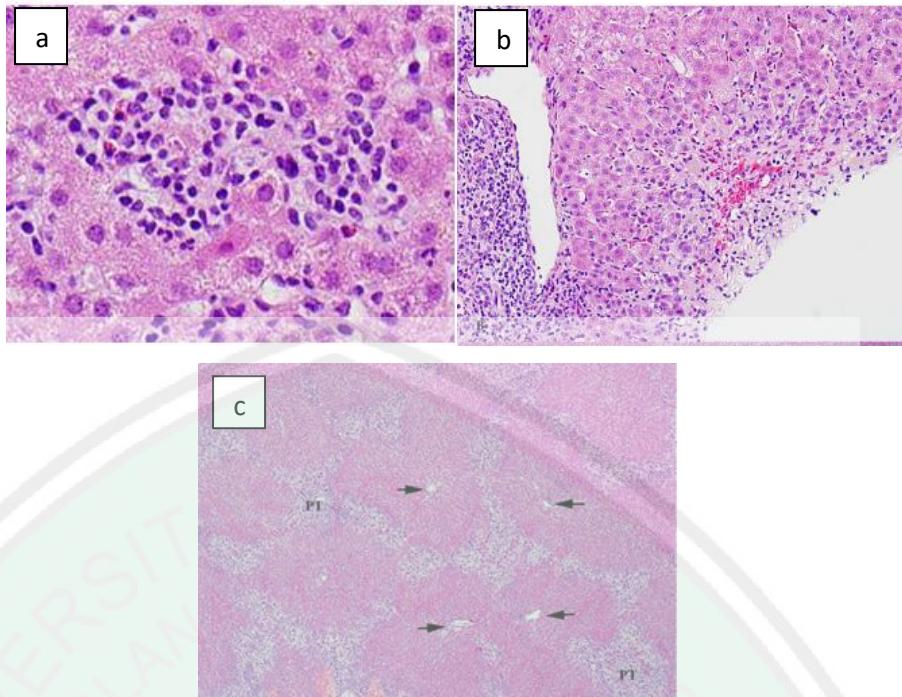
Nekrosis hepar memiliki pola distribusi zonal yang berbeda. Pada kebanyakan kasus daerah perivenular paling banyak terlibat. Sebagian besar hepatosit pada zona perivenular yang paling aktif dalam metabolisme obat. Namun, dalam kasus yang paling parah perivenular, zona tengah (midzone) dan kadang-kadang semua zona (panlobular) dapat terlibat nekrosis konfluen yang parah (Kanel, 2017).

Nekrosis memiliki beberapa pola diantaranya yaitu apoptosis, spotty dan fokal nekrosis, nekrosis zonal, dan nekrosis konfluen. Apoptosis secara fisiologis merupakan kematian sel yang terprogram, tetapi pada kondisi patologis prosesnya kurang terkontrol dan seringkali lebih cepat. Sel yang mengalami apoptosis biasanya disebut “badan acidopil” atau “badan councilman” (Krishna, 2017) (Gambar 2.8).



Gambar 2.8 Badan acidopil (Krishna, 2017)

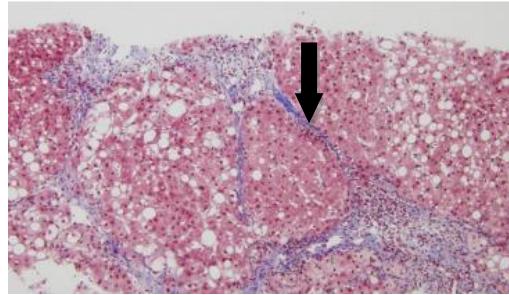
Nekrosis titik adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan nekrosis kluster hepatosit, biasanya berhubungan dengan limfosit. Nekrosis yang melibatkan kelompok hepatosit yang lebih besar dalam lobulus disebut nekrosis focal. Istilah ini menggambarkan cedera lobular dan sering digunakan untuk menggambarkan perubahan lobular pada hepatitis. Sementara itu, nekrosis zonal mengacu pada nekrosis yang melibatkan zona asinus tertentu, seperti nekrosis sentrilobular (zona asinus 3) akibat cedera iskemik atau terkait obat. Nekrosis konfluen menggambarkan nekrosis yang melibatkan beberapa lobulus. Cedera berat yang lebih umum menyebabkan nekrosis pada sebagian besar atau seluruh parenkim hepar, masing-masing disebut nekrosis hati submasif dan masif (Khrisna, 2017) (Gambar 2.9).



Gambar 2.9 Hepatosit nekrosis, a. Nekrosis spot, beberapa hepatosit yang berdekatan tidak ada dan digantikan oleh sel-sel inflamasi. b. Hepatitis yang diinduksi obat dengan peradangan portal. c. nekrosis hepar masif, keterlibatan tiga zona dan hanya sedikit hepatosit periportal yang tersisa. Panah menunjukkan vena central (Khrisna, 2017).

4. Fibrosis

Fibrosis merupakan proses perbaikan atau regenerasi sel setelah terjadi inflamasi atau cedera toksik. Pada jaringan yang tidak mampu melakukan regenerasi, perbaikan dilakukan melalui pengendapan matriks ekstra sel sehingga terbentuk jaringan parut (Mitchell, 2009). Secara histologi fibrosis ditandai dengan munculnya jaringan ikat yang mengganti jaringan yang cedera. Fibrosis menunjukkan deposisi kolagen dengan berbagai tingkat distorsi struktur (Gambar 2.10). Sumber kolagen dalam kondisi patologis diyakini berasal dari sel stellate. Setelah cedera hati kronis, sel-sel stellate hati diaktifkan dan diubah menjadi fenotip seperti myofibroblast untuk meletakkan matriks ekstraseluler (Lo, 2017).



Gambar 2.10 Septa fibrosis pada kasus sirosis (panah hitam) (pewarnaan Masson's trichrome) (Lo, 2017).

2.3.5 SGPT (Serum Glutamic Pyruvic Transaminase)

Aminotransferase (transaminase) merupakan indikator yang sensitif terhadap kerusakan sel hepar dan sangat membantu untuk mengetahui penyakit hepatoseluler akut seperti hepatitis (Longo dan Fauci, 2013). Salah satu jenis enzim transaminase adalah SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase) (Kakadiya, 2009). Enzim ini mengkatalis transfer gugus amino menjadi metabolit oksaloasetat dan menghasilkan produk konversi L-glutamat dan piruvat di hepar. Enzim tersebut perberan dalam proses glukoneogenesis dan terlibat dalam proses krisis siklus asam trikarboxilik (TCA), dalam proses tersebut diperlukan koenzim piridoksal fosfat (Liu, 2014).

Secara umum SGPT terutama terkonsentrasi di sitosol hepar karena proses glukoneogenesis terutama terjadi di hepar. Meskipun juga terdapat di ginjal, jantung dan otot rangka, namun kadar SGPT yang ditemukan dalam jumlah kecil (Kim, 2008; Kahar, 2017). Proses glukoneogenesis berfungsi untuk mempertahankan konsentrasi gula darah dan mencegah hipoglisemia (Hall, 2016). Enzim aminotransferase pada kondisi normal hadir dalam konsentrasi rendah di dalam serum. Cedera hepatosit menyebabkan enzim keluar dari sel sehingga kadarnya meningkat di dalam darah akibat peningkatan permeabilitas membran (longo dan Fauci, 2013; Kahar, 2017). Oleh karena itu SGPT memiliki spesifitas yang relatif tinggi terhadap kerusakan hepatosit (Woreta, 2014).

Enzim SGPT didalam serum normal adalah 7 – 56 IU/L, sedangkan pada mencit berkisar antara 17,5 – 30,2 IU/L (Gowda, 2009; Fauziyah, 2015). Rentang normal aminotransferase bervariasi antar laboratorium, namun, secara umum rentang yang digunakan berkisar 10 – 40 IU/L. SGPT yang dilepaskan dalam darah dikatabolisme oleh hepar menghasilkan plasma dengan paruh waktu 47 ± 10

jam. Ketika terjadi cedera hepatosit akut kadar enzim SGOT akan meningkat terlebih dahulu dibanding SGPT. Setelah itu, dalam 24 hingga 48 jam kadar enzim SGPT akan lebih tinggi dari SGOT, terutama jika kerusakan terjadi terus-menerus. Pada cedera hepatosit kronis SGPT lebih meningkat daripada SGOT, namun ketika terjadi fibrosis berlanjut kadar SGPT akan menurun dan SGOT meningkat (Kim, 2008).

2.4 Antioksidan

Antioksidan secara biologis merupakan senyawa yang dapat mencegah atau menunda oksidasi suatu produk (Sulaiman, 2013; Kumar, 2014; Sayuti, 2015). Sedangkan, secara kimia antioksidan adalah senyawa pendor elektron (Sayuti, 2015). Antioksidan merupakan reduktan yang mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi. Antioksidan mampu mengikat radikal bebas dan molekul yang reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah (Winarski, 2011).

Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan alami yang dapat mencegah radikal bebas. Namun, ketika kadar radikal bebas lebih tinggi daripada antioksidan tubuh maka akan terjadi stress oksidatif. Meskipun demikian, radikal bebas dapat dihambat dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru, menginaktivasi radikal bebas, dan memperbaiki kerusakan akibat radikal bebas (Winarski, 2011).

Berdasarkan fungsinya antioksidan dibagi menjadi primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas baru dan pemutus rantai reaksi radikal bebas. Antioksidan sekunder bekerja sebagai prooksidan, menangkap radikal, dan mencegah reaksi berantai. Sedangkan, antioksidan tersier berfungsi memperbaiki kerusakan biomolekul akibat radikal bebas (Sayuti, 2015).

Antioksidan dapat berupa antioksidan enzimatis dan antioksidan non enzimatis. Antioksidan enzimatis seperti SOD, katalase, dan glutation peroksidase merupakan pertahanan primer terhadap radikal bebas. Sedangkan antioksidan non enzimatis seperti vitamin (vitamin C, E, A, β karoten) dan senyawa lainnya (flavonoid, albumin, bilirubin). Antioksidan tersebut dapat diperoleh dari asupan makanan, buah, dan tumbuhan lainnya. Antioksidan ini juga memiliki peran

penting dalam mencegah dan menangkap radikal bebas, ketika antioksidan di dalam tubuh tidak dapat mengimbangi kadar radikal bebas (Winarsi, 2011).

2.5 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dikulit orbital terluarnya. Elektron yang tidak berpasangan tersebut membuatnya tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif. Reaktifitas yang tinggi menyebabkan radikal bebas dapat berpasangan dengan elektron senyawa lain untuk mencapai kestabilan. Akibatnya, senyawa yang kehilangan elektronnya menjadi radikal terhadap dirinya sendiri, sehingga mengaktifkan reaksi *cascade* yang berakibat pada kerusakan sel hidup (Lobo, 2010; Phaniendra, 2015).

Radikal bebas dan ROS dapat berasal dari proses metabolisme normal tubuh manusia atau dari luar tubuh. Sumber eksternal seperti paparan sinar X, merokok, polutan udara, dan berbagai bahan kimia dapat menjadi radikal bagi tubuh. Dalam jumlah tertentu keberadaan radikal bebas juga dibutuhkan untuk melawan radang, bakteri, dan mengatur tonus otot polos dalam pembuluh darah (Sayuti, 2015). Tetapi, dalam jumlah berlebih radikal bebas menyerang makromolekul penting yang menyebabkan kerusakan sel dan gangguan homeostatis. Sasaran radikal bebas meliputi semua jenis molekul dalam tubuh. Di antara mereka, lipid, asam nukleat, dan protein adalah target utama (Lobo, 2010).

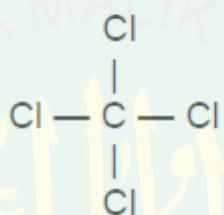
Radikal bebas menyebabkan kerusakan pada sel dengan cara peroksidasi lipid, merusak DNA, dan memodifikasi protein teroksidasi. Peroksidasi lipid pada membran sel menyebabkan reduksi asam lemak sehingga membran dan organel sel rusak. Sedangkan itu, perusakan DNA oleh radikal bebas menyebabkan mutasi DNA dan kematian sel (Sayuti, 2015).

Reaksi radikal bebas terdiri dari tiga tahapan yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi radikal bebas yang terbentuk menyerang lipid sehingga membentuk radikal lipid. Radikal lipid tersebut berikatan dengan molekul oksigen sehingga terbentuk radikal lipid peroksi dan mengambil atom H lipid yang lain. Pada tahap propagasi terjadi pemanjangan reaksi radikal sehingga jumlah radikal bebas yang terbentuk semakin banyak. Pada tahap terminasi radikal bebas diredam menjadi tidak reaktif atau stabil (Yuslanti, 2018).

2.6 Karbon Tetraklorida (CCl_4)

2.6.1 Deskripsi

Karbon tetraklorida (CCl_4) merupakan senyawa hidrokarbon alifatik yang berbentuk cairan tidak berwarna dan berbau manis yang termasuk sinonim dengan tetraklorometana dan perklorometana (Rhodes, 2000; EPA, 2010). Struktur senyawa ini terdiri dari 1 atom karbon (C) dan berikatan dengan 4 atom Cl (Gambar 2.11). Di Amerika pembuatan CCl_4 dilakukan dengan mengklorinasi metana atau reaksi pembelahan berklorinasi dengan kurang dari atau sama dengan hidrokarbon C_3 atau hidrokarbon terklorinasi. Sebelum akhir 1950-an, CCl_4 diproduksi terutama dengan klorinasi karbon disulfida (EPA, 2010).



Gambar 2.11. Struktur CCl_4 (EPA, 2010).

CCl_4 bukan suatu senyawa yang murni berasal dari alam, namun diproduksi untuk keperluan industri (EPA, 2010). Senyawa ini terutama digunakan dalam produksi pendingin kloro fluoro karbon (CFC), zat peniup busa dan pelarut. Selain itu, juga digunakan dalam industri pembuatan cat, tinta, plastik, semi konduktor dan aditif bensin, dan pelarut dan pembersih logam (WHO, 2004). CCl_4 juga digunakan dalam bidang agrikultur sebagai pestisida dan fumigan (Rhodes, 2000).

Sejak pertengahan tahun 1970-an produksi dan penggunaan CCl_4 menurun, karena adanya larangan dari Komisi Keamanan Produk Konsumen. Senyawa CCl_4 memiliki kontribusi yang serius terhadap polusi lingkungan dan menyebakan kerusakan ozon. Selain itu, senyawa ini bersifat toksik tinggi dan dapat menyebabkan kanker (Rhodes, 2000; Maulina, 2018). Sejak saat itu penggunaan CCl_4 dilarang dan sekarang digunakan untuk keperluan pengetahuan (Maulina, 2018).

Paparan CCl_4 cepat diserap dengan rute apapun pada manusia dan hewan. CCl_4 masuk ke dalam tubuh dengan beberapa cara yaitu melalui inhalasi, kontak langsung dengan kulit, dan pemberian dengan cara parenteral (Maulina, 2018). Setelah diserap, senyawa tersebut didistribusikan secara luas di antara jaringan, terutama yang dengan kadar lipid tinggi, mencapai konsentrasi puncak dalam <1-6 jam, tergantung pada konsentrasi atau dosis paparan. Senyawa itu, kemudian dimetabolisme oleh hati, paru-paru, dan jaringan lain untuk diekresi (EPA, 2010).

2.6.2 Metabolisme CCl_4

CCl_4 dimetabolisme oleh tubuh di organ hepar dan akan dikatalis oleh enzim CYP450 yang berada di RE. Senyawa tersebut akan dirubah dari CCl_4 menjadi radikal intermediet CCl_3^- (triklorometil) yaitu metabolit reaktif. CCl_3^- terbentuk dari reduksi satu elektron dan pemecahan homolitik CCl_4 . Radikal tersebut akan berikatan dengan protein dan lipid sehingga terjadi peroksidasi lipid. Keadaan tersebut memicu kerentanan terhadap membran mitokondria dan RE (Li, 2014; Maulina, 2018).

Radikal CCl_3^- menyebabkan gangguan pada mitokondria sehingga respirasi sel tidak berjalan dengan baik. Respirasi sel berkaitan dengan proses pembentukan energi, akibatnya sel mengalami kekurangan energi. Suplai energi yang diperoleh dari respirasi digunakan untuk memelihara fungsi dan struktur sel. Radikal bebas menyebabkan penurunan energi di bawah ambang batas yang diperlukan untuk mempertahankan integritas sel (Eguchi, 2014; maulina, 2018).

CCl_3^- selanjutnya bereaksi dengan oksigen molekuler (O_2) membentuk radikal bebas CCl_3O_2^* . Radikal tersebut lebih reaktif daripada induknya dan lebih cepat dalam menyerang lipid terutama PUFA. CCl_3O_2^* menyebabkan peroksidasi lipid sehingga keseimbangan ion kalsium terganggu yang mengakibatkan terganggunya integritas membran dan berakhir dengan kematian sel (Boll, 2001). Radikal bebas turunan CCl_4 menyebabkan kerusakan membran sel dan melepaskan marker enzim penanda hepatotoksik (Lee, 2018).

Perubahan zat toksik seperti CCl_4 menjadi non-toksik dan dapat dikeluarkan oleh tubuh melalui 2 fase. Fase pertama yaitu oksidasi, substrat akan berikatan dengan enzim CYP450 dan kemudian bereaksi dengan NADPH melalui jalur transpor elektron. Proses tersebut juga mengaktivasi O_2 dan

memindahkannya ke substrat dan terbentuk substrat terhidrolasi. Pada fase dua, terjadi proses konjugasi sehingga metabolit lebih polar dan dapat larut dalam air. Dengan demikian toksikan dapat diekresikan dari tubuh melalui ginjal (Cline, 2015; Maulina, 2018).

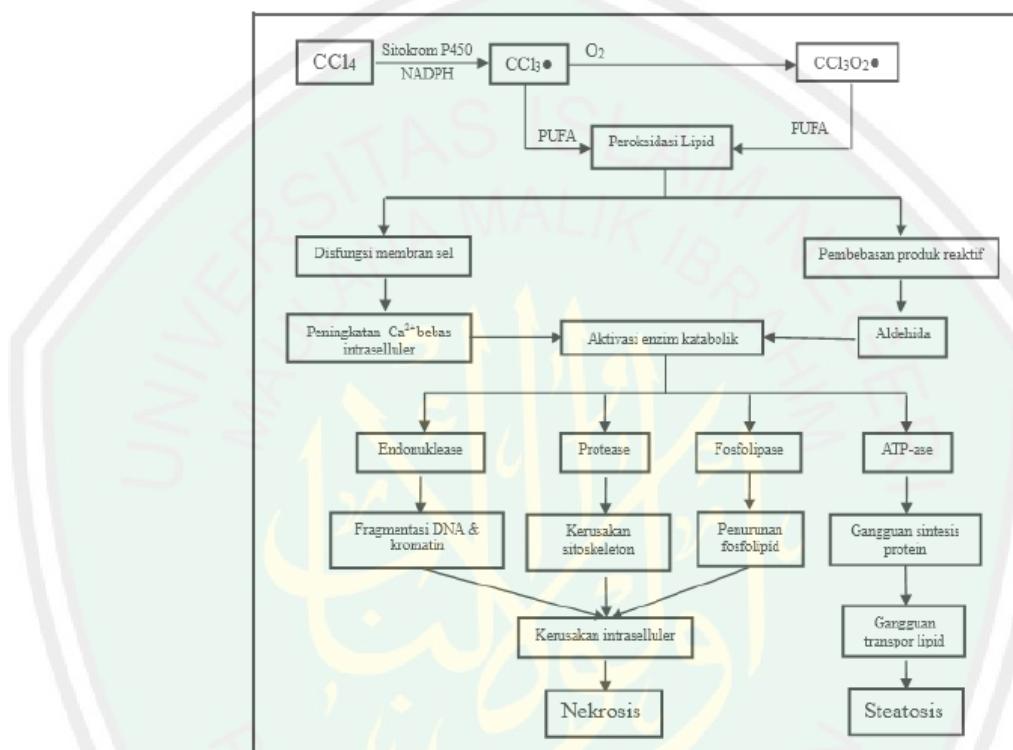
2.6.3 Efek CCl₄ Terhadap Histopatologi Hepar

CCl₄ diketahui memiliki efek hepatotoksik terhadap hepar. Senyawa ini sering digunakan untuk mengetahui efek hepatoprotektor suatu senyawa kimia pada tanaman (Mir, 2010). Kerusakan jaringan hepar akibat induksi CCl₄ secara histologi tampak berupa nekrosis sentrilobular, vakuolisasi hepatosit dan sel menggelembung, deposisi lipid pada heaptosit, degenerasi, kongesti dan dilatasi sinusoid, dan infiltrasi sel inflamasi (Li, 2014; Lee, 2018). Efek toksis CCl₄ sering terlihat di hepar dengan onset yang cepat setelah mencapai konsentrasi yang tinggi, yaitu ≤ 30 menit. Pada waktu sekian dapat terjadi penurunan sintesis protein di hepar dan dalam waktu 2 jam terjadi pembengkakan RE (Maulina, 2018).

Tingkat toksitas CCl₄ tergantung dari banyaknya dosis dan lama waktu pemberian. Pemberian CCl₄ oral dosis tunggal menginduksi penambahan berat hepar, peningkatan level lipid, serum urea, aktivitas enzim hepar, dan bukti kerusakan histologi yang jelas dengan nekrosis sel tunggal. Sedangkan pada pajanan oral jangka panjang menyebabkan penanda hepatotoksitas dengan adanya fibrosis, proliferasi bill duktus, sirosis, dan bahkan kanker hepatoseluler (HCC) (Scholten, 2015).

Toksitas CCl₄ memiliki tiga atau 4 fase yang berbeda. Fase pertama, dua atau tiga minggu terutama dicirikan dengan nekrosis, diindikasi dari kenaikan aktivitas enzim spesifik hepar dan penurunan kadar pseudokolinesterase. Selama minggu berikutnya setelah 2 atau 3 minggu, terjadi akumulasi lemak secara masal dan kadar TG dan AST meningkat di serum, sementara itu terjadi penurunan fungsi hepar. Selanjutnya pada fase 3, terjadi peningkatan AST secara terus menerus, kadar hidroksiprolin dan TG tinggi, dan hampir semua fungsi hepar menurun. Pada fase akhir, kadar pseudokolinesterase menurun, dan terdapat atropi hepar (Scholten, 2015).

CCl_4 menyebabkan ganggungan pada mitokondria dan RE. Organel tersebut mengalami kekurangan ion kalsium sedangkan sitoplasma mengalami peningkatan kalsium. Peningkatan kalsium di sitoplasma menyebabkan aktivasi enzim metabolismik ATPase. Enzim tersebut menurunkan produksi ATP sehingga sintesis protein terganggu. Sintesis protein yang terganggu menghambat produksi lipoprotein sehingga transpor lipid terganggu dan terjadi steatosis (Maulina, 2018) (Gambar 2.12).



Gambar 2.12 Mekanisme kerusakan sel (Maulina, 2018).

Kekurangan ATP menyebabkan sel melakukan respirasi anaerob untuk menghasilkan ATP, sehingga menyebabkan penumpukan asam laktat. Asam laktat menyebabkan penurunan pH sehingga ribosom dan RE dapat terlepas dan meningkatkan degradasi sel. Peningkatan kalsium yang tinggi di dalam sel mengaktifkan enzim metabolismik yaitu protease, fosfolipase, dan endonuklease. Enzim protease menyebabkan rusaknya protein membran dan sitoskeleton sehingga sel dapat terlepas dari kerangka sel. Fosfolipase menurunkan fosfolipid membran dan enzim endonuklease menyebabkan fragmentasi DNA dan kromatin. Aktivitas enzim – enzim tersebut menyebabkan nekrosis sel (Maulina, 2018) (Gambar 2.12).

2.7 Asam Mefenamat

Asam mefenamat merupakan obat yang digunakan sebagai analgesik, antipiretik, dan anti inflamasi. Obat tersebut digunakan untuk meredakan nyeri ringan hingga sedang (Pujiwati, 2015). Asam mefenamat adalah obat NSAID (Obat Antiinflamasi Non-steroid) yang telah lama digunakan sebagai analgesik COX inflamasi dan menghilangkan rasa sakit dan peradangan seperti rheumatoid arthritis, sakit gigi, asam urat dan nyeri otot perifer (Puspaningtyas, 2017).

Asam mefenamat adalah asam organik lemah. Secara khusus, ini terstruktur sebagai asam antranilat N- (2,3-xylyl) dan bukan merupakan molekul yang sangat rumit (Cimolai, 2013). Rumus empiris asam mefenamat adalah C₁₅H₁₅NO₂, dan berat rumusnya dihitung menjadi 241.285. Menurut USP 26 dan Farmakope Indonesia, asam mefenamat ditentukan mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% dari C₁₅H₁₅NO₂, dihitung berdasarkan kering. Zat ini harus disimpan dalam wadah yang rapat dan kedap cahaya. British Pharmacopoeia 2002, European Pharmacopoeia dan Indian Pharmacopoeia menjelaskan bahwa asam mefenamat mengandung tidak kurang dari 99,0%, dan tidak lebih dari setara dengan 100,5% asam N-2,3-xylylanthranilic, dihitung dengan mengacu pada bahan kering (Poerwono, 2005).

Apabila sel mengalami kerusakan maka prostaglandin akan dilepas. Asam mefenamat dapat menghambat enzim COX sehingga enzim tersebut tidak dapat mengubah asam arakidonat menghasilkan mediator inflamasi prostaglandin (Fajriani, 2008). Asam mefenamat umumnya dapat menghambat dan melepaskan fosforilasi oksidatif. Obat ini juga dapat menghambat enzim CYP1A2 pada hepar, selektif menghambat beberapa saluran Ca²⁺, dan dapat menyebabkan apoptosis sel kanker hepar. Efek buruk penggunaan obat tersebut jarang berpengaruh pada fungsi hepar, namun toksisitas pada hepar dapat dilihat bergantung pada dosis yang digunakan (Cimolai, 2013).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian berjudul, “Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Terhadap Kadar Enzim SGPT dan Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi CCl₄” merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari 6 kelompok perlakuan dengan masing - masing 4 ulangan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- a. Variable bebas (*independen variabel*) yaitu ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) dengan dosis yang berbeda
- b. Variable terikat (*dependent variabel*) yaitu kadar enzim SGPT dan gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*)
- c. Variabel kontrol (*control variable*) yaitu jenis mencit, umur mencit, pakan mencit, dan lama induksi CCl₄

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September – Desember 2019 di Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Hewan Coba, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 25-30 gram. Sampel diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Jl. Soekarno Hatta Malang. Adapun perhitungan jumlah sampel menggunakan rumus federer yaitu, $(t-1)(n-1) \geq 15$ (Hanafiah, 2015). (t) adalah jumlah kelompok perlakuan dan (n) adalah jumlah sampel perkelompok perlakuan. Berdasarkan rumus di atas maka diperoleh perhitungan sebagai berikut:

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

$$(6 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$6n - 6 - 1n + 1 \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 5$$

$$n \geq 20/ 5$$

$$n \geq 4$$

Jumlah kelompok sampel ada 6 kelompok dan masing – masing kelompok terdiri dari 4 ulangan, jadi total keseluruhan sampel mencit yang digunakan sebanyak 24 ekor.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi *handglove*, masker, kandang bak plastik, tempat pakan dan minum, neraca, spuit Onemed 1 ml, sonde lambung, toples untuk ekstraksi, gelas ukur, gelas beker, nampan plastic, alat dislokasi, seperangkat alat bedah, tabung vacutainer BD/SST 3.5 ml, mikrotube 1,5 ml, sentrifus, cawan petri, botol fiksasi, pinset, inkubator, oven parafin, kaset parafin, mikrotom, *water bath*, pipet tetes, objek *glass*, cover *glass*, mikroskop, spektrofotometer (Pentra C200), mikropipet, tip kuning.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi hewan coba mencit (*Mus musculus*) strain *Balb/C*, pakan mencit BR1, air mineral (minum mencit), *alcohol swab*, karbon tetraklorida (CCl_4) (Merck), minyak jagung (Mazola), simplisia daun kesambi (*Schleichera oleosa*) (diperoleh dari Laboratorium KWU Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang), metanol 96% (Merck), aquades, NaCl fisiologis, reagen uji enzim SGPT (ABX Pentra), serum darah, organ hepar mencit, bahan pembuatan preparat jaringan (formalin 10%, alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, xylol, parafin), bahan pewarnaan HE (xylol, alkohol bertingkat 100%, 96%, 80%, 70%, hematoxylin, eosin), tissu, perekat (kutek bening), kertas label, plastik, minyak imersi.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum dilakukan penelitian 24 ekor hewan coba yang digunakan terlebih dahulu diaklimatisasi di dalam laboratorium. Aklimatisasi mencit selama kurang lebih tujuh hari atau hingga kondisinya stabil yaitu tidak mengalami penurunan

berat badan, rambutnya putih bersih tidak kasar, tidak ada perubahan respirasi, dan tidak menunjukkan perilaku yang tidak biasanya (Scholten, 2015). Selama proses aklimatisasi mencit diletakkan dalam kandang berisi serbuk kayu dan diberikan pakan dan minum secara *ad libitum*.

3.6.2 Persiapan Perlakuan

3.6.2.1 Pembagian Kelompok Sampel

Penelitian ini terdapat 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ulangan. Pembagian kelompok perlakuan sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol normal (N) : mencit yang tidak dinduksi CCl_4 dan tidak diberi perlakuan ekstrak daun kesambi
2. Kelompok kontrol positif (K+) : mencit yang diinduksi CCl_4 dan diberi perlakuan asam mefenamat
3. Kelompok kontrol negatif (K-) : mencit yang diinduksi CCl_4 dan tidak diberi perlakuan ekstrak daun kesambi
4. Kelompok perlakuan I (P1) : mencit yang diinduksi CCl_4 dan diberi perlakuan ekstrak daun kesambi dosis 400 mg/kg BB
5. Kelompok perlakuan II (P2) : mencit yang diinduksi CCl_4 dan diberi perlakuan ekstrak daun kesambi dosis 500 mg/kg BB
6. Kelompok perlakuan III (P3) : mencit yang diinduksi CCl_4 dan diberi perlakuan ekstrak daun kesambi dosis 600 mg/kg BB

3.6.2.2 Perhitungan Dosis Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*)

Perhitungan dosis ekstrak metanol kesambi berdasarkan pada penelitian Santha (2017) dan Khan (2017). Dosis yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 400, 500, dan 600 mg/kg BB. Dosis tersebut dikonversi ke berat badan mencit dengan berat 25 – 30 gram. Menurut Harnita (2008) faktor konversi tikus wistar (200 gram) ke mencit (20 gram) yaitu 0,14. Maka, didapatkan perhitungan untuk dosis 400 mg/kg BB sebagai berikut:

$$\text{Dosis acuan} = 400 \text{ mg/kg BB}$$

$$\text{Dosis untuk 200 gram tikus} = 200 \times 400 \text{ mg/1000 gr} = 80 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis untuk 20 gram mencit} = 80 \times \text{fk}$$

$$= 80 \times 0,14$$

$$= 11,2 \text{ mg}$$

Dosis untuk 25 gram mencit = berat rerata/ berat normal x dosis normal

$$= 25/20 \times 11,2 = 14 \text{ mg} = 0,014 \text{ gram}$$

Konsentrasi ekstrak metanol daun kesambi untuk tiap ekor mencit pada penelitian ini sebesar 0,014 gram. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor sehingga 1 kelompok memerlukan ekstrak sebanyak $0,014 \times 5 = 0,07$ gram. Jadi untuk memperoleh dosis yang setara dengan 400 mg/kg BB tikus, maka ekstrak sebanyak 0,07 gram dilarutkan dalam 2,5 ml CMC. Perhitungan untuk dosis 500 dan 600 gram/kg BB menyesuaikan dengan rumus di atas (Lampiran 1).

3.6.3 Kegiatan Penelitian

3.6.3.1 Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*)

Serbuk halus (simplisia) daun kesambi diekstrak dengan menggunakan metode maserasi. Simplisia daun kesambi ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca dan ditambahkan pelarut metanol 96% sebanyak 500 mL atau hingga terendam seluruhnya. Perendaman tersebut dilakukan selama 1×24 jam disertai dengan pengadukan, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Ampas hasil penyaringan yang pertama kemudian diremaserasi 1×24 jam, perendaman dihentikan ketika pelarut sudah berwarna bening. Hasil dari penyaringan tersebut, kemudian diuapkan di nampakan plastic hingga menghasilkan pasta ekstrak metanol daun kesambi. Selanjutnya, pasta ekstrak metanol daun kesambi disimpan dalam lemari pendingin (Jose, 2019, yang telah dimodifikasi).

3.6.3.2 Induksi CCl_4 pada Hewan Coba

Induksi CCl_4 pada mencit dilakukan setelah melalui proses aklimatisasi. Dosis CCl_4 yang diberikan sebanyak $0,5 \mu\text{L}/\text{gram BB}$ yang dilarutkan dalam minyak jagung dengan volume akhir ($\text{CCl}_4 + \text{minyak jagung}$) $50 \mu\text{L}$. $50 \mu\text{L}$ campuran CCl_4 dan minyak jagung diinjeksi menggunakan spuit steril ukuran 1 mL 21 G secara intraperitoneal (ip) (Scholten, 2015).

Mencit dipegang bagian ekornya dan dijepit pada bagian belakang leher (dekat telinga) dengan ibu jari dan jari telunjuk. Kemudian, tangan dibalik hingga mencit berada pada posisi terlentang di telapak tangan dan dijepit ekornya dengan jari kelingking. Pada perut bagian bawah dibersihkan dengan *alcohol swab*,

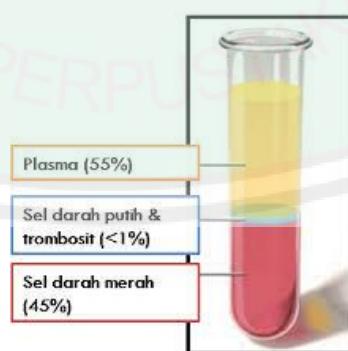
kemudian diinjeksi dengan posisi jarum yang tajam berada di bawah. Setelah 1 jam dan 24 jam sesudahnya dilakukan pemeriksaan ulang apakah ada perbedaan tingkah lakunya. Mencit diinduksi CCl_4 2 kali dalam seminggu selama 2 minggu (Scholten, 2015), kecuali mencit yang tidak mendapat perlakuan CCl_4 .

3.6.3.3 Pemberian Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*)

Pemberian ekstrak metanol daun kesambi pada mencit dilakukan setelah induksi CCl_4 selama 2 minggu. Ekstrak metanol daun kesambi diberikan setelah 3 hari dari induksi CCl_4 yang terakhir. Dosis ekstrak kesambi yang diberikan sesuai dengan kelompok perlakuan masing – masing. Pemberian ekstrak dilakukan 1 kali/ hari selama 12 hari menggunakan sonde lambung (*gavage*). Pemberian ekstrak dilakukan tepat 24 jam setelah pemberian pertama dan seterusnya.

3.6.3.4 Pengambilan Sampel Serum Darah

Hewan coba setelah didislokasi segera diambil darahnya pada bagian jantung (*cardiac puncture*) maksimal 1 menit atau sebelum jantung berhenti berdetak. Darah diambil menggunakan sputif 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam tabung vacutainer BD 3,5 ml. Setelah darah dari semua sampel telah terkumpul kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk serum (Gambar 3.1). Serum kemudian dipindahkan pada tabung eppendorf 1,5 ml yang masih bersih, jika tidak langsung dianalisis maka disimpan di lemari pendingin pada suhu -20°C atau suhu $2^{\circ}\text{C} - 8^{\circ}\text{C}$ selama maksimal 4 hari (Irnowati, 2005; Rahayu, 2018).



Gambar 3.1. Plasma Darah (Valentri, 2016)

3.6.3.5 Pengukuran Kadar Enzim SGPT

Pengukuran kadar enzim SGPT dilakukan pada setiap perlakuan dari kelompok kontrol normal, kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan. Serum darah diambil sebanyak 50 μL kemudian ditambahkan larutan pereaksi (reagen SGPT) sebanyak 500 μL lalu dihomogenkan dan dibiarkan selama 60 detik. Setelah itu, serum yang telah homogen diukur menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui absorbansinya (A) pada panjang gelombang 340 nm karena pada panjang gelombang tersebut yang paling sesuai (Woreta, 2014). Pengukuran diulangi untuk dicatat penurunan absorbansinya (ΔA) setiap 1 menit selama 3 menit. Selanjutnya, untuk mendapatkan kadar SGPT dalam satuan IU/L ΔA /menit dikalikan dengan faktor F (Harga faktor kali dari reagen) (Irnowati, 2005).

3.6.3.6 Pembuatan Preparat Histologi

Proses pembuatan preparat histologi hepar menggunakan metode parafin, berikut langkah pembuatan preparat histologi hepar (Hidaya, 2008, yang telah dimodifikasi) :

1. Mencit dinekropsi dengan cara dislokasi *cervical*, kemudian dibedah pada bagian linea alba (panah merah) untuk diambil organ hepar (Gambar 3.2). Cara pengambilan organya dengan dijepit pinset dan digunting dari jaringan ikatnya.



Gambar 3.2. Linea alba (Dokumentasi pribadi)

2. Organ hepar yang telah diambil dipotong dan dicuci menggunakan larutan NaCl fisiologis (0,9%)
3. Organ yang telah dicuci selanjutnya difiksasi dalam buffer formalin 10% selama 24 jam

4. Dilakukan dehidrasi terhadap organ yang telah difiksasi dengan alkohol bertingkat dari konsentrasi rendah ke tinggi (50%, 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut) masing-masing selama 1 jam
5. Organ selanjutnya direndam dalam xylol selama 30 menit untuk proses *clearing*. Proses tersebut tujuannya untuk menghilangkan sisa – sisa alkohol pada jaringan
6. Tahapan selanjutnya yaitu *infiltrasi*, pada tahap ini xylol diganti dengan parafin murni. Organ dimasukkan dalam xylol : parafin (1:1) selama 30 menit, kemudian dimasukkan parafin selama 50 menit. Proses infiltrasi dilakukan di dalam inkubator pada suhu 55- 60°C
7. Organ melalui proses *embedding* dengan cara diletakkan pada kaset parafin kemudian diberi parafin cair. Kaset parafin yang sudah terisi didiamkan hingga mengeras
8. Tahap pemotongan, kaset parafin yang sudah mengeras dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3 - 5 μ m. Pita – pita yang terbentuk diambil menggunakan kuas dan dimasukkan kedalam air hangat, kemudian diambil menggunakan obyek glass dan dipanaskan menggunakan *hotplate*
9. Selanjutnya, preparat direndam menggunakan alkohol bertingkat dari rendah ke tinggi (70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut) masing – masing 5 menit
10. Tahap *staining*, setelah direndam alkohol preparat diwarnai menggunakan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE). Preparat diberi pewarna hematoxylin selama 10 menit kemudian dibersihkan dengan aquades, selanjutnya diberi pewarna eosin selama 3 menit dan dibersihkan dengan aquades. Sebelum ditutup dengan cover glass dilakukan pengecekan warna terlebih dahulu menggunakan mikroskop. Apabila warna terlalu biru maka diberi HCl 1% dan jika terlalu merah diberi lithium karbonat 1%.
11. Preparat yang telah diwarnai HE ditutup menggunakan cover glass yang telah diberi kutek bening (perekat)

3.6.4 Pengambilan Data

3.6.4.1 Penentuan Kerusakan Hepar

Pengamatan untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol daun kesambi terhadap histopatologi hepar menggunakan metode skoring *Manja Roenigk*, adapun pemeriksaan histologi hepar sebagai berikut (Arifuddin, 2016):

1. Preparat jaringan hepar diamati menggunakan mikroskop komputer pada perbesaran 400 x dengan 5 lapang pandang
2. Dilakukan pengamatan terhadap sel hepar secara umum untuk menentukan sel normal dan yang mengalami kerusakan
3. Penentuan sel normal yaitu hepatosit tersusun radial, bentuk sel bulat (polihedral), memiliki batas yang jelas, memiliki satu inti ditengah atau dua (jarang ditemukan), inti menyerap warna dengan baik sehingga terlihat lebih gelap dari sitoplasma (Gambar 3.3)

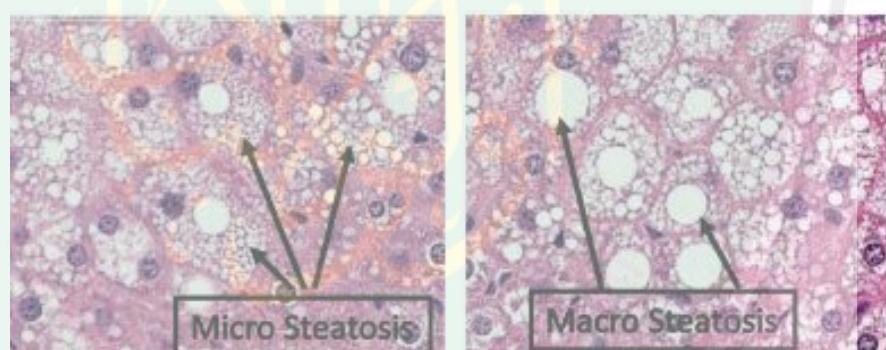
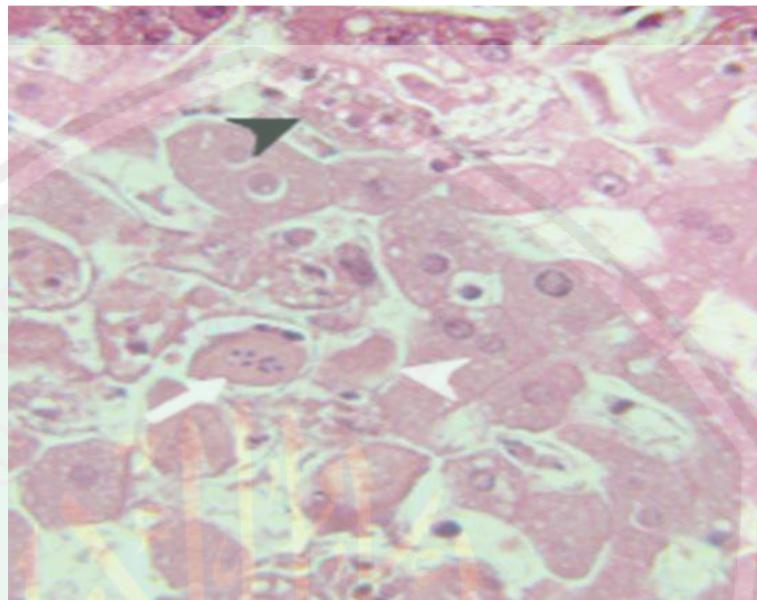


Gambar 3.3. Sel hepatosit normal (panah hitam) (Gunawan, 2008)

4. Sel yang mengalami kerusakan dilihat dari sitoplasma (warna, perlemakan makro dan mikro) dan inti sel nekrosis. Kriteria sel yang mengalami nekrosis adalah sebagai berikut piknosis (inti berukuran kecil, lebih padat dan berwarna gelap), karioreksis (inti sel hancur dan membentuk fragmen), dan kariolisis (inti tidak menyerap warna atau tampak pucat karena tidak nyata) (Putri, 2013; Fahmi, 2015)(Gambar 3.4)
5. Dilakukan penilaian dan perhitungan jumlah sel yang normal, sel yang degenerasi parenkimatosa (pembengkakan sel dan sitoplasma keruh), sel yang degenerasi hidropik (terdapat vakuola makro dan mikro pada sitoplasma), dan sel yang nekrosis (inti keriput, inti lebih padat

bewarna gelap, tidak berwarna (kariolisis), robek atau terfragmen) (Almunawati, 2017)

6. Masing-masing ulangan diamati dengan 5 lapang pandang, kemudian hasil perhitungan sel dikalikan dengan skor *Manja Roenigk* (Tabel 3.1) (Arifuddin, 2016)



Gambar. 3.4. Kerusakan hepatosit, perlemakan makro dan mikro, piknosis (kepala panah hitam), kariolisis (kepala panah putih), karioreksis (panah putih)(Maulina, 2018; Sethunath, 2018).

7. Hasil skoring tersebut kemudian dijumlahkan sehingga didapatkan skor dan persentase kerusakan sel hepar untuk satu ekor mencit Persentase kerusakan sel hepar diperoleh dari:

$$(\%) = \frac{\text{jumlah sel yang ditemukan}}{\text{jumlah total skoring perlakuan}} \times 100\%$$

$$\text{Nilai skor total} = N + 2 \text{ DP} + 3 \text{ DH} + 4 \text{ NK}$$

Tabel. 3.1 Kriteria penilaian gambaran histologi hepar (Arifuddin, 2016)

Tingkat Kerusakan	Skor
Normal	1
Degenerasi parenkimatosa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini berupa data kuantitatif hasil pemeriksaan kadar enzim SGPT dan skoring histologi hepar mencit kemudian dianalisis menggunakan *software SPSS* dan deskriptif. Selanjutnya, data dari semua kelompok sampel diuji normalitas dan homogenitas. Apabila data tersebut terdistribusi normal dan homogen ($\alpha = 0,05$), maka dianalisis menggunakan uji *one-way Anova*. Data yang tidak memenuhi syarat parametrik maka dianalisis menggunakan uji *Brown-Fosrythe*. Hasilnya jika F hitung < F tabel (5%) maka H_0 ditolak, H_a diterima. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan pada uji parametrik maka dilakukan uji lanjut yang sesuai (uji BNT, uji BNJ, uji duncan) sedangkan untuk data nonparametrik dilanjutkan uji *Games-Howell* dengan signifikansi 5%.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Terhadap Kadar Enzim SGPT Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl₄

Evaluasi pencegahan terhadap kerusakan hepar yang diinduksi CCl₄ telah digunakan untuk mengetahui kemampuan hepatoprotektif suatu tanaman. Senyawa tersebut merupakan hepatotoksikan yang akan dimetabolisme oleh enzim sitokrom P-450 menjadi metabolit radikal bebas yang lebih reaktif, seperti radikal triklorometil (CCl₃*) dan radikal triklorometil peroksi (CCl₃O₂) (Ismail, 2009). Kedua radikal tersebut dapat berikatan kovalen dengan protein atau lemak dari membran sel atau organel. Hal tersebut merusak membran plasma sel sehingga menyebabkan berbagai macam enzim yang berada di dalam sitoplasma sel keluar ke pembuluh darah (Mahmud, 2012; Wang, 2019).

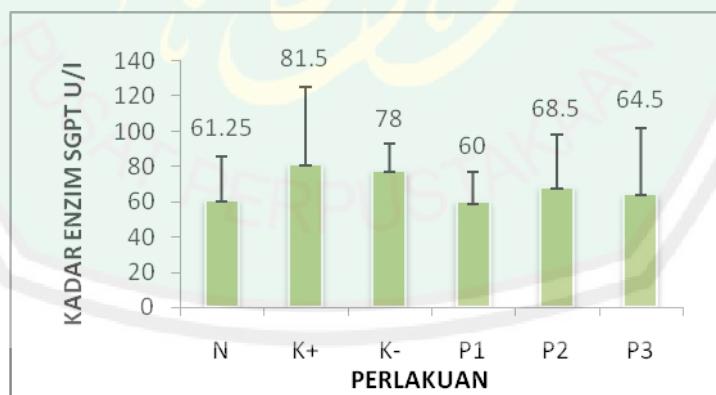
Salah satu enzim hepar yang dapat digunakan sebagai bioindikator terjadinya kerusakan hepar yaitu enzim SGPT (*serum glutamic pyruvic transaminase*). SGPT merupakan enzim yang berfungsi untuk mengkatalis transfer gugus amino L-alanin dengan α- ketoglutarat menghasilkan produk L-glutamat dan piruvat untuk proses siklus asam trikarboksilat (TCA). Enzim tersebut banyak terdapat di hepar dan berada di bagian sitoplasma. Dalam kondisi normal aktivitas SGPT lebih banyak terkonsentrasi di hepar daripada di serum darah. Namun, ketika terjadi cedera pada hepar SGPT akan keluar dari hepatosit sehingga kadarnya meningkat di dalam serum (Liu, 2014). Pengukuran kadar SGPT digunakan sebagai indikator terjadinya kerusakan hepar karena spesifitas yang relatif tinggi terhadap kerusakan hepar (Woreta, 2014).

Hasil penelitian tentang pengaruh ekstrak metanol kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap kadar enzim SGPT hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl₄, menunjukkan hasil yang beragam pada setiap kelompok perlakuan. Data yang diperoleh dijumlah kemudian dicari rata – ratanya dan dilakukan uji statistik menggunakan *Software SPSS*. Hasil rerata kadar enzim SGPT dapat dilihat pada tabel 4.1:

Tabel 4.1 Pengaruh Ekstrak Metanol Kesambi (*Schleichera oleosa*) Terhadap Kadar Enzim SGPT (U/l)

Perlakuan	Kadar SGPT (U/l) Pada Ulangan Ke...				Rerata ± SD
	1	2	3	4	
N (Normal)	98	51	49	47	61.25 ± 24.55
K+ (CCl ₄ + Asam mefenamat)	146	68	61	51	81.5 ± 43.56
K- (CCl ₄)	97	67	65	83	78 ± 15.01
P1 (CCl ₄ + 400mg/kg BB)	48	84	49	59	60 ± 16.75
P2 (CCl ₄ + 500mg/kg BB)	62	40	62	110	68.5 ± 29.54
P3 (CCl ₄ + 600mg/kg BB)	55	57	117	29	64.5 ± 37.25

Berdasarkan data pada tabel 4.1 dan gambar 4.1, nilai kadar SGPT diketahui bahwa pemberian CCl₄ dapat meningkatkan kadar enzim SGPT. Kadar enzim pada kelompok normal (N) yaitu 61,25 U/l. Kadar SGPT tersebut lebih rendah daripada kelompok kontrol positif (K+) 81,5 U/l, kontrol negatif (K-) 78 U/l, P2 68,5 U/l, dan P3 64,5 U/l. Namun, kadar enzim pada kelompok normal lebih tinggi daripada kelompok perlakuan P1 60 U/l. Menurut Kasarala (2016) nilai normal enzim SGPT yaitu \leq 65 U/l, namun hal tersebut bergantung pada populasi yang digunakan. Oleh karena itu, walaupun kelompok P1 kadarnya lebih rendah dari pada N tetapi keduanya masih dibawah nilai normal sebagaimana yang dikemukakan oleh Kasarala (2016).



Gambar 4.1 Rerata kadar enzim SGPT (U/l)

Hasil dari kelompok kontrol positif (K+) yang diberi perlakuan CCl₄ + asam mefenamat 500 mg/kg/hari, menunjukkan kadar SGPT yang paling tinggi daripada kelompok lainnya. Efek dari CCl₄ yaitu dapat menyebabkan stress oksidatif dan respon inflamasi (Dutta, 2018). Inflamasi secara fisiologis dapat

membersihkan sel nekrosis dan meregenerasi hepatosit, tetapi ketika inflamasi yang terjadi tidak diatur maka dapat menyebabkan kerusakan hepar yang lebih lanjut (Wang, 2019).

Produk samping dari metabolisme CCl₄ menginduksi reaksi peroksidasi berantai pada struktur yang kaya akan fosfolipid seperti membran sel. Permeabilitas membran berubah, homeostasis Ca²⁺ terganggu sistem antioksidan tidak seimbang sehingga sel mengalami pembengkakan. Respon inflamasi mengaktifkan ledakan respirasi neutrofil untuk menhasilkan radikal O bebas, hal tersebut memperparah stress oksidatif. Faktor pemicu tersebut selanjutnya mengaktifkan reseptor seperti protein kinase yang memicu pembukaan pori transisi permeabilitas mitokondria. Akibatnya, nekrosis pada hepatosit diaktifkan sehingga enzim pada hepar dapat keluar ke pembuluh darah (Lin, 2019).

Asam mefenamat merupakan obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) yang dapat menghambat inflamasi dengan menghambat sintesis prostaglandin (PG), sehingga kadar PG dapat menurun (Asif, 2014). Seharusnya, kelompok K+ dapat mengalami penurunan kadar enzim SGPT akibat induksi CCl₄, tetapi pada hasilnya lebih tinggi. Hal tersebut kemungkinan disebabkan dosis asam mefenamat yang diberikan terlalu tinggi sehingga menyebabkan toksitas. Berdasarkan penelitian Somchit (2004) pemberian asam mefenamat pada mencit dengan dosis 50 mg/kg/hari dan 100 mg/kg/hari selama 14 hari melalui injeksi intraperitoneal menyebabkan perubahan histologi hepar dan meningkatkan kadar SGPT secara signifikan dibandingkan dengan kontrol.

Kadar SGPT pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok K- tetapi masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok N (Gambar 4.1). Perbandingan antar kelompok P1 (400mg/kg bb), P2 (500mg/kg bb), dan P3 (600mg/kg bb) menunjukkan bahwa dosis yang efektif menurunkan kadar enzim SGPT yaitu P1 (400mg/kg bb). Hal tersebut dilihat dari rerata kelompok P1 paling rendah dan paling dekat dengan kontrol normal. Pada P2 dengan dosis 500 mg/kg bb menunjukkan kadar enzim SGPT lebih tinggi daripada P1 (60 U/l) yaitu 68,5 U/l, sedangkan P3 dengan dosis 600 mg/kg bb kadar SGPT lebih rendah yaitu 64,5 U/l. Kasarala (2016) menjelaskan nilai normal untuk hasil laboratorium didefinisikan sebagai 95% yang ditemukan

dari populasi, sehingga 2,5 % lainnya dapat berada di atas ataupun di bawah normal.

Data hasil rata –rata kadar enzim SGPT pada tabel 4.1 dilakukan uji asumsi yang terdiri dari uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan tes Kolmogorov-Smirnov dengan taraf signifikansi sebesar 5%. Data dikatakan normal apabila nilai hasil uji kolmogorov smirnov (p) lebih besar dari 0,05 ($p>0,05$) (Rojihah, 2015). Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data tersebut terdistribusi normal, karena nilai signifikansinya sebesar 1,089 ($p>0,05$) (Lampiran 2).

Data yang terdistribusi normal selanjutnya diuji homogenitas menggunakan uji Lavene dengan taraf signifikansi 5%. Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah data yang didapatkan sejenis (homogen) atau tidak (Rojihah, 2015). Berdasarkan uji Lavene menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,452 ($p>0,05$) (Lampiran 3), sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut homogen. Oleh karena data kadar enzim SGPT yang didapatkan normal dan homogen maka selanjutnya dilakukan analisis uji one-way ANOVA dengan taraf signifikansinya 5%.

Hasil uji one-way ANOVA diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,867 nilai (p) lebih besar dari 0,05 (Tabel 4.2). Dari hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa hipotesa 1 (H_1) ditolak dan hipotesa 0 (H_0) diterima. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol kesambi (*Schleichera oleosa*) secara signifikan tidak dapat menurunkan kadar enzim SGPT hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl₄.

Hasil tersebut dapat diduga karena beberapa faktor baik eksternal ataupun internal. Pada saat proses pengambilan sampel apabila tidak dilakukan dengan benar dapat menyebabkan serum menjadi lisis. Serum yang mengalami lisis dapat mempengaruhi hasil pengujian kadar enzim SGPT. Berdasarkan penelitian Kahar (2017) kadar enzim SGPT pada serum darah yang mendapat perlakuan hemolisis 100% mengalami kenaikan, walaupun tidak berbeda jauh dari batas normal. Serum darah yang mengalami lisis terbukti meningkatkan kadar enzim SGPT sehingga hasil tes menjadi tidak akurat.

Tabel 4.2 Hasil uji one-way ANOVA kadar enzim SGPT (U/l)

	JK	db	Rata-rata	F	Sig
Antar Kelompok	1595.208	5	319.042	0.363	0.867
Dalam Kelompok	15801.75		877.875		
Total	17396.96		23		

Selain itu, enzim SGPT hanya menggambarkan derajat kerusakan hepatosit. Enzim tersebut tidak menggambarkan tentang kemampuan sel untuk melakukan regenerasi. Menurut Panjaitan (2014) peningkatan kadar enzim SGPT di dalam darah disebabkan oleh kerusakan sel hepar. Tetapi, dalam kondisi normal sel memiliki kemampuan untuk memperbaiki diri, jika terjadi kerusakan tubuh akan mengantikannya dengan sel – sel yang baru. Hal tersebut tidak tergambar dari kadar enzim SGPT, bisa saja kadar enzim mengalami kenaikan di atas normal tetapi hepar dalam keadaan tidak sakit, karena sel yang rusak telah digantikan sel yang baru (Giannini, 2005; Bergekamen, 2006).

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di langit dan di bumi secara seimbang. Keseimbangan tersebut juga terdapat pada penciptaan manusia yang telah diatur mekanisme tubuhnya secara seimbang. Sebagaimana dijelaskan di dalam Al-Qur'an surah Al- Infithar (82) ayat 7 – 8:

اللَّهُمَّ خَلَقْتَ فَسْوَلْكَ فَعَدَلْكَ ۗ ۚ فِي أَيِّ صُورَةٍ مَا شَاءَ رَكَبْكَ ۗ

Artinya: " Yang telah menciptakanmu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuhmu) seimbang, dalam bentuk apa saja yang dikehendaki, dia menyusun tubuhmu "(Q.S. Al- Infithar (82): 7-8).

Kedua ayat di atas mengandung pernyataan bahwa Allah SWT telah menciptakan manusia dengan sebaik – baiknya. Kata "فسوك" yang artinya telah menyempurnakan dan "ركبك" artinya menyusun tubuhmu (As-Suyuthi, 2010), sedangkan kata "عدل" yang artinya seimbang (Shihab, 2002). Allah SWT menciptakan tubuh manusia dalam bentuk apa saja yang dikehendakiNya. Tubuh manusia tersusun dari berbagai organ yang telah disempurnakan sehingga dapat melaksanakan fungsinya dengan baik. Tidak hanya menyempurnakan tetapi Allah SWT juga menyeimbangkannya dengan serasi, sehingga mekanisme di dalam tubuh dapat mencapai homeostatis. Keseluruhan sistem tersebut apabila dapat diungkap oleh manusia maka dapat mendatangkan manfaat baginya.

4.2 Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi CCl₄

Hepar adalah organ utama yang aktif terlibat dalam proses metabolisme dan detoksifikasi obat – obatan dan xenobiotik (Chiang, 2014). Kemampuan hepar dalam mendetoksifikasi memungkinkan terjadinya akumulasi zat – zat asing dan senyawa toksik yang mengakibatkan kerusakan hepar (Hedayati, 2016). Kerusakan hepar dapat menyebabkan komplikasi organ yang lain, karena tidak ada organ yang mengkompensasi fungsi hepar di dalam tubuh (Chiang, 2014). Tanda – tanda penyakit hepar dapat dideteksi melalui pemeriksaan enzim transaminase yang dilepaskan hepar ke pembuluh darah. Pemeriksaan jaringan hepar yang menunjukkan perubahan histologi seperti inflamasi, degenerasi, nekrosis, dan lainnya juga dapat menjadi tanda penyakit hepar (Guicciardi, 2013).

Hasil penelitian pengaruh ekstrak metanol kesambi (*Schleichera oleosa*) terhadap histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl₄ menunjukkan hasil yang bebeda antar kelompok perlakuan. Data pengamatan histopatologi yang diperoleh berupa nilai dan rerata skoring tingkat kerusakan hepar dari masing – masing perlakuan (Lampiran 4). Adapun hasil persentase dan rerata dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil skoring kerusakan Hepatosit (%)

Perlakuan	Kerusakan Hepatosit (%)				Rerata ± SD
	N	DP	DH	NK	
N (Normal)	38.20	21.24	2.21	38.35	169.5 ± 16.60
K+ (CCl ₄ + Asam Mefenamat)	14.36	15.68	12.53	57.43	245.25 ± 25.50
K- (CCl ₄)	12.38	16.37	7.31	63.94	256.5 ± 18.21
P1 (CCl ₄ + 400 mg/kg bb)	23.29	24.63	1.83	50.24	205 ± 14.65
P2 (CCl ₄ + 500 mg/kg bb)	11.10	23.64	22.51	42.75	243.25 ± 51.56
P3 (CCl ₄ + 600 mg/kg bb)	12.66	23.01	19.14	45.19	239 ± 22.9

Keterangan: N= hepatosit normal, DP= degenerasi parenkimatosa, DH= degenerasi hidropik, NK= nekrosis

Data persentase skoring pada tabel 4.3, kelompok perlakuan N menunjukkan hasil persentase sel normal paling tinggi daripada kelompok lainnya. Hal tersebut berbeda dengan kelompok K- yang menunjukkan persentase nekrosis yang paling tinggi daripada kelompok lain. Pada kelompok K+ persentase sel normal meningkat dan persentase sel nekrosis menurun

dibandingkan kelompok K-. Sedangkan, pada perlakuan P1 dan P3 persentase sel normal mengalami peningkatan dibandingkan dengan K-. Pada P2 persentase sel normal lebih kecil daripada K- tetapi persentase sel yang mengalami nekrosis lebih rendah.

Berdasarkan data tabel 4.3 selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan *software SPSS*. Rerata nilai skoring histopatologi diuji normalitas menggunakan uji Kolmogorov – Smirnov dengan signifikansi 5%. Hasil uji tersebut menunjukkan data tersebut terdistribusi normal (Lampiran 5). Selanjutnya, dilakukan uji Robust dengan taraf signifikansi sebesar 5 %. Nilai signifikansi dari uji Robust sebesar 0.016, artinya hipotesa 1 (H1) diterima dan hipotesa 0 (H0) ditolak (Tabel 4.4)(Lampiran 6). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol kesambi (*S. oleosa*) dapat berpengaruh terhadap histopatologi hepar mencit yang diinduksi CCl₄. Kemudian, dilanjutkan uji Games-Howell untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan yang berpengaruh.

Tabel 4.4 Hasil uji robust skoring histopatologi hepar mencit

	Statistik ^a	db1	db2	Sig
Brown-Fosrythe	5.563	5	8.14	0.016

Hasil uji lanjut menggunakan uji Games-Howell menunjukkan bahwa kelompok N berbeda nyata dengan 3 kelompok perlakuan yang lain (K+, K-, dan P3). Perlakuan K+ berbeda nyata hanya dengan kontrol normal (N), sedangkan perlakuan K- berbeda nyata dengan N dan P1. Perlakuan P1 berbeda nyata dengan perlakuan K-, perlakuan P2 tidak berbeda nyata dengan semua kelompok perlakuan, dan perlakuan P3 hanya berbeda nyata dengan kontrol normal (N) (Tabel 4.5)(Lampiran 7).

Berdasarkan rerata nilai skoring histopatologi (Gambar 4.2) kelompok N memiliki nilai rerata yang paling rendah (169.5 ± 16.60) dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan. Hal tersebut terjadi karena persentase hepatosit yang normal pada kelompok N paling tinggi daripada kelompok yang lain. Namun, pada kelompok N juga terdapat sel yang mengalami nekrosis. Krishna (2017) menjelaskan bahwa pada kondisi fisiologis sel akan mengatur pergantian sel yang

tidak efektif atau pembaruan sel yang telah tua. Menurut Bergkamen (2006) apoptosis merupakan sifat umum organisme multiseluler untuk menghilangkan sel – sel yang tidak diinginkan dan berpotensi berbahaya. Proses ini dilakukan oleh protease spesifik, caspase, dan terjadi secara terprogram. Apoptosis dicirikan dengan perubahan tipe morfologi terutama disebabkan oleh aktivitas caspase, seperti penyusutan sel, kondensasi kromatin, dan disintegrasi sel menjadi tubuh apoptosis kecil (Bergkamen, 2006).

Tabel 4.5 Hasil uji lanjut Games-Howell skoring histopatologi hepar mencit

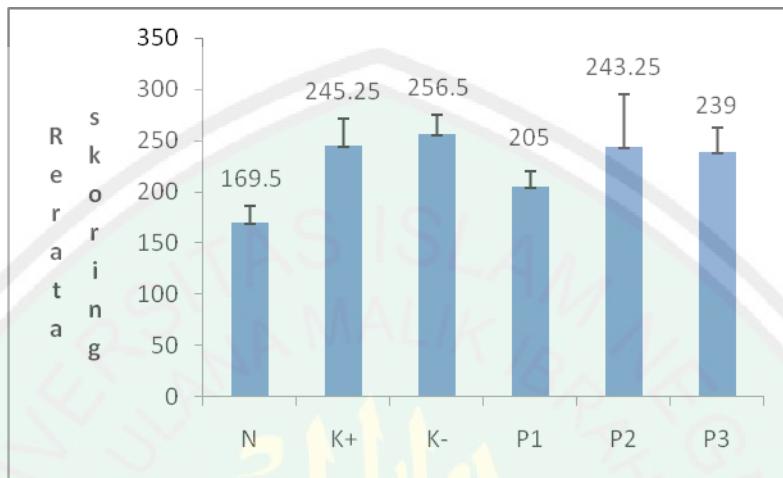
Kelompok Perlakuan	N	Rerata ±SD	Notasi
N (Normal)	4	169.5 ± 16.60	a
P1 (CCl ₄ + 400 mg/kg bb)	4	205 ± 14.65	ab
P3 (CCl ₄ + 600 mg/kg bb)	4	239 ± 22.99	bc
P2 (CCl ₄ + 500 mg/kg bb)	4	243.25± 51.56	abc
K+ (CCl ₄ + Asam Mefenamat)	4	245.25 ± 25.50	bc
K- (CCl ₄)	4	256.5 ± 18.21	c

Keterangan: Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan adanya notasi yang berbeda (uji games-howell α 5%)

Hasil rerata nilai skoring pada kelompok kontrol negatif (K-) menunjukkan nilai paling tinggi daripada kelompok perlakuan yang lain (gambar 4.2). Hal tersebut terjadi karena jumlah sel yang mengalami nekrosis akibat pemberian CCl₄ paling banyak daripada kelompok lainnya. Berdasarkan penelitian Dutta (2018) pemberian CCl₄ menyebabkan nekrosis hepatosit, proliferasi saluran empedu, dilatasi sinusoid, peradangan (infiltrasi leukosit), infiltrasi lemak, degenerasi vaskular, dan fibrosis. Metabolisme lipid terhambat oleh CCl₄ dan menyebabkan steatosis atau perlemakan hepar pada sitoplasma, kemudian dapat terjadi apoptosis. Kerusakan hepatoseluler ini diikuti oleh pelepasan pro-inflamasi kemokin dan sitokin (Dutta, 2018).

Berdasarkan rerata perlakuan kontrol positif (K+) menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan K-, namun lebih tinggi daripada kelompok lain (N, P1, P2, dan P3) (Gambar 4.2). Penurunan nilai rerata tersebut diduga karena asam mefenamat dapat mencegah terjadinya inflamasi yang disebabkan oleh CCl₄. Asam mefenamat merupakan obat anti inflamasi non steroid (NSAID) yang dapat menghambat inflamasi melalui penghambatan sintesis prostaglandin (Kamour,

2017; Wong, 2019). Namun, penggunaan obat asam mefenamat dengan jangka waktu dan dosis yang tidak tepat dapat menjadi toksik bagi tubuh. Berdasarkan penelitian Somchit (2004) pengamatan histologi hepar mencit yang diberi asam mefenamat dosis tunggal dan berulang menunjukkan kerusakan bergantung pada dosis yang diberikan.



Gambar 4.2 Rerata nilai skoring tingkat kerusakan histopatologi hepar

Kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan hasil bahwa ketiganya tidak berbeda nyata (Tabel 4.5). Berdasarkan rerata nilai skoring perlakuan P1 (205 ± 14.65) lebih kecil daripada P2 (243.25 ± 51.56) dan P3 (239 ± 22.99), namun nilai P2 lebih besar dari P3 (Gambar 4.2). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ketiga dosis memiliki kemampuan yang sama dalam memperbaiki hepatosit. Oleh karena itu, dosis ekstrak metanol kesambi yang lebih disarankan untuk digunakan yaitu 400 mg/kg BB.

Penentuan dosis yang digunakan dalam penelitian ataupun pengobatan sebaiknya diperhitungkan dengan baik. Pemberian dosis yang terlalu rendah bisa tidak memberikan pengaruh, namun jika terlalu tinggi dapat menjadi toksik. Allah SWT berfirman di dalam Al-Qur'an surah al-Qamar (54) ayat 49:

إِنَّ كُلَّ شَيْءٍ حَقَّةٌ بِعَدْرٍ ٤٩

Artinya:" Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran"

Kata "قدر" secara bahasa artinya adalah kadar atau ukuran, sedangkan menurut istilah yaitu segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT sesuai dengan kadar dan ukurannya masing – masing (Quthb, 2004). Ayat di atas berhubungan dengan pentingnya ukuran penggunaan dosis dalam penelitian.

Penggunaan dosis dengan kadar yang tepat diharapkan dapat memberikan manfaat, dalam hal ini dapat melindungi dan memperbaiki kerusakan hepatosit.

Gambaran histologi hepar pada masing – masing kelompok perlakuan menunjukkan hepatosit normal, degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik, dan nekrosis (Gambar 4.3). Perubahan histopatologi hepar dapat terjadi karena radikal bebas dari CCl₄ menyebabkan peroksidasi lipid. CCl₄ dirubah menjadi radikal triklorometil (CCl₃^{*}) dan triklorometil peroaksi (CCl₃O₂) yang akan berikatan dengan atom pada membran sel (PUFA). Hal tersebut menyebabkan keseimbangan ion Ca²⁺ terganggu, sehingga sel tidak dapat mempertahankan integritasnya sehingga terjadi kerusakan (Wang, 2019).

Radikal bebas tersebut menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel dan membran mitokondria. Radikal tersebut juga merusak integritas dan stabilitas struktur mitokondria sehingga mitokondria mengalami disfungsi. Setelah pori transisi permeabilitas mitokondria dibuka, mitokondria akan membengkak sehingga menghasilkan MMP rendah. Disfungsi mitokondria menyebabkan elektron pada fosforilasi oksidatif bocor dari rantai transpor elektron yang tidak berpasangan. Elektron ini direduksi menjadi molekul O untuk membentuk ROS (Dutta,2018; Lin, 2019). Tingkat ROS yang tinggi memicu peroksidasi lipid, menghabiskan penangkap radikal bebas, menghancurkan sistem antioksidan tubuh, dan menyebabkan tekanan oksidatif eksplosif dalam tubuh (Lin, 2019).

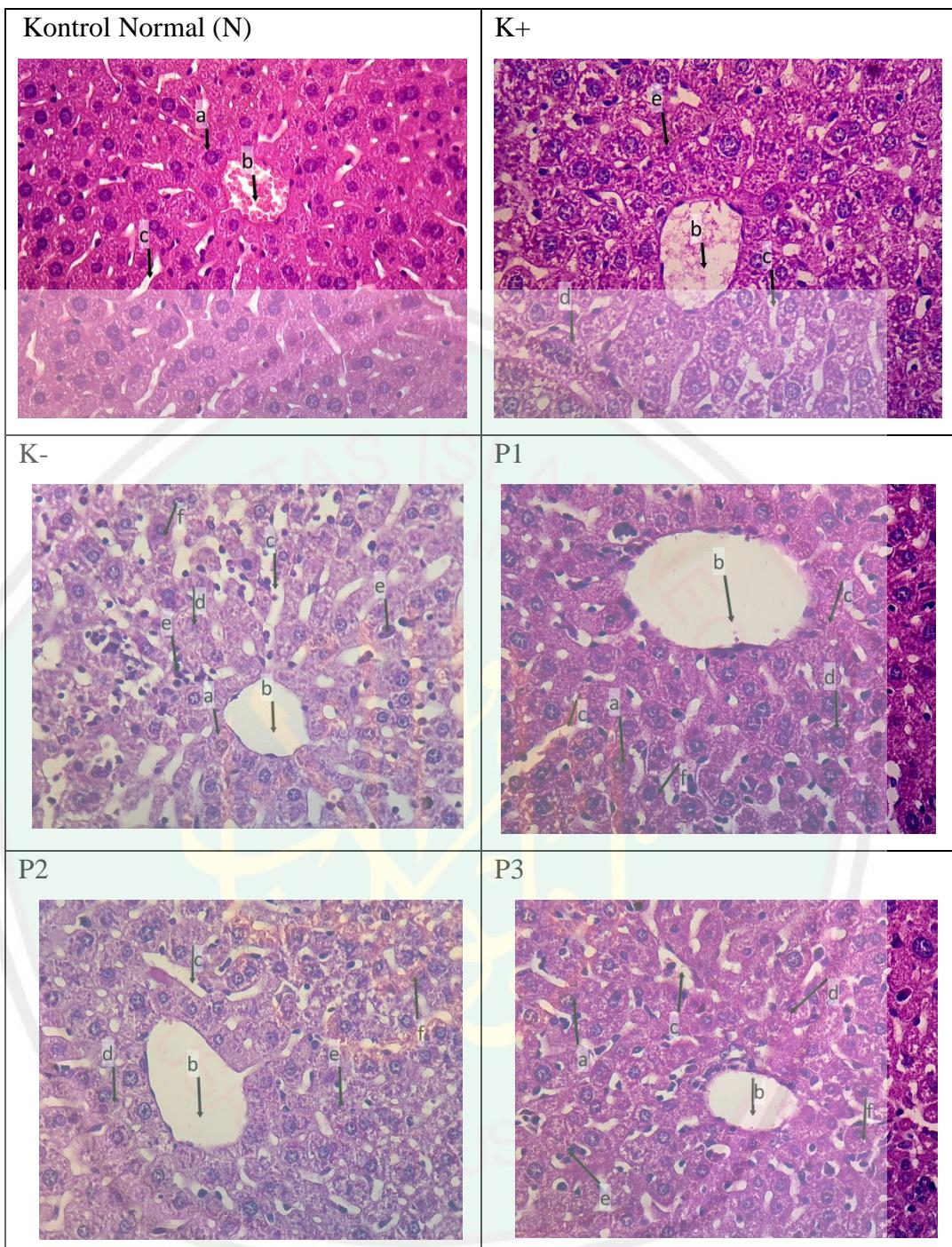
Hasil pengamatan histologi pada kelompok N terlihat hepatosit tersusun rapi mengelilingi vena sentral. Selain itu, sel yang mengalami degenerasi jumlahnya lebih sedikit dan tidak terjadi dilatasi sinusoid. Pengamatan histologi kelompok K+ banyak terdapat sel yang mengalami degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik, dan nekrosis (Gambar 4.3). Sinusoid lebih lebar jika dibandingkan dengan N, namun secara histologi lebih baik daripada K-. Gambaran histologi pada kelompok K- menunjukkan kerusakan jaringan hepar yang paling tinggi daripada kelompok lain. Jaringan hepar mengalami dilatasi sinusoid, banyak terdapat sel nekrosis, dan degenerasi hepatosit.

Pengamatan histologi pada kelompok P1, P2, dan P3 semuanya menunjukkan penurunan kerusakan hepar jika dibandingkan dengan K- (Gambar 4.3). Pada P1, P2, dan P3 terlihat ukuran sinusoid lebih kecil dibanding K-. Pada

P1 sel yang mengalami degenerasi mulai berkurang dan strukturnya hampir mendekati normal. Gambaran histologi P2 menunjukkan masih banyak sel hepar yang mengalami degenerasi dan strukturnya hampir mirip dengan K+. Pengamatan histologi pada P3 menunjukkan jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi mengalami penurunan dan strukturnya hampir mirip dengan P1.

Masing - masing kelompok perlakuan menunjukkan adanya nekrosis. Nekrosis merupakan kerusakan sel yang bersifat permanen sehingga tidak dapat diperbaiki. Nekrosis merupakan kematian sel yang tidak disengaja akibat efek dari hepatotoksik yang dapat diprediksi dan langsung dari obat atau racun (Eguchi, 2014). Selain itu, sel juga mengalami kerusakan yang bersifat sementara berupa degenerasi. Degenerasi yang terjadi berupa degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik.

Degenerasi parenkimatosa merupakan kerusakan hepar yang paling ringan. Degenerasi tersebut secara mikroskopis ditandai dengan pembengkakan sel disertai sitoplasma tampak keruh bergranula (Amiralevi, 2017). Sementara itu, degenerasi hidropik juga merupakan cedera hepatosit yang non letal dan bersifat reversible. Secara mikroskopis degenerasi hidropik ditandai dengan adanya vakuola – vakuola kecil yang berada di sitoplasma. Kedua degenerasi tersebut disebabkan kegagalan pompa $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPase akibat kekurangan ATP (Amiralevi, 2017).



Gambar 4.3 Pengamatan mikroskopik histopatologi hepar mencit (400 x), keterangan: (a) hepatosit normal, (b) vena sentral, (c) sinusoid, (d) degenerasi hidropik, (e) nekrosis, (f) degenerasi parenkimatosa.

Kerusakan pada sel hepar diikuti dengan pelepasan pro-inflamatori kemokin dan sitokin. Sel parenkim dan sel non parenkim hepar sama-sama dipengaruhi stress oksidatif. Mikrosome mitokondria dan peroksism dalam sel parenkim dapat menghasilkan ROS. Perubahan komposisi sel parenkim dan

matriks ekstra sel hepar karena stress oksidatif memicu sistem kekebalan tubuh. Sel – sel kekebalan tubuh dan inflamasi dikerahkan ke lokasi cedera, hal ini mengaktifkan sel – sel non parenkim seperti sel stellate dan sel kuffer. Peningkatan substansial dalam kadar sitokin dan kemokin dapat menyebabkan peradangan jangka panjang yang dapat mengarah pada kerusakan hepar kronis (Chen, 2017; Dutta, 2018).

Ekstrak daun kesambi diketahui memiliki kandungan fitokimia berupa steroid, triterpenoid dan flavonoid yang dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas. Flavonoid dapat menangkap ROS, mencegah regenerasi ROS, dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim seluler. flavonoid mencegah terbentuknya ROS dengan menghambat kerja enzim xantin oksidase dan NADPH oksidase, serta mengelat logam Fe^{2+} dan Cu^{2+} sehingga mencegah reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas (Hardiningtyas, 2014).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak metanol daun kesambi (*Schleichera oleosa*) tidak berpengaruh terhadap kadar enzim SGPT mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi CCl₄
2. Ekstrak metanol Daun kesambi (*Schleichera oleosa*) berpengaruh terhadap histopatologi hepar mencit yang diinduksi CCl₄. Dosis yang paling efektif memperbaiki kerusakan histologi yaitu dosis 400 mg/kg bb

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka beberapa saran yang dapat diambil yaitu:

1. Perlu dilakukan teknik pengambilan serum darah yang tepat agar tidak mengalami hemolisis sehingga hasil pengujian lebih akurat
2. Penelitian selanjutnya dapat menggunakan ekstrak kesambi (*Schleichera oleosa*) dengan pelarut dan bagian tumbuhan yang berbeda, serta penelitian ukuran dosis dan lama waktu pemberian ekstrak metanol kesambi yang tepat
3. Perlu dilakukan isolasi kandungan senyawa ekstrak metanol daun kesambi untuk mengetahui senyawa apa saja yang dapat berperan sebagai hepatoprotektor
4. Perlu ditinjau dosis asam mefenamat yang diberikan dan lamanya waktu pemberian juga perlu diperhatikan agar obat dapat berfungsi dengan baik dan tidak menjadi toksik bagi tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press
- Al- Jazairi, Syaikh Abu Bakar Jabir. 2008. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta: Darus Sunnah
- Almunawati, Hamdani Budiman, dan Dwinna Aliza. 2017. Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinjeksi Formalin. *JIMVET*. 1(3): 424- 431
- American Liver Foundation. 2016. *Progression of liver Disease*. Handout ALF
- Amiralevi, Siti Hani, Heru Fajar Trianto, Virhan Novianry, dan Mistika Zakiah. 2017. Efek Paparan Formaldehid Oral Akut pada Histologi Hati Tikus Wistar Jantan. *Jurnal Cerebellum*. 3(3): 874 – 887
- Anuragi, Jay Lal dan RP Mishra. 2017. Ethnomedicinal Study of *Schleichera oleosa* Among the Tribals of satna (M.P). *International Journal of Applied Research*. 3(3): 672 – 674
- Arifuddin, Aswiyanti Asri, dan Elmatri. 2016. Efek Pemberian Vitamin C Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar yang Terpapar Timbal Asetat. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(1): 215- 220
- Asif, M. 2014. Study of Anthranylic Acid Derivates: Mefenamic Acid and Its Various Analogues. *American Journal of Medicine Studies*. 2(1): 24-30
- Asif, Mohammad. 2014. Study of Anthranylic Acid Derivates: Mefenamic Acid and Its Various Analogues. *American Journal of Medicine Studies*. 2(1): 24-30
- Asrani, Sumeet K, Harshad Devarbhavi, John Eaton, dan Patrick S. Kamath. 2019. Burden of Liver Disease in The World. *Journal of Hepatology*. 70: 151 – 171
- As-Suyuthi, Al-Imam Jalaluddin Muhammad bin Ahmad bin Muhammad Al-Mahalli Al-Imam Jalaluddin Abdirrahman bin Abu Bakar. 2010. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka eLBA
- Banjarnahor, Sofna D.S dan Nina Artanti. 2014. Antioxidant Properties of Flavonoids. *Med Journal Indones*. 23(4): 239 – 244

- Bergkamen, Henning Schulze, Marcus Schuchmann, Binje Fleischer, dan Peter R. Galle.2006. The Role of Apoptosis Versus Oncotic Necrosis in Liver Injury: Facts or Faith. *Journal of Hepatology*. Vol 44: 984-993
- Bernal, William, M.D., dan Julia Wendon, M.B., Ch.B. 2013. Review Article: Acute Liver Failure. *The New England Journal of Medicine*. 369: 2525-2534
- Bhatia, Harsh, Jaspreet Kaur, Shreya nandi, Vinita Gurnani, Anushua Chowdhury, P. Hemalatha Reddy, Amit Vashishtha, dan Brijesh Rathi. 2013. A review on *Schleichera oleosa*: Pharmacological and Environmental Aspectus. *Journal of Pharmacy Research*. 6(2013): 224 – 229
- Boll, Meinrad, Lutz W.D. Weber, Eberhard Becker dan Andreas Stampfl. 2001. Mechanism of Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity, Hepatocellular Damage by Reactive Carbon Tetrachloride Metabolites. *Z. Naturforsch.* 56: 649 – 659
- Cardoso, Filipe S, Paulo Marcelino, Luis Bagulho, dan Constantine J. Karvellas. 2017. Acute Liver Failure: An up-to-date approach. *Journal of Critical Care*. 39: 25-30
- Chen, Linlin, Huidan Deng, Hengmin Cui, Jing Fang, Zhicai Zuo, Junliang Deng, Yinglun Li, Xun Wang, dan Ling Zhao. 2018. Inflammatory Responses and Inflammation – Associated Disease in Organ. *Oncotarget*. 9(6): 7204 – 7218
- Chiang, J. 2014. Liver Physiology: Metabolism and Detoxification. *Pharmacobiology of Human Disease*. 1770 – 1782
- Cimolai, Nevio. 2013. The Potential and Promise of Mefenamic Acid. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 6(3): 289 – 305
- Cline, Jhon C. 2015. Review Article: Nutritional Aspects of Detoxification in Clinical Practice. *Alternative Therapies*. 21(3): 54-62
- Del prete, Anna, Antonella Scalera, Maddalena Diana Iadevaia, Agnese Miranda, Claudio Zulli, Laura Gaeta, dan Carmelina Loguercio. 2012. Review Article: Herbal Product: Benefits, Limits, and Application in Chronic Liver Disease. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol 2012: 1-19

- Dixon, Laura J., Mark Barnes, Hui Tang, Michele T. Pritchard, dan Laura E. Nagy. 2013. Kupffer Cells in The Liver. *Compr Physiol.* 3(2): 785 – 797
- Dutta, Somit, Arnab Kumar Chakraborty, Priyankar Dey, Pallab kar, Pokhraj Guha, Subhajit Sen, Anoop Kumar, Arnab Sen, dan Tapas Kumar Chaudhuri. 2018. Amelioration of CCl₄ Induced Liver Injury in Swiss Albino Mice by Antioxidant Rich Leaf Extract of *Croton bonplandianus* Baill. *PlosONE.* 13(4): 1-30
- Eguchi, Akika, Alexander Wree, dan Ariel E. Feldstein. 2014. Biomarkers of Liver Cell Death. *Journal of Hepatology.* 60: 1063 - 1074
- EPA. 2010. *Toxicological Review of Carbon Tetrachloride.* Washington DC U.S. Environmental Protection Agency.
- Eroschenko, Victor P. 2008. *Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins
- Fahmi, Mulya, Yudha Fahrimal, Dwinna Aliza, Hamdani Budiman, Siti Aisyah, dan Muhammad Hambal. 2015. Gambara Histopatologi Hati Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Trypanosoma evansi* Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Batang Jaloh (*Salix tetrasperma Roxb*). *Jurnal Medika Veterinaria.* 9(2): 141- 145
- Fajriani. 2008. Pemberian Obat-Obatan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) pada Anak. *Indonesian Journal of Dentistry.* 15(3): 200 – 204
- Fauziyah, Ageng Hasna. 2015. Uji Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Air Sarang Burung Walet Putih (*Collocalia fuciphaga Thunberg.*) Terhadap Aktivitas SGPT dan SGOT pada Tikus Putih Jantan Galur *Sprague Dawley.* Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Ghosh, P, P. Chakraborty, A. Mandal, M. G. Rasul, Madhumita Chakraborty, dan A. Saha. 2013. Triterpenoid from *Schleichera oleosa* of Darjeeling Foothills and Their Antimicrobial Activity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 73(1): 231 - 233
- Giannini, Edoardo G, Roberto Testa, dan Vincenzo Savarino. 2005. Liver Enzyme Alteration: a guide For Clinicians. *Canadian Medical Association Journal.* 172(3): 367 – 379

- Gordillo, Karina Reyes, Ruchi Shah, dan Pablo Muriel. 2017. Oxidative Stress and Inflammation in Hepatic Disease: Current and Future Therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol 2017; 1- 2
- Gowda, Shivaraj, Prakash B. Desai, Vinayak V. Hull, Avinash A.K. Math, Sonal R. Vernekar, dan Shurthi S. Kulkarni. 2009. A Review on Laboratory Liver Function Test. *Pan African Medicinal Journal*. 1 - 11
- Guicciardi, ME, Malhi H, Mott JL, dan Gores GJ. 2013. Apoptosis and Necrosis in The Liver. *Compr Physiol*. 3(2): 1 – 62
- Gunawan, Sesilia Aditya. 2008. Pengaruh Akut Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Akar Senggugu (*Clerodendron serratum* Spreng) Terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Mencit Balb/C. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Hall, Jhon E. 2016. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Kanada: Elsevier
- Hanafiah, Kemas Ali. 2015. *Dasar – dasar Statistika*. Jakarta: PT Raya Grafindo Persada
- Hardiningtyas, Safrina Dyah, Sri Purwaningsih, dan Ekowati Handharyani. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *JPHPI*. 17(1): 80-91
- Harnita dan Maksum R. 2008. *Analisi hayati*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Hassanein, Khaled M. A., Ahmed Al-Emam, dan Khaled Radad. 2016. Prophylactic Effect of Thymoquinone Against Carbon Tetrachloride-Induced Hepatic Damage in Sprague- Dawley Rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 6(2): 167- 171
- Hidayah, Rochma. 2008. Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang
- Ibnu Katsir, Al-Imam Abul Fida Isma'il. 2000. *Tafsir Ibnu Kasir*. Bandung: Sinar Baru Algensindo

- Irnawati, Rafika. 2005. Pengaruh Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus champeden* Spreng Terhadap Enzim SGPT dan SGOT Mencit. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya
- Isdadiyanto, Sri. 2009. Mikroanatom Hepar Mencit (*Mus musculus*) Setelah Pemberian Kitin Per-Oral. *Jurnal Sains dan Matematika*. 17(2): 97- 99
- Ismail, Rasha S.A, Ashraf A.A.El-Megeid, dan Aly R. Abdel-Moemin. 2009. Carbon Tetrachloride- Induced Liver Disease in Rats: The Potential Effect of Supplement Oils With Vitamins E and C on The Nutritional Status. *GMS German Medical Science*. Vol 7: 1-10
- ITIS. 2019. Integrated Taxonomic Information System On-Line Database. <http://www.itis.gov>. diakses pada tanggal 6 Agustus 2019
- Jannat, Morgubatul, Mohammed Karnal Hossain, dan Md. Kamruzzaman. 2016. Vegetative Propagation Potential of Kusum (*Schleichera oleosa*) By Stem Cutting from Young Stock Plants. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*. 2(10): 106 – 110
- Jose, Sophy dan M.P. Sinha. 2018. A Comparative Analysis of Antioxidant Capacity of Aqueous and Methanolic Leaf Extracts of *Scoparia dulcis* dan *Schleichera oleosa*. *Balneo Research Journal*. 9(3): 221 - 227
- Jose, Sophy, Sukumar Dandapat, dan Manorajan Prasad Sinha. 2019. Anti-hypertensive Activity of Aqueous and Methanolic Leaf Extracts of *Schleichera oleosa* (Lour.) Merr. *Journal of Analytical and Pharmaceutical Research*. 8(3): 94- 97
- Junqueira, L.C dan Carneiro J. 2018. Histologi Dasar (*Basic Histology*). Penerjemah Adji Dharma. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Kahar, Hartono. 2017. Pengaruh Hemolisis Terhadap Kadar Serum Glutamate Pyruvate Transaminase (SGPT) Sebagai Salah Satu Parameter Fungsi Hati. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. 1(2): 38 - 46
- Kakadiya, Jagdish. 2009. Liver Function Test. *Pharmacologyonline*. 2: 271 - 282
- Kamour, Ashraf, Siobhan Crichton, Gill Cooper, David J. Lupton, Michael Eddleston, J. Allister Vale, John P. Thompson, dan Simon H. L. Thomas. 2016. Central nervous System Toxicity of Mefenamic Acid Overdose

- Compared with Other NSAIDs: An Analysis of Cases Reported to The United Kingdom National Poisons Information Service. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 83: 855 – 862
- Kanel, Garry C. 2017. *Pathology of Liver Disease*. United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd
- Kasarala, George, M.D., dan Hans L. Tillmann, M.D. 2016. Review Standard Liver Test. *Clinical Liver Disease*. 8(1): 13-18
- Khan, Mohammed Junaid, Swarnlata Saraf, dan Shailendra Saraf. 2017. Anti-Inflammatory and Associated Analgesic Activities of HPLC Standardized Alcoholic Extract of Known Ayurvedic Plant *Schleichera oleosa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 197: 257 – 265
- Kim, W. Ray, Steven I. Flamm, Adrian M. Di Bisceglie, dan Henry C. Bodenheimer. 2008. Serum Activity of Alanine Aminotransferase (ALT) as an Indicator of Health and Disease. *Hepatology*. 47(4): 1363 - 1370
- Krishna, Murii. 2017. Patterns of Necrosis in Liver Disease. *Clinical Liver Disease*. 10(2): 53 - 56
- Kumar, Sunil. 2014. The Importance of Antioxidant and Their Role in Pharmaceutical Science – A Review. *Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Science*. 1(1): 27 – 44
- Lee, You-Suk, Il Je Cho, Joo Wan Kim, Min-Ki Lee, Sae Kwang Ku, Jae- Suk Choi, dan Hae- Jeung Lee. 2018. Hepatoprotective Effects of Blue Honeysuckle on CCl₄ Induced Acute Liver Damage. *Food Science and Nutrition*. 7: 322 – 338
- Li, Cong, Li-Tao Yi, Di Geng, Yuan – Yuan Han, dan Lian – Jin Weng. 2014. Hepatoprotective Effect of Ethanol Extract from *Berchemia lineata* Against CCl₄ Induced Acute Hepatotoxicity in Mice. *Pharmaceutical Biology*. 1 – 6
- Li, Sha, Hor- Yue Tan, Ning Wang, Zhang- Jin Zhang, Lixing Lao, Chi- Woon Wong, dan Yibin Feng. 2015. Review The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Liver Disease. *International Journal of Molecular Science*. 16: 26087 – 26124

- Li, Xi, Qianwen Jin, Qunyan Yao, Beili Xu, Lixin Li, Shuncai Zhang, dan Chuantao Tu. 2018. The Flavonoid Quercetin Ameliorates Liver Inflammation and Fibrosis by Regulating Hepatic Macrophages Activation and Polarization in Mice. *Frontiers in Pharmacology*. 9(72): 1- 14
- Lin, Shi-Yu, Dan Xu, Xia-xia Du, Chong-Lin, Lu Xu, dan Shao-Jun Ren. 2019. Protective Effects of Salidroside against Carbon Tetrachloride (CCl₄)-Induced Liver Injury by Initiating Mitochondria to Resist Oxidative Stress in Mice. *International Journal of Molecular Science*. 20(3187): 1-14
- Liu, Zhengtao, Shuping Que, Jing Xu, dan Tao Peng. 2014. Alanine Aminotransferase- Old Biomarker and new Concept. *International Journal of Medical Sciences*. 11(9): 925 – 935
- Lo, Regina C., dan Haeryoung Kim. 2017. Histopathological Evaluation of Liver Fibrosis and Cirrhosis Regression. *Clinical and Molecular Hepatology*. 23: 302 – 307
- Lobo, V,A. Patil, A. Patak, dan N. Chandra. 2010. Free Radicals, Antioxidants and Functional Foods: Impact on Human Health. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8): 118- 126
- Longo, Dan L dan Anthony S. Fauci. 2013. *Harrison's Gastroenterology an Hepatology*. New York: McGraw – Hill
- Lu, Frank C. 2010. *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Resiko*. Jakarta: UI Press
- Mahmud ZA, Baschar SC, dan Qais. 2012. Antioxidant and Hepatoprotective Activities of Ethanolic Extracts of Leaves of *Premna esculenta* Roxb. Agains Carbon Tetrachloride-Induced Liver Damage in Rats. *Journals of Young Pharmacists*. 4(4): 228-234
- Malekinejad, H, Rezabakhsh A, Rahmani F, dan Razi M. 2013. Paraquat Exposure Up-Regulates Cyclooxygenase- 2 in The Lungs, Liver, and Kidney in Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(4): 887 - 96
- Maulina, Meutia. 2018. *Zat – Zat yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar*. Lhokseumawe: Unimal Press

- McKinley, Michael dan Valerie Dean O. 2006. *Human Anatomy*. New York: McGraw-Hill
- Mescher, Anthony L. 2009. *Junqueira's Basic Histology Text and Atlas*. New York: McGraw-Hill
- Mir, Asif, Farida Anjum, Naveeda Riaz, Hina Iqbal, Hussain Mustatab W, Zaman Khan K, Muhammad Asrar K, dan S.A. Malik. 2010. Carbon Tetrachloride (CCl₄) – Induced Hepatotoxicity in Rat: Curative Role of *Solanum nigrum*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(23): 2525 – 2532
- Mitchell, Richard N, Vinay Kumar, Abul K. Abbas, dan Nelson Fausto. 2009. *Buku Saku Dasar Patologis Penyakit*. Jakarta: Penerbit buku kedokteran EGC
- Motawi, Tarek K, Manal A Hamed, Manel H Shabana, Reem M Hashem, dan Asma F Abdoul Naser. 2011. *Nutrition and Metabolism*. 8(40): 1 - 11
- Muriel, Pablo dan Karina R. Gordillo. 2016. Editorial Role of Oxidative Stress in Liver Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol 2016: 1-2
- Palma, Heloisa E, Patricia Wolkmer, Miguel Gallio, Marcos M.B. Correa, Roberta S, Gustavo R. Thome, Luciane B. Pereira, Veronica S.P.C, Andreia B. Pereira, Chintia M. A. Mazzanti. 2014. Oxidative Stress Parameter in Blood, Liver, and Kidney of Diabetic Rats Treated with Curcumin and/or Insulin. *Moll Cell Biochem*. 386: 199 - 210
- Panche, A. N., A. D. Diwan, dan S. R. Chandra. 2016. Flavonoids: an Overview. *Journal of Nutritional Science*. 5(e47): 1 – 15
- Panjaitan, Ruqiah Ganda Putrid an Masriani. 2014. Gangguan Fungsi Hati Induk Bunting Akibat Pemberian Karbon Tetraklorida. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8(2): 98 – 100
- Phaniendra, Alugoju, Dinesh Babu Jestadi, dan Latha Periyasamy. 2015. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Disease. *Indian Journal Clinical Biochemistry*. 30(1): 11-26

- Poerwono, H, Widyowati R, Kubo H, Higashiyama K, dan Indrayanto G. 2005. *Mefenamic Acid: Analytical Profile. Profiles of Drug Substances,Excipients and Related Methodology.* 281 - 336
- Prasetya, Harka, Israhnanto Isradji, Suparni, Adrian Hardec, Muhammad Fahryzal, Laili Durotul Azizah, dan Dita Ferwina Utari Ashar. 2017. Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas antara Drop Vitamin A dari Karotenoid Kulit Pisang Ambon dan β -Karoten. *MKB.* 49(1): 1 – 7
- Pratiwi, Sulistia, Meilany F. Durry, dan Carla Kairupan. 2016. Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar yang Diberi Minuman Kopi Pasca Induksi Karbon Tetraklorida (CCl₄). *Jurnal e-Biomedik.* 4 (1): 1 - 6
- Prochazkova, D., I. Bousova, dan N. Wilhelmova. 2011. Antioxidant and Prooxidant Properties of Flavonoids. *Fitoterapia.* 82(2011): 513 – 523
- Pujiwati, Sri. 2015. Gambaran Kadar Asam Mefenamat Dalam Obat Antinyeri Yang Beredar Pada Warung-Warung Di Kecamatan Kedamaian Kota Bandar Lampung. *Jurnal Analisis Kesehatan.* 4(1): 366-369
- Puspaningtyas, AR. 2017. Drug Development of Mefenamic Acid Derivates as Analgesic by Molecular Approach. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 9(2): 123 – 130
- Putri, Dita mardhania, H. Busman, dan N. Nurcahyani. 2013. Gambaran Histologi Tubulus Proksimal Ginjal Mencit (*Mus musculus* L) Jantan yang terpapar Kebisingan. *Seminar Nasional Sains dan teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung:* 362- 369
- Pyleris, E, G. Giannikopoulos, dan K. Dabos. 2010. Review Pathophysiology and Management of Acute Liver Failure. *Annals of gastroenterology.* 23(4): 257 – 265
- Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi.* Penerjemah Muhyiddin Mas Rida. Jakarta: Pustaka Azzam
- Quthb, Sayyid. 2008. *Tafsir Fi Zhilalil-Qur'an.* Depok: Gema Insani
- Rahayu, Lestari, Novi Yantih, dan Yoana Supomo. 2018. Analisi SGOT dan SGPT pada Tikus yang Diinduksi Isoniazid untuk Penentuan Dosis dan Karakteristik Hepatoprotektif Air Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) Mentah. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 16(1): 100- 106

- Rajaratman, Mayuresh, Andrzej Prystupa, Patrycja Lachowska-Kotowska, Wojciech Zaluska, dan Rafal Filip. 2014. Herbal Medicine for Treatment and Prevention of Liver Diseases. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*. 8(2): 55- 60
- Ramadhani, Muhammad Reza, Mochammad Saiful Bachri, dan Wahyu Widyaningsih. 2017. Effect of Ethanolic Extract of Arrowroot Tubbers (*Maranta arundinacea*) on The Level of MDA, SGPT and SGOT in Ethanol Induced Rats. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 8(1): 10- 18
- Rhodes, Christopher J. 2000. *Toxicology of The Human Environment The Critical Role of Free Radicals*. London: Taylor and Francis
- Rixey, Megan Phifer dan Michael W Nachman. 2015. The Natural History Of Model Organisms Insights Into Mammalian Biology From The Wild House Mouse *Mus musculus*. *eLIFE*. 4: 1-13.
- Rojihah, Lusy Asa Akhrani, dan Nur Hasanah. 2015. Perbedaan Political Awarness Dilihat dari Peran Gender Pemilih Pemula. *Jurnal Mediapsi*. 1(1): 59 – 66
- Ross, Michael H. 2011. *Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins
- Ryan, Charlotte K., Gerhard R.F. Krueger, dan Chitra Chandrasekhar. 2012. Pathology of The Liver, Billiary System, and Exocrine Pancreas. *Atlas of Anatomic Pathology with Imaging*. London: Springer
- Santha, M. Lakshmi, P. Kanchana, dan SK. Shakeela. 2017. Anti-inflamatory and Anti-arthritis Activity of *Schleichera oleosa* (Lour). Oken Bark. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 46(1): 79- 84
- Sari, Yeti Eka Sispita. 2018. Gambaran Histologi Ginjal Tikus Wistar yang Terpapar MSG Setelah Perlakuan Diberikan Jus Tomat dan Diberhentikan Perlakuan Saja. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. 1(2): 62 – 69
- Sayuti, Kesuma dan Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press

- Scholten, D, J Trebicka, C Liedtke, dan R Weiskirchen. 2015. The Carbon Tetrachlorida in Mice. *Laboratory Aimals*. 49(S1): 4 - 11
- Sethunath, Deepak, Siripriya Morusu, Mihran Tuceryan, Oscar W. Cummings, Hao zhang, Xiao-Ming Yin, ..., dan Samer Gawriesh. 2018. Automated Assesment of Steatosis in Murine Fatty Liver. *PlosONE*. 13(5): 1- 16
- Shanmugasundaram, P dan S. Venkataraman. 2006. Hepatoprotective and antioxidant effect of *Hygrophila auriculata* (K.Scum) Heine Acanthaceae Root Extract. *Journal of Ethnopharmacology*. 104: 124-128
- Sherwood, Lauralee. 2016. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Jakarta: EGC
- Shier, David, Jackie Butler, dan Ricki Lewis. 2004. *Human Anatomy Physiology*. New York: McGraw-Hill
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati
- Silitonga, Fransius Mangaratua P. 2008. Penampilan Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Daun Torbangun (*Coleus amboinicus*) dan Taraf SOP Daun Torbangun Kering. *Skripsi*. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Somchit, N, F. Sanat, E H Gan, I A W Shahrin, dan A Zuraini. 2004. Liver Injury Induced by The Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Mefenamic Acid. *Singapore Medical Journal*. 45(11): 530- 532
- Srinivas, K., dan V.R. Celestin Baboo. 2011. GC-MS Study of *Schleichera oleosa* (Lour) Oken. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*. 2(2): 106 – 109
- Stickel, F dan D. Schuppan. 2007. Herbal Medicine in The Treatment of Liver Disease. *Digestive and Liver Disease*. 39: 293- 304
- Suita, Eliya. 2012. *Seri teknologi Perbenihan Tanaman Hutan*. Bogor: Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan
- Sulaiman, C.T. Sadashiva C.T, Sathees G, Goplakrishnan V.K, dan Indira, B. 2013. Chromatographic Studies and In Vitro Screening for Acetyl Colinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of Three Acacia Species from South India. *Analytical Chemistr Letters*. 3(2): 111 - 118
- Syaifuddin. 2012. *Anatomi Fisiologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC

- Tatukude, Rico Lukas, Liliy Loho, dan M. P. Lintong. 2014. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Wistar yang Diberikan Boraks. *Jurnal e-Biomedik.* 2(3): 1- 7
- Thind, Tarunpreet Singh, Rajbir Singh, rajbir Khaur, Geetanjali Rampal, dan Saroj Arora. 2011. In Vitro Antiradical Properties and Total Phenolic Contents in Methanol Extract/ Fractions from Bark of *Schleichera oleosa* (Lour) Oken. *Medicinal Chemistry Research.* 20: 254- 260
- Useful Tropical Plants Database 2014. <http://tropical.theferns.info/>. Diakses pada tanggal 6 Agustus 2019
- Valentri, Yuni. 2016. <http://yunivalentri.blogspot.com/2016/08/komponen-plasma-darah.html> diakses pada tanggal 3 juli 2019
- Verma, Nitin dan R.I Khosa. 2009. Evaluation Of Protective Effect Of Ethanolic Extract Of *Costus speciosus* (Koenig) Sm. Rhizomes on Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity In Rat. *Natural Product Radiance.* Vol 8(2): 123-126.
- Wang, Meilin, Jingling Niu, Lina Ou, Bo Deng Yingyi Wang, dan Sanqiang Li. 2019. Zerumbone Protects Against Carbon Tetrachloride (CCl₄) Induced Acute Liver Injury in Mice Via Inhibiting Oxidative Stress and The Inflammatory Response: Involving The TLR4/NF-kB/COX-2 Pathway.
- Weber, Achim, Yannick Boege, Florian Reisinger, dan Mathias Heikenwalder. 2011. Chronic Liver Inflammation and Hepatocellular Carcinoma: Persistence Matters. *Swiss Medical Weekly.* 141: 1 – 9
- WHO. 2004. *Carbon Tetrachloride in Drinking Water.* World Health Organization 2004
- Winarsi, Heri. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisius
- Wong, Rebecca S.Y. 2019. Role of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Cancer Prevention and Cancer Promotion. *Advance in Pharmacological Sciences.* Hal 1-10
- Woreta, Tinsay A dan Saleh A. Alqahtani. 2014. Evaluation of Abnormal Liver Test. *Med Clin N Am.* 98: 1 – 16

- Xing, Tong-Jing. 2017. Clinical Classification of Liver Failure: Consensus, Contradictions and New Recommendations. *Journal of Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2(2): 1-5
- Yuslanti, Euis Reni. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: Deepublish



LAMPIRAN

1. Perhitungan Dosis Ekstrak Metanol Kesambi (*Schleichera oleosa*)

- a. Perhitungan untuk dosis 400 mg/kg BB dengan faktor konversi (FK) 0,14, sebagai berikut:

Dosis acuan = 400 mg/kg BB

Dosis untuk 200 gram tikus = $200 \times 400 \text{ mg}/1000 \text{ gr} = 80 \text{ mg}$

Dosis untuk 20 gram mencit = $80 \times \text{fk}$

$$= 80 \times 0,14$$

$$= 11,2 \text{ mg}$$

Dosis untuk 25 gram mencit = berat rerata/ berat normal x dosis normal

$$= 25/20 \times 11,2 = 14 \text{ mg} = 0,014 \text{ gram}$$

- b. Perhitungan untuk dosis 500 mg/kg BB dengan faktor konversi (FK) 0,14, sebagai berikut:

Dosis acuan = 500 mg/kg BB

Dosis untuk 200 gram tikus = $200 \times 500 \text{ mg}/1000 \text{ gr} = 100 \text{ mg}$

Dosis untuk 20 gram mencit = $100 \times \text{fk}$

$$= 100 \times 0,14$$

$$= 14 \text{ mg}$$

Dosis untuk 25 gram mencit = berat rerata/ berat normal x dosis normal

$$= 25/20 \times 14 = 17,5 \text{ mg} = 0,0175 \text{ gram}$$

- c. Perhitungan untuk dosis 600 mg/kg BB dengan faktor konversi (FK) 0,14, sebagai berikut:

Dosis acuan = 600 mg/kg BB

Dosis untuk 200 gram tikus = $200 \times 600 \text{ mg}/1000 \text{ gr} = 120 \text{ mg}$

Dosis untuk 20 gram mencit = $120 \times \text{fk}$

$$= 120 \times 0,14$$

$$= 16,8 \text{ mg}$$

Dosis untuk 25 gram mencit = berat rerata/ berat normal x dosis normal

$$= 25/20 \times 16,8 = 21 \text{ mg} = 0,021 \text{ gram}$$

2. Hasil SPSS Uji Normalitas Kadar Enzim SGPT

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hasil
N		24
Normal	Mean	68.9583
Parameters ^a	Std. Deviation	2.75025E1
Most Extreme	Absolute	.222
Differences	Positive	.222
	Negative	-.129
Kolmogorov-Smirnov Z		1.089
Asymp. Sig. (2-tailed)		.187

a. Test distribution is Normal.

--	--

3. Hasil SPSS Uji Homogenitas Kadar Enzim SGPT

Test of Homogeneity of Variances

hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.988	5	18	.452

Descriptives

hasil	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
normal	4	61.2500	24.55436	12.27718	22.1785	100.3215	47.00	98.00
dosis 500 mg/kg bb	4	68.5000	29.54657	14.77329	21.4848	115.5152	40.00	110.00
CCI4 (K-)	4	78.0000	15.01111	7.50555	54.1140	101.8860	65.00	97.00
obat								
kontrol (k+)	4	81.5000	43.56222	21.78111	12.1828	150.8172	51.00	146.00
dosis 400 mg/kg bb	4	60.0000	16.75311	8.37655	33.3421	86.6579	48.00	84.00

dosis 600 mg/kg bb	4	64.5000	37.25140	18.62570	5.2247	123.7753	29.00	117.00
Total	24	68.9583	27.50254	5.61393	57.3450	80.5716	29.00	146.00

4. Hasil Skoring Kerusakan Sel Hepar

Kontrol Normal (N)

ULANGA N	SKOR	LAPANG PANDANG (n)					TOTAL (n)	NILAI SKOR	SKOR TOTAL	RERAT A
		1	2	3	4	5				
1	N	13	12	10	14	11	60	60	173	169.5
	DP	5	4	6	3	4	22	44		
	DH	0	1	1	0	1	3	9		
	NK	2	3	3	3	4	15	60		
2	N	10	11	10	12	14	57	57	187	171
	DP	5	6	6	3	2	22	44		
	DH	0	0	0	1	1	2	6		
	NK	5	3	4	5	3	20	80		
3	N	17	15	15	15	15	77	77	147	
	DP	2	1	4	2	2	11	22		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	NK	1	4	1	3	3	12	48		
4	N	16	11	13	11	14	65	65	280	245.5
	DP	1	4	3	5	4	17	34		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	NK	3	5	4	4	2	18	72		

Kontrol Positif (K+)

ULANGA N	SKOR	LAPANG PANDANG (n)					TOTAL (n)	NILAI SKOR	SKOR TOTAL	RERAT A
		1	2	3	4	5				
1	N	2	3	6	5	8	24	24	280	245.5
	DP	2	3	1	4	3	13	26		
	DH	5	5	8	4	0	22	66		
	NK	11	9	5	7	9	41	164		
2	N	10	7	7	5	10	39	39	236	220
	DP	3	6	8	2	3	22	44		
	DH	0	0	0	3	0	3	9		
	NK	7	7	5	10	7	36	144		
3	N	11	10	10	9	8	48	48	220	
	DP	1	2	5	6	4	18	36		

	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	NK	8	8	5	5	8	34	136		
4	N	6	5	2	9	8	30	30	246	
	DP	6	3	8	3	4	24	48		
	DH	2	7	6	0	1	16	48		
	NK	6	5	4	8	7	30	120		

Kontrol Negatif (K-)

ULANGA N	SKOR	LAPANG PANDANG (n)					TOTAL (n)	NILAI SKOR	SKOR TOTAL	RERAT A
		1	2	3	4	5				
1	N	7	7	8	7	7	36	36	231	
	DP	5	8	3	6	7	29	58		
	DH	1	0	0	2	0	3	9		
	NK	7	5	9	5	6	32	128		
2	N	7	8	5	7	6	33	33	257	256.5
	DP	3	3	3	4	4	17	34		
	DH	2	1	5	0	2	10	30		
	NK	8	8	7	9	8	40	160		
3	N	9	7	4	2	6	28	28	265	
	DP	4	5	4	5	5	23	46		
	DH	0	0	0	5	0	5	15		
	NK	7	8	12	8	9	44	176		
4	N	8	5	6	6	5	30	30	273	
	DP	3	3	4	5	0	15	30		
	DH	0	2	0	0	5	7	21		
	NK	9	10	10	9	10	48	192		

P1 (Dosis 500 mg/kg BB)

ULANGA N	SKOR	LAPANG PANDANG (n)					TOTAL (n)	NILAI SKOR	SKOR TOTAL	RERAT A
		1	2	3	4	5				
1	N	11	10	10	9	12	52	52	202	205
	DP	4	3	6	5	3	21	42		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	NK	5	7	4	6	5	27	108		
2	N	7	8	8	12	6	41	41	220	212
	DP	6	5	6	3	7	27	54		
	DH	1	2	0	0	0	3	9		
	NK	6	5	6	5	7	29	116		
3	N	11	9	9	8	9	46	46	212	
	DP	3	3	7	7	4	24	48		
	DH	0	1	0	0	1	2	6		
	NK	6	7	4	5	6	28	112		
4	N	8	7	12	12	13	52	52	186	

	DP	8	7	5	4	5	29	58	
	DH	0	0	0	0	0	0	0	
	NK	4	6	3	4	2	19	76	

P2 (Dosis 500 mg/kg BB)

ULANGA N	SKOR	LAPANG PANDANG (n)					TOTAL (n)	NILAI SKOR	SKOR TOTAL	RERAT A
		1	2	3	4	5				
1	N	1	1	1	0	1	4	4	300	243.25
	DP	4	7	3	4	4	22	44		
	DH	10	8	10	11	5	44	132		
	NK	5	4	6	5	10	30	120		
2	N	8	12	12	3	13	48	48	192	243.25
	DP	4	4	8	11	5	32	64		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	NK	8	4	0	6	2	20	80		
3	N	7	11	13	10	9	50	50	208	243.25
	DP	6	3	3	4	5	21	42		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	NK	7	6	4	6	6	29	116		
4	N	2	3	1	0	0	6	6	273	243.25
	DP	5	10	14	4	7	40	80		
	DH	8	0	1	12	8	29	87		
	NK	5	7	4	4	5	25	100		

P3 (Dosis 600 mg/kg BB)

ULANGA N	SKOR	LAPANG PANDANG (n)					TOTAL (n)	NILAI SKOR	SKOR TOTAL	RERAT A
		1	2	3	4	5				
1	N	6	8	6	8	6	34	34	235	239
	DP	6	6	5	5	6	28	56		
	DH	3	1	1	1	1	7	21		
	NK	5	5	8	6	7	31	124		
2	N	6	8	6	7	8	35	35	230	239
	DP	4	6	4	8	6	28	56		
	DH	4	1	1	2	1	9	27		
	NK	6	5	9	3	5	28	112		
3	N	7	8	6	8	8	37	37	219	239
	DP	5	5	7	6	9	32	64		
	DH	3	2	1	0	0	6	18		
	NK	5	5	6	6	3	25	100		
4	N	1	1	6	4	3	15	15	272	239
	DP	1	5	6	8	2	22	44		
	DH	14	9	1	4	11	39	117		
	NK	4	5	7	4	4	24	96		

5. Hasil SPSS Uji Normalitas Skoring Hepatosit

Test of Homogeneity of Variances

hasil

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.360	5	18	.009

6. Hasil SPSS Uji Robust Skoring Hepatosit

Descriptives

hasil		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
NORMAL		4	1.6950E2	16.60321	8.30161	143.0806	195.9194	147.00	187.00
K+ OBAT		4	2.4525E2	25.50000	12.75000	204.6738	285.8262	220.00	280.00
KONTROL		4	2.5650E2	18.21172	9.10586	227.5211	285.4789	231.00	273.00
K- CCL4		4	2.0500E2	14.65151	7.32575	181.6862	228.3138	186.00	220.00
P1 400		4	2.0500E2	14.65151	7.32575	181.6862	228.3138	186.00	220.00
MG/KG BB		4	2.4325E2	51.55822	25.77911	161.2094	325.2906	192.00	300.00
P2 500		4	2.4325E2	51.55822	25.77911	161.2094	325.2906	192.00	300.00
MG/KG BB		4	2.3900E2	22.99275	11.49638	202.4134	275.5866	219.00	272.00
P3 600		4	2.3900E2	22.99275	11.49638	202.4134	275.5866	219.00	272.00
MG/KG BB		4	2.3900E2	22.99275	11.49638	202.4134	275.5866	219.00	272.00
Total		24	2.2642E2	39.32907	8.02801	209.8095	243.0239	147.00	300.00

Robust Tests of Equality of Means

hasil		Statistic ^a	df1	df2	Sig.
	Brown-Forsythe	5.563	5	8.140	.016

a. Asymptotically F distributed.

7. Hasil SPSS Uji Lanjut *Games-Howell* Skoring Hepatosit

Multiple Comparisons

hasil

Games-Howell

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
NORMAL	K+ OBAT	-75.75000*	15.21444	.025	-139.8357	-11.6643
	KONTROL	-87.00000*	12.32207	.003	-136.1839	-37.8161
	P1 400	-35.50000	11.07174	.118	-79.7997	8.7997
	MG/KG BB					
	P2 500	-73.75000	27.08282	.262	-209.7294	62.2294
	MG/KG BB					
K+ OBAT KONTROL	P3 600	-69.50000*	14.18039	.024	-127.9006	-11.0994
	MG/KG BB					
	NORMAL	75.75000*	15.21444	.025	11.6643	139.8357
	K- CCL4	-11.25000	15.66777	.972	-75.9182	53.4182
	P1 400	40.25000	14.70473	.223	-23.6674	104.1674
	MG/KG BB					
K- CCL4	P2 500	2.00000	28.75978	1.000	-128.1610	132.1610
	MG/KG BB					
	P3 600	6.25000	17.16768	.999	-62.3258	74.8258
	MG/KG BB					
	NORMAL	87.00000*	12.32207	.003	37.8161	136.1839
	K+ OBAT	11.25000	15.66777	.972	-53.4182	75.9182
P1 400 MG/KG BB	KONTROL	51.50000*	11.68689	.035	4.2455	98.7545
	P1 400					
	MG/KG BB					
K- CCL4	P2 500	13.25000	27.34007	.994	-121.3845	147.8845
	MG/KG BB					
	P3 600	17.50000	14.66572	.826	-41.9339	76.9339
K- CCL4	MG/KG BB					
	NORMAL	35.50000	11.07174	.118	-8.7997	79.7997
	K+ OBAT	-40.25000	14.70473	.223	-104.1674	23.6674
K- CCL4	KONTROL					
	K- CCL4	-51.50000*	11.68689	.035	-98.7545	-4.2455

P2 500 MG/KG BB	-38.25000	26.79980	.719	-175.9490	99.4490
P3 600 MG/KG BB	-34.00000	13.63207	.275	-91.7171	23.7171
P2 500 MG/KG BB	NORMAL	73.75000	27.08282	.262	-62.2294
	K+ OBAT	-2.00000	28.75978	1.000	-132.1610
	KONTROL				128.1610
	K- CCL4	-13.25000	27.34007	.994	-147.8845
P1 400 MG/KG BB	38.25000	26.79980	.719	-99.4490	175.9490
P3 600 MG/KG BB	4.25000	28.22639	1.000	-127.0828	135.5828
P3 600 MG/KG BB	NORMAL	69.50000*	14.18039	.024	11.0994
	K+ OBAT	-6.25000	17.16768	.999	-74.8258
	KONTROL				62.3258
	K- CCL4	-17.50000	14.66572	.826	-76.9339
P1 400 MG/KG BB	34.00000	13.63207	.275	-23.7171	91.7171
P2 500 MG/KG BB	-4.25000	28.22639	1.000	-135.5828	127.0828

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