

**PENGARUH EKSTRAK DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG MENCIT JANTAN YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

SKRIPSI

**Oleh:
ADHIN MUIZA KESWANTY
17930058**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG MENCIT JANTAN YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

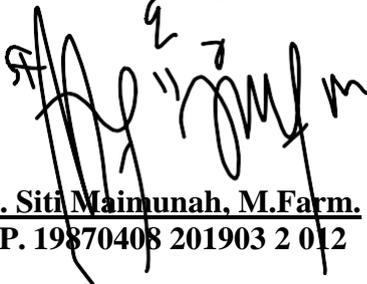
**PENGARUH EKSTRAK DAUN CENGKEH (*Syzigium aromaticum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG MENCIT JANTAN YANG DIINDUKSI
PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

SKRIPSI

**Oleh :
ADHIN MUIZA KESWANTY
NIM : 17930058**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal: 13 Juni 2021**

Pembimbing I



**apt. Siti Maimunah, M.Farm.
NIP. 19870408 201903 2 012**

Pembimbing II



**Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.
NIP. 19820523 200912 2 001**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi**



**apt. Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm
NIP. 19761214 200912 1 002**

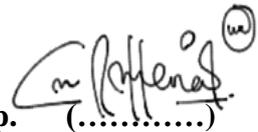
**PENGARUH EKSTRAK DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL LEYDIG MENCIT JANTAN YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL DOSIS TOKSIK**

SKRIPSI

**Oleh:
ADHIN MUIZA KESWANTY
NIM. 17930058**

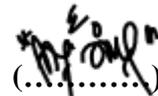
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 17 Juni 2021**

**Ketua Penguji : Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.
NIP. 19820523 200912 2 001**



(.....)

**Anggota Penguji : 1. apt. Siti Maimunah, M.Farm.
NIP. 19870408 201903 2 012**



(.....)

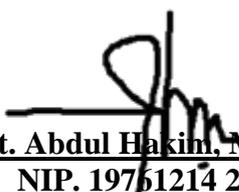
**2. Fidia Rizkiah Inayatilah, S.ST.,M.Keb.
NIP. 19851209 200912 2 004**



(.....)

**3. Achmad Nashichuddin, M.A.
NIP. 19730705 200003 1 000**

**Mengesahkan,
Ketua Program studi Farmasi**



**Apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm
NIP. 19751214 200912 1002**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Adhin Muiza Keswanty

NIM : 17930058

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran Dan Ilmu-Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Pengaruh Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil ide proyek Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep., bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Yang membuat pernyataan,



Adhin Muiza Keswanty

NIM. 17930058

MOTTO

“For indeed, with hardship [will be] ease”

QS. 94:5

“Sufficient for us is Allah, and [He is] the best Disposer of affairs”

QS. 3:173

LEMBAR PERSEMBAHAN

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT.

Telah memberikan cinta dan kasih sayang-Nya sehingga memberikan kekuatan dan ilmu. Atas karunia dan kemudahan yang telah Engkau berikan skripsi ini dapat terselesaikan.

Sholawat serta salam selalu terucap kepada Rasulullah SAW.

Kepada orang yang saya cintai dan saya sayangi, dengan rasa syukur yang dalam saya mempersembahkan karya ini.

Kepada orang tua saya tercinta, Ibuk Ninik Sukesi dan Bapak Siswanto. Sebagai tanda terimakasih, hormat, dan bakti saya persembahkan karya ini. Terimakasih telah menjadi penguat serta memberi dukungan yang terbaik dalam bentuk doa, ridha, semangat dan kasih sayang yang tak pernah putus, sehingga saya dapat menyelesaikan studi ini dengan baik. Terimakasih kepada adik saya Dhea Amelia Keswanty yang selalu memberikan doa dan semangat.

Dosen pembimbing tugas akhir saya Ibu apt. Siti Maimunah, M.Farm., Ibu Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep., Ibu Fidia Rizkiah Inayatilah, S.ST., M.Keb., dan Bapak Achmad Nashichuddin, M.A. yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan banyak pengalaman dan ilmu berharga serta waktu luang dalam memberikan masukan.

Terimakasih kepada ciwi-ciwi “Rumahku Surgaku”, Nurista Safa Normasilla, Widhi Astuti, Yudintya Aisyah Ermandy, Ivana Ifadayanti, dan Arien Alvi Fathoniyah, yang banyak memberikan kehebohan, semangat, dan menjadi teman berbagi kisah kasih kehidupan perkuliahan. Terimakasih kepada FAZA 47 telah menjadi rumah diperantauan. Kepada teman-teman sekelompok penelitian, saya ucapkan terimakasih atas kerjasamanya dalam melakukan penelitian bersama. Terimakasih kepada teman-teman Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2017 terutama “Keluarga Samawa” yang memberikan banyak warna selama menempuh perkuliahan. Semoga selalu sukses kedepannya.

Serta kepada semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih telah membantu dalam bentuk doa, dukungan maupun semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Adhin Muiza Keswanty/ 17930058

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzigium Aromaticum* L.) Terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat kelulusan pada Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis menyadari bahwa pada penyusunan proposal penelitian tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes., Sp.Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I, M. Farm. selaku ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. apt. Siti Maimunah, M. Farm. selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penulisan proposal penelitian tersebut.
5. Meilina Ratna Dianti, S. Kep., NS., M. Kep. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penulisan proposal penelitian tersebut.
6. Fidia Rizkiah Inayatilah, S.ST.,M.Keb. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penyelesaian skripsi ini.

7. Segenap Dosen Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama ini.
8. Yuwono, S.Sos., selaku admin program studi farmasi atas semua waktu, bantuan dan dukungan yang diberikan selama ini.
9. Orang tua serta saudara-saudara penulis atas doa, dukungan, serta kasih sayang yang selalu tcurahkan selama ini.
10. Teman-teman satu angkatan yang selalu memberikan motivasi, dukungan, serta semangat kepada penulis selama ini.
11. Seluruh pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan proposal penelitian, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Demikian proposal penelitian ini penulis susun dengan sebaik-baiknya. Penulis sangat menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan proposal penelitian tersebut. Oleh karena itu, penulis membutuhkan kritik dan saran yang membangun yang akan berguna dalam penelitian-penelitian lainnya.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Malang, 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
LEMBAR PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
مستخلص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian	7
2.4. Manfaat Penelitian	8
1.4.1. Manfaat Secara Teoritis	8
1.4.2. Manfaat Secara Praktis	8
1.5. Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	10
2.1.2. Sinonim dan Nama Lokal Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	10
2.1.3. Morfologi Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	11
2.1.4. Kandungan Senyawa Antioksidan Daun Cengkeh	11
2.2. Tumbuhan dalam Al-Qur`an	14
2.3. Antioksidan	15
2.3.1. Definisi Antioksidan	15
2.3.2. Mekanisme Antioksidan	16
2.3.3. Sumber Antioksidan	17
2.4. Vitamin C	18
2.5. Radikal Bebas	19
2.5.1. Definisi Radikal Bebas	19
2.5.2. Mekanisme Radikal Bebas	20
2.5.3. Sumber Radikal Bebas	21
2.6. Parasetamol	21
2.6.1. Farmakologi Parasetamol	22
2.6.2. Farmakodinamik	22
2.6.3. Farmakokinetik	23

2.6.4.	Dosis Parasetamol	25
2.7.	Organ Reproduksi Pria	25
2.7.1.	Testis	26
2.7.2.	Histologi Testis	28
2.7.3.	Spermatogenesis.....	29
2.7.4.	Hubungan Radikal Bebas dan Sel Leydig.....	31
2.8.	Hubungan Infertilitas dengan Antioksidan	35
2.9.	Ekstraksi Metode UAE (<i>Ultrasonic Assited Extraction</i>)	37
2.10.	Pemeriksaan Kandungan Senyawa Antioksidan	38
2.10.1.	Uji Warna	38
2.10.2.	Metode KLT	40
2.11.	Hewan Coba	41
2.11.1.	Mencit (<i>Mus musculus</i>)	41
2.11.2.	Penanganan Hewan Coba.....	42
BAB III	KERANGKA KONSEPTUAL	44
3.1.	Kerangka Konseptual	44
3.2.	Uraian Kerangka Konseptual	45
3.3.	Hipotesis.....	47
BAB IV	METODE PENELITIAN	48
4.1.	Jenis dan Rancangan Penelitian	48
4.2.	Waktu dan Tempat Penelitian	48
4.3.	Populasi dan Sampel Penelitian	49
4.3.1.	Populasi Penelitian	49
4.3.2.	Sampel Penelitian.....	50
4.3.3.	Teknik Pengambilan Sampel.....	51
4.4.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	51
4.4.1.	Variabel Penelitian	51
4.4.2.	Definisi Operasional.....	52
4.5.	Alat dan Bahan Penelitian	54
4.5.1.	Alat Penelitian	54
4.5.2.	Bahan Penelitian.....	55
4.6.	Prosedur Penelitian.....	55
4.6.1.	Alur Penelitian.....	55
4.6.2.	Skema Kerja Pengolahan Tanaman.....	56
4.6.3.	Ekstraksi UAE.....	57
4.6.4.	Skrining Fitokimia.....	58
4.6.6.	Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Senyawa Eugenol.....	60
4.6.7.	Skema Kerja Perlakuan Hewan Coba	62
4.7.	Analisis Data dan Pengolahan Data	64
4.7.1.	Uji Normalitas	64
4.7.2.	Uji Homogenitas	65
4.7.3.	Uji One Way ANOVA (<i>Analytical of Variance</i>)	65
4.7.4.	Uji <i>Post-Hoc LSD (Least Significance Different)</i>	66
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN	67
5.1.	Determinasi Tanaman	67
5.2.	Pembuatan Ekstrak Daun Cengkeh	68

5.3.	Uji Warna dan Uji Kromatografi Lapis Tipis	70
5.3.1.	Uji Warna	70
5.3.2.	Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	73
5.4.	Hasil Penelitian	75
5.4.1.	Hasil Pengamatan Histopatologi dan Perhitungan Jumlah Sel Leydig Mencit Jantan	75
5.4.2.	Hasil Analisis Data.....	77
5.7.	Manfaat Daun Cengkeh dalam Islam	87
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		90
6.1.	Kesimpulan.....	90
6.2.	Saran.....	90
DAFTAR PUSTAKA		91
LAMPIRAN.....		104

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tumbuhan cengkeh	10
Gambar 2. 2 Reaksi senyawa fenol dengan radikal bebas	13
Gambar 2. 3 Stuktur vitamin C	18
Gambar 2. 4 Stuktur parasetamol.....	22
Gambar 2. 5 Metabolisme parasetamol.....	24
Gambar 2. 6 Struktur NAPQI.....	24
Gambar 2. 7 Anatomi organ reproduksi pria	26
Gambar 2. 8 Anatomi testis.....	27
Gambar 2. 9 Histologi testis.....	28
Gambar 2. 10 Fase spermatogenesis	31
Gambar 2. 11 Spermatogenesis pada tubulus seminiferus.....	31
Gambar 2. 12 Reaksi warna pada uji flavonoid	38
Gambar 2. 13 Reaksi warna pada uji FeCl ₃	39
Gambar 2. 14 Proses elusi KLT	40
Gambar 2. 15 Mencit (<i>Mus musculus</i>)	42
Gambar 3. 1 Bagan kerangka konseptual.....	42
Gambar 5. 1 Ekstrak kental simplisia daun cengkeh	70
Gambar 5. 2 Hasil uji flavonoid	71
Gambar 5. 3 Hasil uji fenol	72
Gambar 5. 4 Hasil uji tannin	73
Gambar 5. 5 Hasil KLT ekstrak daun cengkeh	74
Gambar 5. 8 Gambar sel Leydig pada setiap kelompok perlakuan.....	75
Gambar 5. 9 Reaksi senyawa fenol dengan radikal bebas	85
Gambar 5. 10 Reaksi senyawa flavonoid dengan radikal bebas	85

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Definisi operasional	52
Tabel 5. 1 Uji reaksi warna	71
Tabel 5. 2 Hasil perhitungan jumlah sel Leydig	76
Tabel 5. 3 Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	77
Tabel 5. 4 Hasil uji Homogenitas <i>Levene`s Test</i>	78
Tabel 5. 5 Hasil uji <i>One Way ANOVA</i>	79
Tabel 5. 6 Hasil uji <i>Post Hoc LSD</i>	80
Tabel 5. 7 Hasil notasi uji <i>Post-hoc LSD</i>	81

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil uji determinasi tanaman	104
Lampiran 2 Hasil uji kode etik.....	105
Lampiran 3 Tabel konversi dosis	106
Lampiran 4 Perhitungan dosis.....	107
Lampiran 5 Hasil perhitungan jumlah sel Leydig.....	112
Lampiran 6 Hasil analisis statistik menggunakan SPSS	113
Lampiran 7 Dokumentasi penelitian	115

DAFTAR SINGKATAN

ABP	= <i>Androgen Binding Protein</i>
ACTH	= <i>Adrenocorticotropin Hormone</i>
AINS	= <i>Antiinflamasi Non-Steroid</i>
ANOVA	= <i>Analytical of Variance</i>
ASI	= <i>Air Susu Ibu</i>
BNT	= <i>Beda Nyata Terkecil</i>
BPOM	= <i>Badan Pengawas Obat dan Makanan</i>
Cat	= <i>Katalase</i>
COX	= <i>Siklooksigenase</i>
CRH	= <i>Corticotropin Releasing Hormone</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
DPL	= <i>Di atas Permukaan Laut</i>
FSH	= <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GnRH	= <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
GPx	= <i>Glutathione peroxidase</i>
GSH	= <i>Glutathione</i>
HPA	= <i>Hypothalamic-Pituitary-Adrenal</i>
HPG	= <i>Hipotalamus-Hipofisis-Gonad</i>
KEMENKES RI	= <i>Kementrian Kesehatan Republik Indonesia</i>
KLT	= <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
LDL	= <i>Low Density Lipoprotein</i>
LH	= <i>Luteinizing Hormone</i>
LSD	= <i>Least Significance Different</i>
NAPQI	= <i>N-acetyl-p-benzoquinone imine</i>
Nrf2	= <i>nuclear factor-erythroid-2 related factor 2</i>
NSAID	= <i>Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs</i>
PUFA	= <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
RDA	= <i>Recommended Dietary Allowance</i>
RNA	= <i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	= <i>Superoksida Dismutase</i>
SSP	= <i>Sistem Saraf Pusat</i>
UAE	= <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>
UV	= <i>Ultraviolet</i>
VLDL	= <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

ABSTRAK

Keswanty, A.M. 2021. Pengaruh Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Jumlah Sel Leydig Mencit Jantan yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: apt. Siti Maimunah, M.Farm.; Pembimbing II: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.

Parasetamol merupakan obat analgesik dan antipiretik yang sering digunakan dan mudah didapatkan. Penggunaan parasetamol secara berlebihan (toksik) dapat meningkatkan kadar radikal bebas *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) dalam tubuh hasil metabolisme di hati yang selanjutnya didistribusikan melalui aliran darah. Hal ini menimbulkan dampak negatif pada organ reproduksi pria ditandai dengan berkurangnya jumlah sel Leydig yang berperan pada spermatogenesis. Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan alami dalam menangkal radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan senyawa fenol, flavonoid, dan tanin pada ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) melalui uji reaksi warna dan KLT serta mengetahui pengaruhnya terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang telah diinduksi parasetamol dosis toksik. Metode penelitian ini menggunakan *true experimental post test only control group design* yang dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kontrol negatif diberikan parasetamol dosis 1,95 mg/ gBB, kontrol positif diberikan parasetamol dosis 1,95 mg/ gBB dan vitamin C dosis 0,065 mg/ gBB, perlakuan 1, 2 dan 3 diberikan parasetamol dosis 1,95 mg/ gBB dan ekstrak daun cengkeh dengan dosis bertingkat 0,7 mg/ gBB, 1,4 mg/gBB, dan 2,8 mg/gBB secara oral selama 14 hari. Analisis data menggunakan *One-Way Anova* dilanjutkan dengan *Post-Hoc LSD*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh positif mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin yang telah diidentifikasi melalui uji warna dan KLT serta terdapat pengaruh ekstrak daun cengkeh terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik, dengan nilai signifikansi atau *p-value* = 0,000 (berbeda signifikan). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin memiliki pengaruh terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

Kata kunci: Daun cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.), parasetamol, sel Leydig

ABSTRACT

Keswanty, A.M. 2021. Effect of Clove Leaf Extract (*Syzygium aromaticum* L.) on Leydig Cell Number in a Male Mice Induced by Toxic Dose of Paracetamol. Thesis. Pharmacy Study Program, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Supervisor I: apt. Siti Maimunah, M.Farm.; Advisor II: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.

Paracetamol is an analgesic and antipyretic drug. It is often used and easy to get. Toxic dose of paracetamol can increase level of free radicals *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) in the body, as a result of metabolism in the liver. Then, it is distributed through the bloodstream. This activity has a negative impact on the male reproductive organs. It is characterized by a reduced number of Leydig cells that play a role in spermatogenesis. Clove leaf (*Syzygium aromaticum* L.) contains phenolic compounds, flavonoids, and tannins having the potential as natural antioxidants to ward off free radicals by donating electrons. This research aims to determine the content of phenolic compounds, flavonoids, and tannins in clove leaf extract (*Syzygium aromaticum* L.) through color reaction tests and TLC and to determine the effect on the number of Leydig cells in male mice induced by toxic dose of paracetamol. This research used the method of true experimental post test only control group desig. It was divided into 5 groups, namely negative control given paracetamol of 1.95 mg/g bw, positive control given paracetamol of 1.95 mg/g bw and vitamin C at a dose of 0.065 mg/g bw. , treatments 1, 2 and 3 were given paracetamol in a dose of 1.95 mg/g bw and clove leaf extract in a graded dose of 0.7 mg/g bw, 1.4 mg/g bw, and 2.8 mg/g bw orally for 14 days. Data analysis used One-Way Anova followed by Post-Hoc LSD. This research shows that the clove leaf extract positively contains phenolic compounds, flavonoids, and tannins identified through color testing and TLC. Beside that, there is the effect of clove leaf extract on the number of Leydig cells of male mice induced by toxic dose of paracetamol, with a significance value or p-value. = 0.000 (significantly different). Based on the results, it can be concluded that clove leaf extract (*Syzygium aromaticum* L.) which contains phenolic, flavonoids, and tannins has an effect on the number of Leydig cells in male mice induced by toxic doses of paracetamol.

Keyword: clove leaf (*Syzygium Aromaticum* L.), paracetamol, Leydig cell

مستخلص البحث

كيسوانتي، أم، ٢٠٢١، تأثير خلاصة أوراق القرنفل (*Syzygium aromaticum L*) على عدد خلايا لايديج ذكور الفئران المستحثة من الباراسيتامول بالجرعة السامة. بحث جامعي، قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة الدولة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج، المشرفة الأولى: سبتي ميمونة، الماجستير. المشرفة الثانية: ميلينا راتنا ديانتي، الماجستير.

الباراسيتامول دواء مسكن وخافض للحرارة وغالبًا ما يستخدم ومتاح بسهولة، يمكن أن يؤدي الاستخدام المفرط للباراسيتامول (السام) إلى زيادة مستويات الجذور الحرة *N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI)* في الجسم نتيجة من عملية التمثيل الغذائي في القلب والتي يتم توزيعها بعد ذلك عبر مجرى الدم، هذا له تأثير سلبي على الأعضاء التناسلية الذكرية التي تتميز بانخفاض عدد خلايا لايديج التي تلعب دورا في تكوين الحيوانات المنوية، تحتوي أوراق القرنفل (*Syzygium aromaticum L*) على مركبات الفينول والفلافونويد والعفص التي لديها القدرة كمضادات أكسدة طبيعية لدرء الجذور الحرة عن طريق التبرع بالإلكترونات. كان الغرض من هذا البحث هو معرفة محتوى المركبات الفينولية والفلافونويد والعفص في مستخلص أوراق القرنفل (*Syzygium aromaticum L*) من خلال اختبارات التفاعل اللوني و KLT ومعرفة تأثيرها على عدد خلايا لايديج ذكور الفئران، جرعات سامة من الباراسيتامول، كان هذا البحث باستخدام طريقة اختبار الآخر التجريبي الحقيقي فقط تصميم مجموعة التحكم والذي ينقسم إلى خمس المجموعات، أي التحكم السلبي المعطى للباراسيتامول عند ١،٩٥ ملليغرام / جيجا بايت، والتحكم الإيجابي مع إعطاء الباراسيتامول عند ١،٩٥ ملليغرام / جيجا بايت وفيتامين C بجرعة ٠،٠٦٥ ملليغرام / جيجا بايت، تم إعطاء العلاجات ١ و ٢ و ٣ الباراسيتامول بجرعة ١،٩٥ ملليغرام / جيجا بايت وخلاصة أوراق القرنفل بجرعة متدرجة ٠،٧ ملليغرام / جيجا بايت و ١،٤ ملليغرام / جيجا بايت و ٢،٨ ملليغرام / جيجا بايت عن طريق الفم لمدة ١٤ يوما. كان تحليل البيانات باستخدام *One-Way Anova* متبوعًا بـ *Post-Hoc LSD*، تشير النتائج من هذا البحث أن مستخلص أوراق القرنفل يحتوي بشكل إيجابي على المركبات الفينولية والفلافونويد والعفص التي تم التعرف عليها من خلال اختبار اللون و KLT وهناك تأثير لمستخلص أوراق القرنفل على عدد خلايا لايديج لدى ذكور الفئران الناتجة عن السمية، جرعة من الباراسيتامول، بقيمة الدلالة أو قيمة $p = 000,0$ (مختلفة بشكل كبير).

الكلمات الرئيسية: أوراق القرنفل (*Syzygium Aromaticum L*)، باراسيتامول، خلايا لايديج.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Manusia tumbuh dan berkembang disertai dengan berbagai macam gejala penyakit yang tidak bisa lepas dari kehidupan. Gejala penyakit yang paling sering ditemukan, yaitu demam dan nyeri. Demam ditandai dengan meningkatnya suhu tubuh melebihi variasi normal, disebabkan karena peningkatan *set point* hipotalamik (Corwin, 2000). Sedangkan nyeri menurut *American Medical Association* (2013) merupakan pengalaman sensori dan emosional yang tidak menyenangkan akibat dari kerusakan jaringan yang aktual ataupun potensial. Demam dan nyeri merupakan alasan seseorang untuk melakukan pengobatan.

Salah satu obat untuk mengatasi gejala tersebut adalah obat golongan NSAID. NSAID (*Non Steroidal Anti-inflammatory Drugs*) atau disebut juga dengan obat AINS (*Antiinflamasi Non-Steroid*) merupakan suatu golongan obat yang memiliki khasiat meredakan peradangan (antiinflamasi), pereda nyeri (analgesik), dan penurun panas (antipiretik). Istilah “non-steroid” digunakan untuk membedakan jenis obat-obatan ini dengan steroid yang juga memiliki khasiat serupa (Wahyuni, 2019). Adapun inflamasi atau peradangan merupakan salah satu respon utama dari sistem kekebalan tubuh terhadap infeksi atau iritasi yang ditandai dengan tumor (bengkak), kolor (panas), dolor (nyeri), rubor (merah), dan *functio laesa* (disfungsi organ atau jaringan) (Ramadhani dkk, 2016).

Parasetamol atau asetaminofen adalah obat golongan NSAID analgetik non narkotik yang mekanisme kerjanya menghambat sintesis prostaglandin terutama di sistem saraf pusat (SSP). Parasetamol merupakan inhibitor non selektif *cyclooxygenase* (COX) yang dapat menghambat enzim COX 1 dan COX 2. Obat ini digunakan secara luas baik di Indonesia maupun di dunia dalam sediaan tunggal sebagai obat pilihan pertama untuk pereda nyeri dan penurun panas. Selain itu parasetamol sering dikombinasikan dengan obat lain untuk terapi flu. Parasetamol dapat diperoleh melalui resep maupun dijual bebas di apotek atau toko obat (Lusiana, 2002).

Penggunaan parasetamol di masyarakat cukup besar karena parasetamol dianggap aman digunakan bagi anak – anak maupun orang dewasa untuk meredakan panas dan nyeri ringan seperti sakit kepala maupun nyeri otot (Rafita dkk., 2015). Menurut penelitian Qomarrudin dkk (2019) penggunaan parasetamol sebagai antipiretik dalam swamedikasi cukup besar, yaitu sebanyak 88%, ibuprofen 2%, dan kombinasi keduanya sebanyak 10%. Pada penelitian Halim, dkk (2018) menyebutkan bahwa jenis obat analgesik yang paling banyak digunakan untuk swamedikasi, yaitu parasetamol sebesar 31,56%, asam mefenamat 28,44%, kalium diklofenak 12,89%, natrium diklofenak 12,00%, metampiron 11,56%, ibuprofen 7,11%, deksametason 4,00%, piroxicam 3,11% dan metilprednisolon 2,22%. Selain itu, parasetamol merupakan obat pilihan pertama dan paling banyak digunakan oleh jamaah haji sebagai terapi analgesik yaitu sebanyak 72,79%. Hal ini dikarenakan aktivitas jamaah haji yang begitu padat sehingga menimbulkan

nyeri dan kelelahan (Winarsih dan Mutiatikum, 2013). Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa parasetamol merupakan obat yang banyak digunakan sebagai terapi antipiretik maupun analgesik karena relatif murah dan mudah didapatkan.

Kemudahan dalam mendapatkan obat ini dapat memicu terjadinya resiko penyalahgunaan parasetamol dan overdosis meningkat (Apparavoo, 2012). Selain itu, kurangnya pengetahuan masyarakat tentang penggunaan obat swamedikasi, kesalahan konsep dalam manajemen penyakit serta timbulnya kepanikan saat pemberian obat akan meningkatkan kesalahan dalam pemberian dosis (Oktaviana, 2017; Surya, 2018). Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) menyebutkan bahwa jumlah kasus keracunan akibat parasetamol di Indonesia sejak tahun 2002-2005 yang dilaporkan ke sentra informasi keracunan BPOM sebanyak 201 kasus. Kasus overdosis parasetamol ini meningkat setiap tahunnya (BPOM RI, 2006).

Menurut *Food and Drug Administration* (FDA), penggunaan parasetamol untuk dewasa dan anak yang lebih dari 12 tahun maksimal 4g/hari. Konsumsi parasetamol dosis toksik sebesar 15 gram akan menyebabkan kerusakan organ. Toksisitas juga dapat terjadi pada pemberian dosis yang lebih kecil berulang kali dalam 24 jam atau pemberian jangka panjang dengan dosis 4g/ hari (Wilmana dan Sulistia, 2011).

Penggunaan parasetamol secara berlebihan dan tidak sesuai dengan aturan dapat menyebabkan peningkatan efek samping. Penelitian terbaru tentang efek samping parasetamol menunjukkan bahwa penggunaan dalam

jangka waktu lama dan atau dosis berlebih dapat menginduksi kerusakan organ reproduksi pria. Studi eksperimental baik secara in-vivo maupun in-vitro, menunjukkan bahwa efek parasetamol mempengaruhi fungsi sel Leydig di testis terutama dalam produksi hormon *testosterone* (Gonzales dan Rod, 2017). Gangguan pada hormon testosterone mengganggu spermatogenesis, sehingga dapat mengakibatkan infertilitas pada pria. Menurut data dari KEMENKES RI tahun 2019 menyatakan bahwa 25-40% kejadian infertilitas, penyebab utamanya adalah adanya gangguan pada organ reproduksi pria.

Sebagian kecil parasetamol dalam tubuh dimetabolisme oleh hati pada sitokrom P-450 menjadi produk radikal bebas NAPQI (*N-acetyl-p-benzoquinoneimine*). Atom karbon pada struktur cincin benzena milik NAPQI mempunyai sifat elektrofil (kekurangan elektron) sehingga mempunyai muatan lebih positif. Sifat tersebut harus dikongjugasi dengan senyawa nukleofil (kelebihan elektron) seperti *glutathione* (GSH) pada hepar. *Glutathione* memiliki atom S di gugus disulfida yang berperan sebagai nukleofil dengan membagikan elektronnya ke NAPQI sehingga membentuk senyawa dengan ikatan ireversibel (Fessenden, 2006). Penggunaan parasetamol yang tidak sesuai akan menyebabkan produk radikal bebas NAPQI meningkat sehingga *glutathione* tidak mampu memenuhi kebutuhan untuk berkonjugasi. Radikal bebas dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan akan berinteraksi secara destruktif melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel-sel tertentu yang tersusun atas lemak, protein, karbohidrat, DNA, dan RNA sehingga memicu berbagai penyakit (Rosahdi dkk, 2013).

Radikal bebas NAPQI pada organ reproduksi dapat menyebabkan atrofi testis, oligospermia dan menurunkan kemampuan reproduksi pria yang diakibatkan dari terjadinya penurunan spermatogenesis, morfologi sperma yang rusak dan apoptosis sel. Sistem metabolit oksidatif di testis lebih rendah dibandingkan dengan hati, sehingga radikal bebas dengan mudah berikatan dengan sel-sel di testis, salah satunya yaitu sel Leydig (Luangpirom dkk, 2012). Sel Leydig testis memiliki peran penting pada hormon sistem reproduksi serta bertanggung jawab atas perkembangan organ vas deferens dan duktus-duktus lain, perkembangan struktur reproduksi eksternal dan reproduksi spermatozoa (Campbell, 2004). Selain itu, parasetamol diketahui merupakan agen anti-androgenik, yaitu zat yang dapat menurunkan androgen. Androgen merupakan hormon steroid yang sebagian besar dihasilkan oleh sel-sel Leydig. Jika fungsi androgen mengalami gangguan maka proses produksi spermatozoa pun akan terganggu dan menyebabkan jumlah spermatozoa yang dihasilkan dari spermatogenesis menurun (Sari dkk, 2019).

Al-Qur`an menyebutkan bahwa tumbuh-tumbuhan diciptakan oleh Allah SWT berjenis-jenis dan bermacam-macam dalam surah Thaha ayat 53 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ۝

Artinya: "Yang telah menjadikanmu bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikanmu dibumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam" (QS. 20 Thaaha: 53).

Berdasarkan Tafsir Al-Misbah ayat tersebut menjelaskan adanya perantara hujan dapat diciptakan berbagai macam tumbuhan baik jenis, bentuk, warna, rasa, bau, maupun manfaatnya. Hal ini menjadi bentuk hidayah yang diberikan Allah SWT kepada seluruh makhluk hidup-Nya. Hidayah ini menjadi salah satu bukti betapa Maha Agung-Nya, sehingga seluruh makhluk hidup dapat merasakan manfaat dari segala sesuatu yang ada di bumi (Shihab, 2012).

Cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) banyak ditemukan di Indonesia dan merupakan salah satu tanaman rempah yang banyak dimanfaatkan dalam industri obat – obatan, makanan, dan rokok (Sidabutar dkk, 2016). Pemanfaatan tanaman cengkeh sebagian besar hanya mencakup bagian bunganya saja sedangkan bagian daun dianggap sebagai limbah. Padahal daun cengkeh merupakan bahan obat yang potensial baik dari segi medis maupun ekonomi, karena menurut penelitian Rorong (2008) kandungan senyawa fenolik yang dimiliki oleh daun cengkeh cukup tinggi yaitu sebesar 70-80%. Selain itu, daun cengkeh juga mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan tanin yang juga telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan (Rorong, 2008).

Pemanfaatan ekstrak daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) diharapkan dapat dikembangkan menjadi suplemen antioksidan sebagai pencegahan penyakit akibat penurunan atau gangguan fungsi organ, khususnya organ reproduksi. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun cengkeh

(*Syzygium aromaticum* L.) sebagai antioksidan terhadap organ reproduksi pria yang dilihat dari jumlah sel Leydig mencit jantan galur Balb/c yang diberikan parasetamol dosis toksik. Sehingga pemanfaatan bahan alam khususnya daun cengkeh sebagai bahan obat lebih optimal dan bermanfaat bagi masyarakat.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Apakah ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin jika diuji menggunakan uji warna dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)?
2. Apakah terdapat pengaruh ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang telah diinduksi parasetamol dosis toksik?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui adanya senyawa fenol, flavonoid, dan tanin pada ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) melalui uji reaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).
2. Mengetahui adanya pengaruh ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang telah diinduksi parasetamol dosis toksik.

2.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Secara Teoritis

Manfaat secara teoritis pada penelitian ini meliputi:

1. Sarana aplikasi dan penerapan disiplin ilmu di bidang farmasi dan kesehatan dalam pemanfaatan ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) sebagai upaya preventif yang dapat mengurangi efek samping dari konsumsi parasetamol secara berlebihan.
2. Hasil penelitian yang didapatkan bisa dijadikan bahan pembanding atau sebagai dasar penelitian selanjutnya.

1.4.2. Manfaat Secara Praktis

Manfaat secara praktis yaitu ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dapat digunakan sebagai salah satu upaya preventif untuk mengurangi efek samping dari konsumsi parasetamol secara berlebihan.

1.5. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) diperoleh dari Materia Medika, Kota Batu.
2. Ekstraksi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dilakukan dengan metode *Ultrasonic Assiated Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96%.

3. Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) diberikan kepada mencit secara peroral menggunakan sonde.
4. Sediaan parasetamol yang digunakan adalah tablet 500 mg generik berasal dari PT. Mersi.
5. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c, berjenis kelamin jantan, umur 3-4 bulan, dan berat 20 – 30 gram.
6. Kandungan senyawa antoksidan dalam ekstrak diuji menggunakan uji warna dan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Cengkeh

2.1.1. Klasifikasi Tumbuhan Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

Menurut Suwanto dkk. (2014), klasifikasi ilmiah cengkeh adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Syzygium*
Spesies : *Syzygium aromaticum* L.



Gambar 2. 1 Tumbuhan Cengkeh (RimbaKita.com)

2.1.2. Sinonim dan Nama Lokal Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

Sinonim cengkeh antara lain *Syzygium aromaticum* L., *Eugenia caryophyllata*, *Eugenia aromatic*, *Caryophyllus aromaticus*, *Jambosa caryophyllus*, *Jambos carryophyllus*. Sedangkan nama lokal tanaman cengkeh di Indonesia yaitu cengkeh (Indonesia, Jawa, Sunda), cengke (Bugis), cangkih (Lampung), canke (Ujung Pandang), wunga lawang (Bali), bungeu lawang (Gayo), Gomode (Halmahera, Tidore), Sinke (Flores), Sake (Nias) (Haditomo, 2010).

2.1.3. Morfologi Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat memiliki batang pohon besar dan berkayu keras. Tumbuhan cengkeh mampu bertahan hidup puluhan bahkan sampai ratusan tahun. Tinggi pohon cengkeh dapat mencapai 20-30 meter dan memiliki cabang yang cukup lebat. Warna daun hijau muda atau coklat muda saat masih muda dan berwarna hijau tua ketika sudah tua serta permukaan atas daunnya mengkilap. Panjang daun 6-13,5 cm dan lebarnya 2,5-5 cm. Berdaun tunggal, kaku, tebal, berbentuk bulat telur sampai lanset memanjang. Ujung (apeks) daun runcing, pangkal daun meruncing, tepi daun rata, dan tulang daun menyirip (Diego dkk, 2014).

Bunga dan buah cengkeh terdapat pada ujung ranting daun, dengan tangkai pendek serta bertandan. Saat masih muda bunga cengkeh berwarna keungu-unguan, kemudian berubah kuning kehijauan dan menjadi merah muda apabila sudah tua. Sedangkan bunga cengkeh kering berwarna coklat kehitaman dan rasanya pedas karena kandungan minyak atsirinya (Prianto dkk, 2013). Perbanyakan tanaman dapat dilakukan secara vegetatif dan generatif. Cengkeh tumbuh baik di daerah tropis dengan ketinggian 600 sampai 1.100 meter di atas permukaan laut (dpl) di tanah yang berdrainase baik (Thomas, 2007).

2.1.4. Kandungan Senyawa Antioksidan Daun Cengkeh

Kandungan senyawa aktif dalam tanaman cengkeh antara lain terpenoid (Bhuiyan dkk, 2010), alkaloid, asam amino, flavonoid, protein,

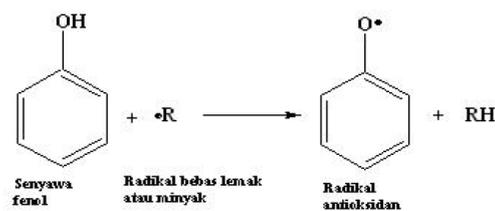
sterol, gula dan tanin (Anas dkk, 2013). Pemisahan kandungan kimia dari bunga, tangkai, dan daun cengkeh yang dilakukan Talahatu dkk. (2015), menunjukkan bahwa terdapat kandungan saponin, tanin, alkaloid, glikosida, flavonoid dan minyak atsiri (1-4%) yang dapat dimanfaatkan sebagai obat.

Daun cengkeh mengandung tanin, flavonoid yang diketahui memiliki khasiat sebagai antioksidan (Rorong, 2008). Senyawa tanin berfungsi sebagai antioksidan sekunder karena tanin memiliki kemampuan mengkelat ion besi dan memperlambat proses oksidasi (Fithriani dkk, 2015). Sedangkan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai kemampuan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga terjadi reaksi netralisasi (Syarif dkk, 2015). Selain itu flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan tidak langsung, yaitu dengan cara meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen, contohnya mengaktifasi *nuclear factor-erythroid-2 related factor 2* (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen seperti SOD (*superoxide dismutase*) (Kusuma, 2015).

Kandungan minyak atsiri dan senyawa fenolik dalam daun cengkeh juga dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Beberapa senyawa fenolik yang terkandung dalam daun cengkeh yaitu eugenol ($C_{18}H_{12}O_3$), asetil eugenol, a dan b kariofelin, eugenia (isomer eugenol), vanillin, asam galotanin (Mu`nisa dkk, 2012) dan seskuiterpen (Rorong, 2008). Fenol tanaman merupakan salah satu kelompok terbesar yang berperan sebagai senyawa antioksidan, terdapat baik pada daun, bunga, maupun pada akar

(Pourmorad dkk, 2006). Komponen fenolik eugenol pada daun cengkeh cukup tinggi yaitu sebesar 70-80%. Kadar ini dapat diperoleh pada ekstraksi daun muda maupun tua (Sukirawati, 2020). Aktivitas antioksidan eugenol memiliki efek yang sama dengan α -tokoferol dalam menghambat peroksidasi lipid serta oksidasi LDL dan VLDL (Mu`nisa dkk, 2012).

Fenol merupakan senyawa yang terikat pada cincin aromatik dan satu gugus hidroksil (Fessenden, 1986). Mekanisme antioksidan dari senyawa fenol adalah dengan cara mereduksi radikal bebas pada gugus hidroksi (Zuraida dkk, 2017), peredam terbentuknya oksigen singlet, pengkelat logam, dan pendonor elektron (Gazali dkk, 2019). Radikal bebas yang berikatan dengan antioksidan bersifat lebih stabil (tidak reaktif) dibandingkan dengan radikal bebas yang tidak berikatan. Hal ini disebabkan radikal bebas yang berikatan dengan antioksidan dari golongan fenol terstabilkan secara resonansi. Selain itu, radikal bebas antioksidan juga dapat bereaksi dengan radikal bebas lemak atau minyak lain sehingga menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas lemak atau minyak yang teroksidasi. Kemampuan senyawa fenol untuk bereaksi dengan radikal bebas lemak atau dengan radikal bebas peroksi ditunjukkan oleh reaksi seperti berikut (Anwar, 2008):



Gambar 2. 2 Reaksi senyawa fenol dengan radikal bebas (Anwar, 2008)

2.2. Tumbuhan dalam Al-Qur`an

Allah menciptakan tumbuhan beragam jenis, bentuk, bau, warna, dan manfaatnya serta ditumbuhkan-Nya dalam bumi. Keanekaragaman ini memiliki hikmah dan tujuan tersendiri (Rossidy, 2008). Firman Allah dalam Al-Qur`an Surah Az-Zummar ayat 21 berbunyi:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا
أَلْوَانَهُ ثُمَّ يَهْبِجُ فَتَرْهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَبْصَارِ ۝

Artinya: "Apakah engkau tidak memperhatikan, bahwa Allah menurunkan air dari langit, lalu diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi, kemudian dengan air itu ditumbuhkan-Nya tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, kemudian menjadi kering, lalu engkau melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sungguh, pada yang demikian itu terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal sehat."

Ayat di atas menjelaskan tentang firman Allah SWT, Wahai Rasul dan kalian semua, tidakkah kalian saksikan bahwa Allah SWT menurunkan air hujan dari awan, lalu air itu diresapkan ke dalam bumi dan mengendap di dalamnya. Dari air hujan yang meresap ke dalam bumi, Allah SWT mengeluarkan mata air yang memancar. Dengan air tersebut, bumi disirami dan Allah SWT menumbuhkan tanaman beragam jenis dan varietas serta beragam warnanya (Wahbah, 1991). Turunnya hujan sebagai perantara tumbuhnya tumbuhan juga terdapat dalam surah Thaaha:53, bahwa Allah menurunkan hujan dari langit dan ditumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis tumbuhan. Hal ini menunjukkan kesempurnaan kekuasaan dan hikmah Allah (Shihab, 2012).

Imam Ibnu Katsir telah menyampaikan maksud dari kata tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya yaitu bermacam-macam rasa, bau, bentuk, dan manfaatnya, tidak hanya terbatas pada macam warnanya saja. Hal ini berarti bahwa apapun yang Allah SWT tumbuhkan memiliki manfaat (Muhammad, 2008).

2.3. Antioksidan

2.3.1. Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam dan tidak menyebabkan kerusakan pada sel maupun jaringan (Faramayudakkk, 2013; Indrawati dkk, 2018). Secara kimia, pengertian dari senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*). Sedangkan secara biologis antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang mampu meredam atau menangkal dampak negatif dari oksidan (*Reactive Oxygen Species*) dalam tubuh (Winarsi, 2007; Halliwell dan Gutteridge, 2015).

Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan kondisi dimana terjadi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan dalam orbitalnya, sehingga sifatnya sangat reaktif dan mampu merusak sel dan jaringan dengan cara mengoksidasi molekul di sekitarnya yang mengandung lipid, protein, DNA, dan karbohidrat. Senyawa

antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, hal ini membuat radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan sehingga molekul lain dalam sel terlindungi dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Werdhasari, 2014).

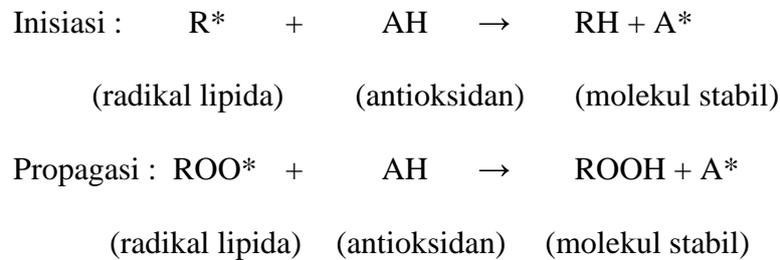
2.3.2. Mekanisme Antioksidan

Mekanisme penghambatan dari antioksidan biasanya terjadi pada reaksi inisiasi atau propagasi (Zheng dan Wang, 2009). Menurut Siagian (2002), mekanisme antioksidan dalam melindungi sel atau jaringan sebagai berikut:

- a. *Scavenge* atau memusnahkan radikal bebas baik secara enzimatik maupun dengan reaksi kimia langsung
- b. Mengurangi pembentukan radikal bebas langsung
- c. Mengikat ion logam yang terlibat dalam reaksi pembentukan spesies reaktif
- d. Memperbaiki kerusakan sasaran
- e. Menghancurkan molekul yang telah rusak dan menggantinya dengan baru

Mekanisme antioksidan yang paling sering terjadi adalah dengan cara berikatan langsung dengan radikal bebas. Antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas (R^* , ROO^*) dan mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil RH . Hasil dari reaksi tersebut terbentuk turunan radikal antioksidan (A^*) yang memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula. Reaksi penghambatan antioksidan terhadap

radikal lipid mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut (Yuswantina, 2009) :



2.3.3. Sumber Antioksidan

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok, yaitu (Werdhasari, 2014):

a. Antioksidan Endogen

Antioksidan endogen merupakan enzim-enzim dalam tubuh yang bersifat antioksidan, seperti: Katalase (Cat), Superoksida Dismutase (SOD), dan *glutathione peroksidase* (Gpx).

b. Antioksidan Eksogen

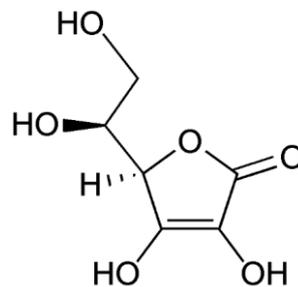
Antioksidan eksogen yaitu antioksidan yang didapat dari luar tubuh, biasanya terdapat pada makanan. Bahan aktif yang memiliki khasiat antioksidan antara lain vitamin C, vitamin E, pro vitamin A, *α-tocopherol*, *phycocyanin*, *thymoquinone*, organosulfur, flavonoid, niasin, statin, dan lain-lain.

Selain itu, menurut Gordon (1990), sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis dan alami. Antioksidan sintetis merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Sedangkan antioksidan alami adalah antioksidan yang

diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alam. Senyawa alami tumbuhan yang bermanfaat sebagai antioksidan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenol yang dapat berupa golongan flavonoid, tokoferol, turunan asam sinamat, dan asam-asam organik polifungsional.

2.4. Vitamin C

Vitamin C (*L*-asam askorbat) adalah antioksidan non enzimatis yang larut dalam air. Senyawa ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma sel yang pertama kali diisolasi oleh *Szent Gyorgyi* pada tahun 1928 (Kembuan dkk, 2012). Adapun struktur dari vitamin C sebagai berikut:



Gambar 2. 3 Struktur vitamin C (Steinberg dan Rucker, 2004)

Nama kimia vitamin C yaitu asam askorbat. Dalam keadaan kering vitamin C cukup stabil, tapi dalam keadaan larut, vitamin ini mudah mengalami oksidasi terutama bila terkena panas. Kemudahan oksidasi baik oleh panas, cahaya, dan logam, membuat vitamin C masuk dalam golongan antioksidan (Pakaya, 2014).

Vitamin C diabsorpsi melalui usus halus secara difusi lalu masuk ke peredaran darah melalui vena porta untuk selanjutnya didistribusikan ke seluruh tubuh. Eliminasi vitamin C terjadi setelah ekskresi ginjal dan

dikeluarkan melalui urin. Apabila kadar dalam darah melewati ambang rangsang ginjal, yaitu 1,4 mg%, maka urin akan diekskresikan dalam bentuk garam sulfatnya (Pakaya, 2014).

Antioksidan vitamin C mempunyai sifat kelarutan yang tinggi dalam air (hidrofilik), sehingga dapat bekerja dalam cairan ekstraseluler maupun intraseluler. Secara ekstraseluler vitamin C bekerja dengan menangkap radikal bebas yang lolos dari proses fagositosis (Zulfiani, 2013). Selain itu, vitamin C dapat mereduksi hidrogen peroksida, superoksida, radikal hidroksida dan oksigen reaktif lain yang dapat muncul baik secara ekstraselular dan intraselular (Pakaya, 2014).

Kebutuhan harian vitamin C atau biasa dikenal dengan RDA (*Recommended Dietary Allowance*) adalah sebesar 60 mg atau setara dengan sebuah jeruk. Cadangan sebesar 1500 mg merupakan jumlah maksimum vitamin C yang dapat dimetabolisme di jaringan tubuh. Berdasarkan jumlah tersebut *turn over* vitamin C diperkirakan sebesar 60 mg/hari. Kebutuhan vitamin C dan dapat meningkat 300%-500% pada penyakit infeksi, hipertiroid, penyakit neoplasma, pasien pasca bedah atau trauma, kehamilan dan laktasi maupun sebagai antioksidan (Pakaya, 2014).

2.5. Radikal Bebas

2.5.1. Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) atau sering juga disebut *reactive oxygen species* (ROS) berasal dari bahasa latin *radicalis* merupakan bahan kimia

yang dapat berupa atom maupun molekul yang tidak memiliki elektron berpasangan pada lapisan luarnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan memiliki waktu paruh yang sangat cepat. Radikal bebas cepat bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk mendapatkan elektron berpasangan (Sjamsul, 2012). Jika radikal bebas tidak diinaktivasi, reaktivitasnya dapat merusak seluruh tipe makromolekul seluler, termasuk karbohidrat, protein, lipid dan asam nukleat sehingga dapat menimbulkan penyakit degeneratif (Dawn dkk, 2000; Wahdaningsih dkk, 2011).

2.5.2. Mekanisme Radikal Bebas

Sel secara rutin menghasilkan radikal bebas dan kelompok oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ ROS*) yang merupakan bagian dari proses metabolisme. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital. Untuk mencapai stabilitas kimianya, radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu lama dan harus segera berikatan dengan molekul lain. Radikal bebas akan berikatan dengan molekul stabil terdekat dengan mengambil elektron dari molekul tersebut. Zat yang terambil elektronnya akan menjadi radikal bebas juga sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi kerusakan sel (Sinaga, 2016).

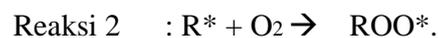
Pembentukan reaksi berantai radikal bebas dibagi menjadi tiga proses tahapan sebagai berikut (Winarsi, 2007):

- a. Tahapan Inisiasi, merupakan tahap awal dalam pembentukan radikal bebas, dengan cara suatu senyawa kehilangan satu atom H.

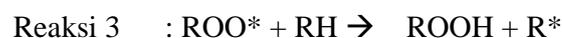


- b. Tahapan Propagasi, merupakan tahapan pemanjangan rantai radikal.

Radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk peroksi.



- c. Tahapan Terminasi, radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru.



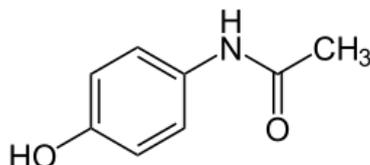
2.5.3. Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas dalam tubuh manusia berasal dari dua sumber, yaitu endogen dan eksogen. Sumber radikal bebas endogen berasal dari respirasi sel dan hasil samping proses metabolik tubuh. Ketika proses respirasi sel, terjadi transfer elektron yang berturut-turut, oksigen kehilangan elektronnya sehingga jumlah elektron pada oksigen ganjil. Beberapa enzim seperti *xanthine oxidase*, *nitric oxide synthetase*, *p450 cytochromes* dan organel seperti mitokondria serta piroksisom menghasilkan ROS sebagai produk samping proses metabolik tubuh (Halliwell dan Gutteridge, 2015). Sumber radikal bebas eksogen berasal dari polusi, alkohol, asap rokok, bahan metalik, bahan industri, pestisida dan beberapa obat seperti halotan, parasetamol, dan radiasi (Phaniendra dan Periyasamy, 2015).

2.6. Parasetamol

Parasetamol atau asetaminofen merupakan derivat dari para amino fenol yaitu fenasetin dengan khasiat antipiretik yang sama. Efek antipiretik ini disebabkan oleh gugus aminobenzen. Selain itu, parasetamol memiliki

khasiat sebagai analgesik dan antinflamasi, meskipun untuk efek antiinflamasinya lemah sekali (Bertolini dkk, 2006). Parasetamol memiliki berat molekul 151,16 g/mol dan memiliki struktur sebagai berikut (Sari, 2019):



Gambar 2. 4 Stuktur Parasetamol (Sari, 2019)

2.6.1. Farmakologi Parasetamol

Parasetamol atau asetaminofen adalah obat golongan NSAID analgetik non narkotik dengan cara kerja menghambat sintesis prostaglandin terutama di Sistem Syaraf Pusat (SSP). Parasetamol merupakan inhibitor non selektif *cyclooxygenase* (COX) yang dapat menghambat enzim COX 1 dan COX 2 (Lusiana, 2002). Hal ini membuat parasetamol mampu mengurangi rasa sakit dan dapat menurunkan demam (Graham dkk, 2013).

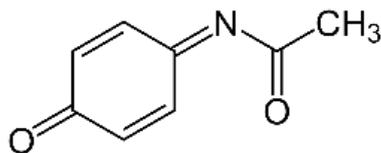
2.6.2. Farmakodinamik

Ditinjau dari aspek farmakodinamik, efek analgesik dan antipiretik dari parasetamol merupakan efek sentral, yaitu dengan menghambat sintesis prostaglandin di sistem saraf pusat (SSP). Penghambatan sintesis prostaglandin ini terjadi karena penghambatan proses perubahan asam arakidonat oleh enzim siklooksigenasi (Marta & Jerzy, 2014). Efek antiinflamasi parasetamol yang lemah berkaitan dengan mekanisme lemahnya inhibisi siklooksigenase (Martin dkk, 2007; Lacy, 2012).

2.6.3. Farmakokinetik

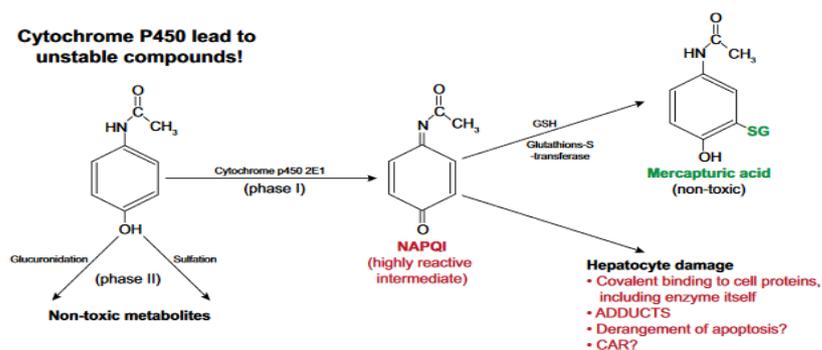
Secara farmakokinetik, parasetamol diabsorpsi dengan baik setelah pemberian oral. Konsentrasi puncak plasma dicapai dalam waktu 10-60 menit atau 60-120 menit untuk formulasi tablet lepas lambat. Parasetamol didistribusikan melalui aliran darah ke jaringan tubuh. Parasetamol diketahui mampu melewati plasenta dan dapat terdistribusi melalui ASI (Martin dkk, 2007). Sekitar 25 % parasetamol terikat dengan protein plasma dan sebagian dimetabolisme oleh enzim mikrosom hati. Selanjutnya diubah menjadi molekul inaktif secara farmakologi menjadi asetaminofen sulfat dan glukoronida (Katzung, 1997). Molekul inaktif tersebut kemudian diekskresikan oleh ginjal melalui urine. Waktu paruh parasetamol 2-3 jam dan relatif tidak dipengaruhi oleh fungsi ginjal. Waktu paruh ini dapat meningkat dua kali lipat atau lebih jika parasetamol dalam tubuh dalam kadar toksik atau pada penderita gangguan hati (Harvey dan Champe, 2013).

Sejumlah kecil parasetamol (5-10%) mengalami proses *N*-hidroksilasi yang diperantarai sitokrom P450, terutama pada jalur CYP2E1 dan CYP3A4, menjadi metabolit toksik *N*-asetil-*p*-benzoquinoneimine (NAPQI). Pada situasi normal, NAPQI dapat didetoksifikasi oleh glutathione dengan membentuk ikatan. NAPQI bersifat sangat reaktif, sehingga dalam kadar yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan sel bahkan organ. NAPQI memiliki gugus imida (NCOCH_3) dan cincin benzen yang berikatan dengan atom karbon dan bersifat elektrofil. Adapun struktur dari NAPQI sebagai berikut (Marta, 2014):



Gambar 2. 5 Struktur NAPQI (Marta, 2014)

Metabolisme parasetamol di dalam hati terdapat 2 mekanisme, yaitu fase 1 melalui metabolisme sitokrom P450 yang menghasilkan metabolit NAPQI dan fase 2 melalui konjugasi glukoronidasi dan sulfasi yang menghasilkan metabolit non toksik yang selanjutnya akan diekskresikan melalui urin. Metabolit NAPQI hasil metabolisme dari fase 1 merupakan metabolit toksik yang bersifat oksidan. Terbentuknya senyawa NAPQI merupakan hasil dari dosis parasetamol yang tersisa dari reaksi terapeutik yang mengalami reaksi hidrosilasi untuk membentuk produk oksidatif yang sangat reaktif. Secara normal, NAPQI akan berikatan dengan *Gluthatione* (GSH) membentuk asam merkapturat dan dieliminasi ke dalam urin. Jika parasetamol dalam dosis toksik maka kadar GSH yang dihasilkan tidak mampu mengikat NAPQI (Ibrahim dkk, 2013; Pratiwi dan Sulistiana, 2018).



Gambar 2. 6 Metabolisme Parasetamol (Lee dan William, 2017)

Ikatan langsung antara NAPQI dan gugus nukleofilik pada makromolekul sel seperti protein dapat menyebabkan kematian sel atau nekrosis. NAPQI mengandung ion superoksida (O_2^-) atau radikal bebas oksigen yang merupakan oksidan bagi sel. Ion superoksida ini dapat bereaksi dengan nitrit oksida (NO) dan menghasilkan peroksinitrit ($ONOO^-$) yang mempunyai efek toksik pada sel. Selain itu, ion O_2^- pada NAPQI dapat saling berikatan membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2). Selanjutnya H_2O_2 melalui reaksi Fenton dan Haber Weiss akan membentuk radikal hidroksil (OH^-) yang dapat menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid pada sel (James dkk, 2013).

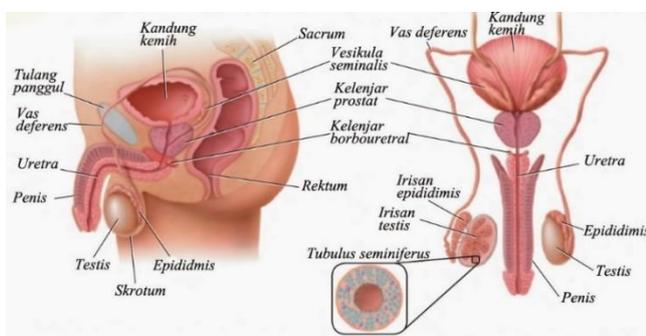
2.6.4. Dosis Parasetamol

Parasetamol dapat ditemukan dalam bentuk sediaan tablet, kaplet, maupun sirup. Dosis lazim parasetamol untuk dewasa adalah 300mg - 1g setiap kali minum, dengan dosis maksimal 4g per hari. Parasetamol dapat menimbulkan hepatotoksisitas pada dosis tunggal 10-15 g (200-250 mg/kgBB). Toksisitas dapat terjadi juga pada pemberian dosis yang lebih kecil berulang kali dalam 24 jam atau pemberian jangka panjang dengan dosis 4g/ hari (Wilmana dan Sulistia, 2011).

2.7. Organ Reproduksi Pria

Secara anatomi organ reproduksi pria terdiri atas testis atau gonad, saluran genital (epididimis dan vas deferens), kelenjar aksesoris (vesikula

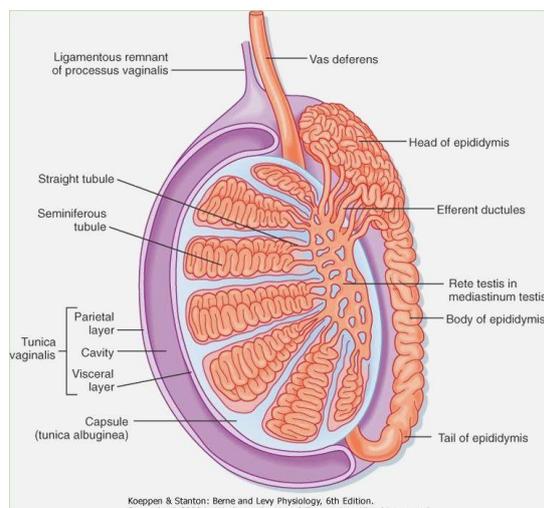
seminalis, kelenjar prostat, kelenjar burbouretral atau cowper), uretra, dan penis (Sherwood, 2014).



Gambar 2. 7 Anatomi Organ Reproduksi Pria (Sumber: edubio.info)

2.7.1. Testis

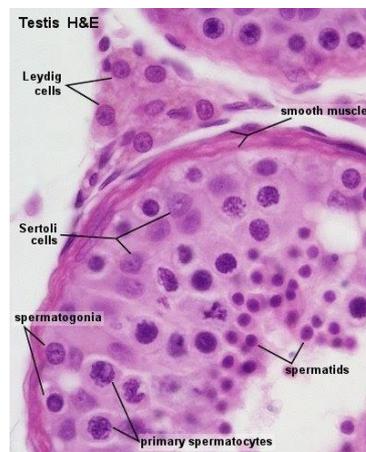
Testis merupakan organ reproduksi paling utama bagi pria karena menghasilkan gamet jantan (spermatozoa) dan hormon steroid (androgen) (Junquiera dkk, 1998). Dalam testis terjadi proses pembentukan dan pematangan sperma yang disebut dengan spermatogenesis (Hafez dkk, 2000). Spermatogenesis merupakan serangkaian tahapan mitosis dan meiosis dalam tubulus seminiferus yang mengubah spermatogonia menjadi spermatozoa dan dipengaruhi oleh hormon gonadotropin, yaitu *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) (Aulanni'am dkk, 2011).



Gambar 2. 8. Anatomi Testis (Berne dan Levy, 2018)

Testis terletak dalam skrotum dan dilindungi oleh membran luar yang disebut tunika vaginalis. Selanjutnya terdapat tunika albugenia yang membagi testis menjadi beberapa bagian yang disebut dengan lobulus. Dalam lobulus terdapat 1-4 tubulus seminiferus (Afifatunnisa, 2013). Diantara tubulus terdapat stroma interstitial yang terdiri atas sel Leydig dan sel Sertoli. Sel-sel Leydig menghasilkan hormon testosteron yang bertanggungjawab terhadap proses reproduksi dan perkembangan sifat kelamin sekunder. Sedangkan sel-sel Sertoli merupakan sel penyokong untuk metamorfosis spermatid menjadi sperma serta memberi nutrisi pada sperma. Tubulus seminiferus merupakan tempat dimana sperma diproduksi. Pada pangkal tubulus seminiferus terdapat tubulus rektus yang berfungsi sebagai penghubung tubulus seminiferus dengan rete testis. Rete testis kemudian disambungkan oleh duktus eferen ke duktus epididimis (Sherwood, 2014; Utami, 2015).

2.7.2. Histologi Testis



Gambar 2. 9. Histologi Testis (Mescher, 2012)

Proses terbentuknya spermatozoa dari sel-sel germinal (spermatogonium) berlangsung pada testis, lebih tepatnya pada tubulus seminiferus. Di dalam testis terdapat sekitar 250 lobulus yang dibagi oleh septa-septa fibrosa. Setiap testis memiliki 250-1000 tubulus seminiferus dengan diameter sekitar 150-250 μm . Panjang tubulus seminiferus dalam satu testis mencapai 250 meter (Utami, 2015).

Tubulus seminiferus dikelilingi oleh jaringan ikat longgar interstitial yang banyak mengandung pembuluh darah dan limfe, saraf, serta sel Leydig. Sel Leydig akan mensekresikan androgen testis yang digunakan untuk proses spermatogenesis pada tubulus seminiferus. Selnya berbentuk ovoid atau poligonal serta mempunyai sitoplasma eosinofilik. Banyaknya kolesterol pada sel ini, membuat warnanya sedikit pucat. Sel Leydig berfungsi menghasilkan testosteron dari respon terhadap *Lutenising Hormone* (LH) dari kelenjar pituitary (Dong dkk, 2007; Utami, 2015).

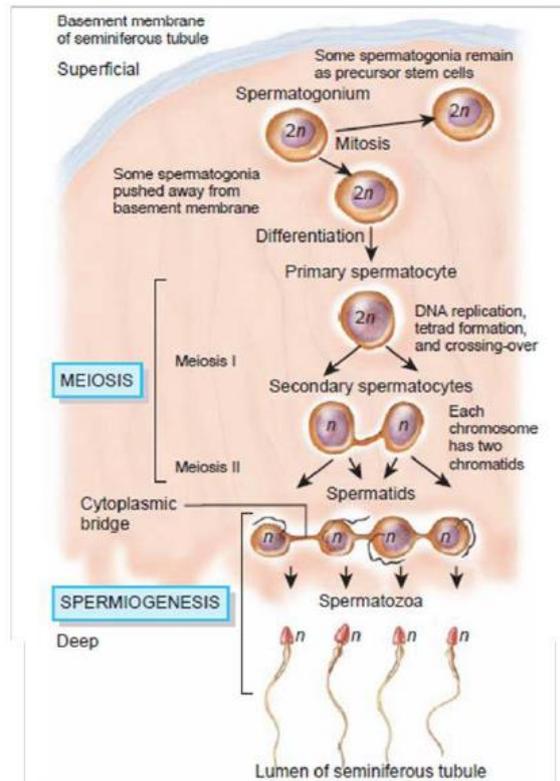
Setiap tubulus seminiferus dilapisi oleh suatu epitel berlapis khusus dan kompleks yang disebut epitel germinal (Utami, 2015). Epitel germinal terdiri atas 2 macam sel, yaitu sel-sel germinatif atau disebut juga sel spermatogona dan sel sertoli. Sel-sel epitel germinal sebagian akan berproliferasi untuk memperbanyak diri, sedangkan lainnya berdiferensiasi membentuk sel spermatogenik (spermatosit, spermatid, spermatozoa) (Yatim, 1996). Sel Sertoli sendiri mempunyai beberapa fungsi yang melibatkan *blood-testis barrier* sebagai penunjang, pelindung, dan nutrisi spermatozoa yang sedang berkembang (Mescher, 2012)

2.7.3. Spermatogenesis

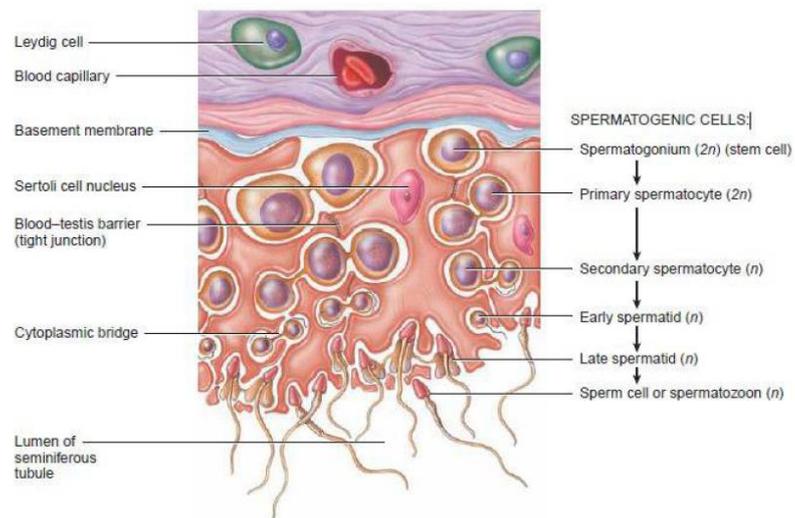
Spermatogenesis adalah proses dimana sel-sel spermatogonium menjalani meiosis, dan menghasilkan sejumlah sel yang disebut spermatozoa. Spermatogenesis terjadi di tubulus seminiferus akibat stimulasi dari hormon gonadotropik hipofisis anterior (Mescher, 2012). Menurut Junquiera, dkk dalam Istriyati dan Susilowati (2008) spermatogenesis merupakan serangkaian proses kompleks yang meliputi proliferasi, differensiasi dan pematangan sel-sel spermatogenik, jika terjadi hambatan pada satu tahap perkembangan akan mempengaruhi perkembangan selanjutnya.

Proses perkembangan spermatogonia menjadi spermatozoa (spermatogenesis) terjadi secara berulang pada tubulus seminiferus sehingga peristiwa ini disebut juga sebagai daur epitel seminifers. Secara umum spermatogenesis berlangsung melalui tiga fase, yaitu:

1. Spermatositogenesis, fase ini disebut juga dengan tahap proliferasi. Dalam fase ini terjadi pembelahan mitosis spermatogonium menghasilkan sel baru yang disebut dengan spermatosit primer (Yatim, 1996).
2. Meiosis, selama fase ini spermatosit primer mengalami dua kali pembelahan secara berurutan (meiosis I dan meiosis II) dengan mereduksi sampai setengah jumlah kromosom dan jumlah DNA per sel. Pada meiosis I menghasilkan spermatosit sekunder, selanjutnya spermatosit sekunder mengalami proses meiosis II dan menghasilkan spermatid (Junqueira dkk, 1998; Yatim, 1996).
3. Spermiogenesis, pada fase ini spermatid mengalami metamorfosis dan mengalami perubahan menjadi spermatozoa muda. Inti dari spermatid berada pada bagian anterior sel dekat perifer tubulus seminiferus dan jauh dari lumennya. Tahap ini disebut juga tahap transformasi, yaitu tahap perubahan bentuk dan komposisi spermatid dari bentuk bundar menjadi seperti kecebong yang memiliki kepala, leher, dan ekor serta memiliki kemampuan untuk bergerak (motil) (Salisbury, 1987; Yatim, 1996).



Gambar 2. 10. Fase Spermatogenesis (Tortora dan Derrickson, 2009)



Gambar 2. 11. Spermatogenesis pada Tubulus Seminiferus (Tortora dan Derrickson, 2009)

2.7.4. Hubungan Radikal Bebas dan Sel Leydig

Parasetamol aman digunakan dalam dosis terapeutik untuk terapi analgesik dan antipiretik. Namun, pada penggunaan berlebih atau dalam

penggunaan jangka panjang, parasetamol memiliki efek merugikan seperti hepatotoksisitas, perubahan struktur testis, dan penurunan kualitas sperma (Luangpirom dkk., 2012). Studi eksperimental baik secara *in-vivo* maupun *in-vitro*, menunjukkan bahwa efek parasetamol mempengaruhi fungsi sel Leydig di testis terutama dalam produksi hormon *testosterone* (Gonzales dan Rod, 2017).

Konsumsi parasetamol dalam jumlah berlebih dan atau dalam jangka panjang (dosis toksik) akan menyebabkan jalur konjugasi asam glukoronat dan asam sulfat menjadi jenuh sehingga terjadi peningkatan fraksi parasetamol yang diaktivasi oleh sitokrom P450 di hati. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) akan mengkonversikan parasetamol menjadi metabolit reaktif N-acetyl-p-benzo-quinone imine (NAPQI). Pada kondisi normal, NAPQI akan didetoksifikasi oleh konjugasi glutathion. Jumlah NAPQI yang terlalu banyak mengakibatkan glutathion tidak mampu berkonjugasi sehingga molekul reaktif NAPQI meningkat dan menyebabkan stress oksidatif (Esquenezi, 2017).

Stres oksidatif berdampak negatif pada organ reproduksi pria dan dapat menyebabkan infertilitas baik secara langsung maupun tidak langsung dengan mempengaruhi sumbu Hipotalamus-Hipofisis-Gonad (HPG). ROS menurunkan kadar hormon seks pria dan mengganggu keseimbangan hormonal yang mengatur fungsi reproduksi pria. ROS dapat didetoksifikasi dengan antioksidan melalui mekanisme enzimatis (superoksida dismutase, katalase, dan peroksidase) dan non enzimatis (vitamin dan steroid). Dalam

kasus ketidakseimbangan antara ROS dan antoksidan menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang menempatkan sel tubuh di bawah tekanan. Akibatnya ROS yang berlebihan memicu peroksidasi lipid, mengganggu DNA, RNA, serta fungsi protein di spermatozoa serta sel-sel testis lainnya (Darbandi dkk, 2018).

Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) disekresikan oleh hipotalamus untuk mengatur sekresi gonadotropin, yaitu luteinizing hormone (LH) and follicle-stimulating hormone (FSH) dari hipofisis anterior. Reseptor FSH terletak di membran sel Sertoli, sedangkan LH berada di sel Leydig. Mereka berkoordinasi untuk mensintesis testosteron, menjaga spermatogenesis terjadi secara normal, serta menjaga kesehatan dan kepadatan sperma (Darbandi dkk, 2018).

Setelah pembentukan ROS, sumbu *hypothalamic-pituitary-adrenal* (HPA) menjadi aktif dan melepaskan kortikosteron (pada hewan) dan kortisol (pada manusia) sebagai respons terhadap stres. Hormon stres ini, secara negatif mempengaruhi sekresi LH dari hipofisis anterior. Penurunan LH menyebabkan kegagalan merangsang sel Leydig untuk memproduksi testosteron yang cukup. Penurunan FSH mengurangi pelepasan *Androgen Binding Protein* (ABP) dari sel Sertoli, yang selanjutnya terjadi penurunan spermatogenesis (Darbandi dkk, 2018).

Penurunan produksi *testosterone* merupakan efek dari ROS pada sistem endokrin. Penurunan testosteron mengganggu spermatogenesis sehingga menghasilkan spermatozoa yang belum sempurna. Selain itu, juga

terjadi kegagalan untuk mempertahankan pertumbuhan normal organ reproduksi tambahan (sel Sertoli dan sel Leydig) yang memainkan peran penting dalam pematangan sperma (Darbandi dkk, 2018).

Selain itu, metabolit oksidan parasetamol, yaitu NAPQI (N-acetyl-p-benzoquinoneimine), biasanya didetoksifikasi melalui konjugasi dengan glutathion pada hepatosit atau melalui konjugasi dengan antioksidan eksogen seperti vitamin C dan E. Namun jika terjadi stress oksidatif, metabolit tersebut akan mencari molekul lain untuk berikatan (Luangpirom dkk., 2012). Membran sel yang kaya akan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA), mudah berikatan dan dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi. Proses tersebut dinamakan dengan peroksidasi lemak (Dalaen dan Al-Qtaitat, 2014). Sel Leydig dapat dengan mudah berikatan dengan ROS karena sebagian besar membran selnya mengandung PUFA (Prayoga, 2015).

Kerusakan oksidatif yang terjadi di testis dan sperma juga bergantung pada pertahanan oksidatif di testis. Aktivitas enzim pemetabolisme obat ditemukan di testis, tetapi mekanisme *scavenge* atau memusnahkan radikal bebas baik secara enzimatik maupun dengan reaksi kimia langsung metabolit oksidatif pada testis lebih rendah dibandingkan dengan hati (Luangpirom dkk., 2012). Pada sel Leydig enzim antioksidan ditemukan pada sitoplasma, namun jumlahnya hanya sedikit untuk bisa menetralisasi ROS (Prayoga, 2015).

Peroksidasi lipid umumnya merupakan suatu proses terjadinya degradasi lipid secara oksidatif. Peroksidasi lipid adalah proses dimana

radikal bebas mengikat elektron-elektron lipid pada membran sel yang berakibat langsung pada kerusakan sel (Ojha dkk, 2015). Proses peroksidasi lipid akan meningkatkan permeabilitas membran, inaktivasi enzim selular, kerusakan struktur DNA dan apoptosis sel. Semua itu dapat mengakibatkan berkurangnya aktivitas dan jumlah sel sperma, menurunkan motilitas dan juga menghasilkan sperma dengan morfologi yang abnormal (Prayoga, 2015).

2.8. Hubungan Infertilitas dengan Antioksidan

Fertilitas didefinisikan sebagai kemampuan untuk menghasilkan keturunan (Alfa dkk, 2019). Sedangkan pengertian klinis mengenai infertilitas yang digunakan WHO adalah sebuah permasalahan sistem reproduksi yang digambarkan dengan kegagalan untuk memperoleh kehamilan setelah 12 bulan atau lebih melakukan hubungan seksual minimal 2-3 kali seminggu secara teratur tanpa menggunakan alat kontrasepsi (Hochschild dkk, 2009).

Tingkat fertilitas pada pria menurut WHO ditentukan oleh kualitas sperma. Syarat suatu sperma yang normal adalah sesuai dengan parameter spermanya. Parameter kualitas sperma yang dimaksud adalah jumlah, motilitas, dan morfologi sperma. Bila sebagian besar parameter tersebut tidak sesuai, maka spermatozoa akan sulit membuahi sel telur, sehingga terjadi keadaan yang disebut dengan infertilitas (Alfa dkk, 2019).

Infertilitas pria menjadi masalah yang umum di seluruh dunia. Etiologi dari infertilitas pada pria ini disebabkan antara lain kelainan anatomis sperma, endokrinopati, masalah imunologis, kegagalan ejakulasi, dan pajanan dari lingkungan (radiasi, kemoterapi), mutasi gen, aneuploidi, *varicocele*, infeksi saluran genital, dan disfungsi erektil. Namun sekitar setengah dari pasien infertilitas mempunyai penyebab yang tidak jelas (infertilitas idiopati). Pada tingkat molekuler, salah satu penyebab infertilitas adalah stress oksidatif karena produk *reactive oxygen species* (ROS), baik endogen maupun eksogen yang melebihi tingkat antioksidan di dalam tubuh. Molekul-molekul ROS endogen ini diproduksi di dalam mitokondria. ROS diketahui dapat mengganggu spermatogenesis dan morfologi sperma, sehingga sperma menjadi cacat dan menyebabkan infertilitas (Utami, 2009).

Hal yang perlu dilakukan dalam mencegah terjadinya infertilitas adalah dengan menghindari terjadinya paparan radikal bebas pada tubuh untuk menjaga keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Selain itu, peran antioksidan cukup penting dalam pencegahan terjadinya infertilitas. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Antioksidan dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh. Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Rohmatussolihat, 2009).

2.9. Ekstraksi Metode UAE (*Ultrasonic Assited Extraction*)

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan senyawa kimia yang terdapat pada jaringan tumbuhan dengan menggunakan penyari atau pelarut tertentu. Metode ini bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Prinsip dari metode ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat dalam pelarut, yang terjadi pada lapisan antarmuka dan berdifusi ke dalam pelarut (Ali dkk, 2013).

Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan memasuki rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik di luar sel lalu larutan pekat akan berdifusi keluar sel. Hal ini berlangsung secara berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Oleh karena itu, faktor-faktor yang dapat mempengaruhi laju ekstraksi antara lain jenis preparasi sampel, waktu ekstraksi, volume pelarut, suhu pelarut dan jenis pelarut. (Ali dkk, 2013).

Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) merupakan salah satu metode ekstraksi dengan bantuan ultrasonik. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi lebih tinggi daripada pendengaran manusia (≥ 20 kHz). Keuntungan metode ekstraksi ini yaitu memperoleh kandungan senyawa (antioksidan) lebih tinggi dengan waktu yang relatif singkat. Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive* sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi. Dengan bantuan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan

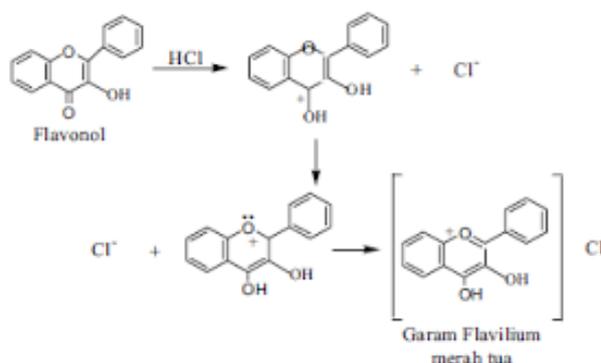
pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Sholihah dkk, 2017).

2.10. Pemeriksaan Kandungan Senyawa Antioksidan

2.10.1. Uji Warna

a. Uji Flavonoid

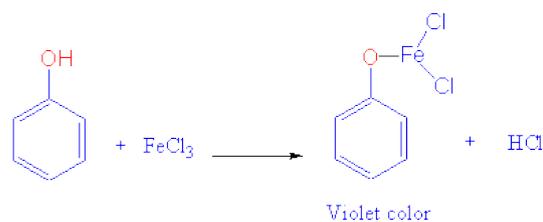
Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Golongan flavonoid digambarkan sebagai deretan senyawa C6-C3-C6 yang berarti bahwa kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Uji Flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan larutan HCl pekat dan logam Mg. Prinsip dari uji flavonoid adalah logam Mg dan HCl akan mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina dan Indarini, 2014). Adapun reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Gambar 2. 12 Reaksi warna pada uji Favonoid (Ergina dan Indarini, 2014)

b. Uji Fenol

Fenol tanaman merupakan salah satu kelompok terbesar yang berperan sebagai senyawa antioksidan. Prinsip uji ferri klorida adalah mendeteksi keberadaan fenol pada suatu senyawa dengan penambahan ferri klorida yang uji positifnya akan menghasilkan warna ungu sebagai akibat dari adanya reaksi gugus OH pada fenol dengan larutan FeCl₃ yang ditambahkan. Fenol merupakan salah satu jenis benzena. Fenol akan bereaksi dengan reagen ferri klorida membentuk FeO pada cincin benzena. Kompleks FeO pada cincin benzena inilah yang menyebabkan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman (Robinson, 1991).



Gambar 2. 13. Reaksi warna pada uji FeCl₃ (Solomon dkk, 2009)

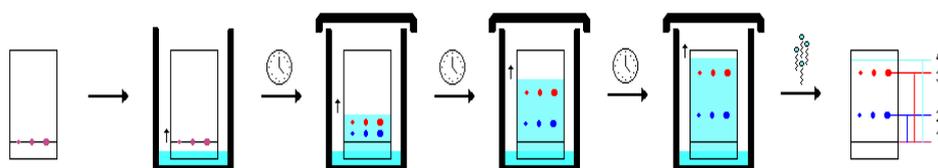
c. Uji Tanin

Tanin merupakan senyawa alami dengan beberapa gugus hidroksi fenol bebas yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Identifikasi senyawa tanin dalam tanaman dilakukan menggunakan uji gelatin. Larutan gelatin 1% ditambahkan pada ekstrak, jika terbentuk endapan putih menunjukkan bahwa ekstrak mengandung tanin. Prinsip dari uji ini, yaitu tanin akan menggumpalkan protein dari gelatin membentuk kopolimer yang tidak larut air (Desinta, 2015).

2.10.2. Metode KLT

KLT (Kromatografi Lapis Tipis) merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stationer) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, plat alumunium, atau plat plastik. Kromatografi lapis tipis digunakan secara luas untuk analisis solut-solut organik terutama dalam bidang biokimia, farmasi, klinis, dan forensik baik analisis kualitatif dengan cara membandingkan nilai R_f solute dengan nilai R_f senyawa baku atau untuk analisis kuantitatif (Kumar dkk, 2013).

Prinsip dari metode kromatografi lapis tipis didasarkan terhadap distribusi senyawa antara fase tetap padat yang diterapkan pada gelas atau plat plastik dan fase gerak cair yang akan melewati fase padat tersebut. Sejumlah kecil senyawa atau campuran diterapkan pada titik awal tepat diatas bagian bawah dari plat dan dikembangkan menggunakan chamber (bejana pengembang) berisi pelarut organik tertentu. Maka, fase gerak akan membawa senyawa yang paling larut menuju plat serta senyawa yang kurang larut dalam fase gerak akan tetap tertinggal hal ini dikarenakan senyawa tersebut memiliki afinitas cukup tinggi (Kumar dkk, 2013).



Gambar 2. 14. Proses Elusi KLT (ilmukimia.org)

Penggunaan secara umum dari metode kromatografi lapis tipis (KLT) meliputi menentukan banyaknya komponen dalam campuran,

mengidentifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektifitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, memantau kromatografi kolom, serta melakukan *screening* sampel untuk obat (Mukhriani, 2014).

2.11. Hewan Coba

Hewan coba merupakan hewan yang sengaja dipelihara untuk digunakan sebagai hewan model yang berkaitan untuk pembelajaran dan pengembangan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Hewan coba banyak digunakan sebagai penunjang dalam melakukan pengujian-pengujian terhadap obat, vaksin, atau dalam penelitian biologi. Hewan bisa digunakan sebagai hewan coba apabila hewan tersebut bebas dari mikroorganisme patogen, mempunyai kemampuan dalam memberikan reaksi imunitas yang baik, kepekaan hewan terhadap sesuatu penyakit, dan performa atau performa atau anatomi tubuh hewan percobaan yang dikaitkan dengan sifat genetiknya (Tolistiawaty dkk, 2014).

2.11.1. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan (khususnya digunakan dalam penelitian biologi), yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Hasanah, 2015). Ciri-ciri

mencit antara lain jinak, takut cahaya, aktif pada malam hari, mudah berkembang biak, siklus hidup yang pendek, dan tergolong poliestrus.

Klasifikasi dari mencit (*Mus musculus*) adalah sebagai berikut (Priambodo, 1995):

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Mus
Spesies : *Mus musculus* L.



Gambar 2. 15 Mencit (*Mus musculus*)

2.11.2. Penanganan Hewan Coba

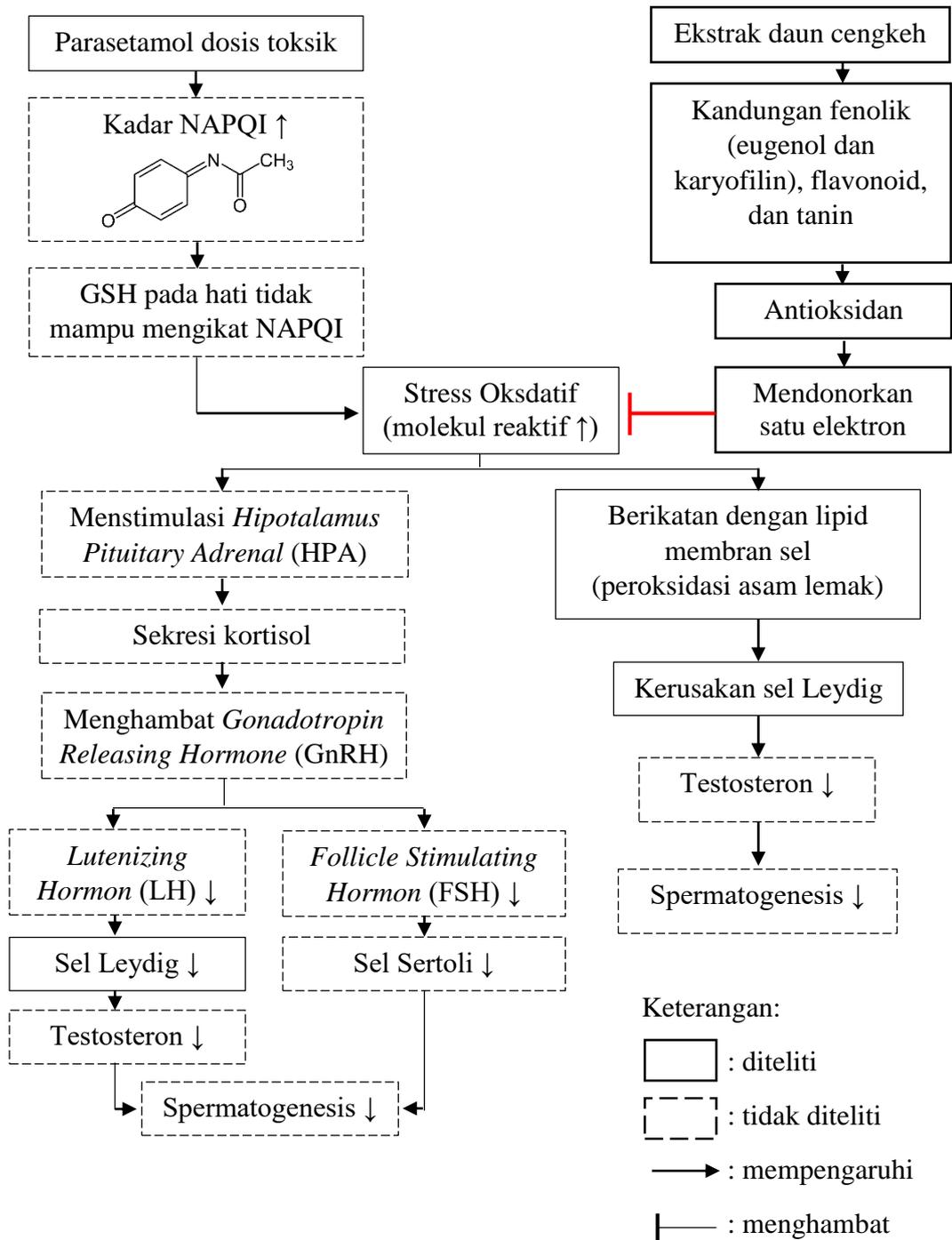
Hal yang perlu diperhatikan dalam penanganan hewan coba adalah cara memegang mencit yang benar. Penanganan hewan coba yang tidak benar menyebabkan mencit stress sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian. Mencit dapat dipegang dengan memegang ujung ekornya dengan tangan kanan, biarkan menjangkau / mencengkeram alas yang kasar (kawat kandang). Kemudian tangan kiri dengan ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit tengkuknya seerat / setegang mungkin. Ekor dipindahkan dari tangan kanan, dijepit antara jari kelingking dan jari manis tangan kiri. Dengan demikian, mencit telah terpegang oleh tangan kiri dan siap untuk diberi perlakuan (Malole dan Pramono, 1989).

Pemberian secara oral pada mencit dilakukan dengan alat suntik yang dilengkapi jarum/kanula oral (berujung tumpul). Kanula ini dimasukkan ke dalam mulut, kemudian perlahan-lahan diluncurkan melalui langit-langit ke arah belakang sampai esophagus kemudian masuk ke dalam lambung. Perlu diperhatikan bahwa cara peluncuran/pemasukan kanula yang mulus disertai pengeluaran cairan sediaan yang mudah adalah cara pemberian yang benar. Cara pemberian yang keliru, masuk ke dalam saluran pernafasan atau paru-paru dapat menyebabkan gangguan pernafasan dan kematian (Thomson, 1985).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konseptual

3.2. Uraian Kerangka Konseptual

Konsumsi parasetamol dalam jumlah berlebih dan atau dalam jangka panjang (dosis toksik) akan menyebabkan jalur konjugasi asam glukoronat dan asam sulfat menjadi jenuh sehingga terjadi peningkatan fraksi parasetamol yang diaktivasi oleh sitokrom P450 di hati. Sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) akan mengkonversikan parasetamol menjadi metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzo-quinone imine* (NAPQI). Pada kondisi normal, NAPQI akan didetoksifikasi oleh konjugasi glutathione. Jumlah NAPQI yang terlalu banyak mengakibatkan glutathione tidak mampu berkonjugasi sehingga molekul reaktif NAPQI meningkat dan menyebabkan stress oksidatif (Esquenezzi, 2017).

Stres oksidatif berdampak negatif pada organ reproduksi pria dengan mempengaruhi proses spermatogenesis melalui dua mekanisme. Mekanisme pertama yaitu mempengaruhi sistem hormonal. Stres oksidatif akan menstimulasi hipotalamus (HPA) untuk mensekresi hormone stress yaitu hormon kortisol sehingga menghambat pelepasan hormon GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*). Akibatnya terjadi penurunan sekresi hormon FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Lutenizing Hormone*). Hormon FSH bekerja pada sel germinal untuk memulai proliferasi dan diferensiasi serta meningkatkan sensitivitas sel Leydig terhadap LH untuk mensekresi *testosterone*. Sedangkan LH merupakan hormon yang menstimulasi kerja sel Leydig untuk mensekresi *testosterone* (Darbandi dkk, 2018). Aktivitas sel Leydig sangat dipengaruhi oleh kadar hormon gonadotropin khususnya LH, apabila sekresi gonadotropin terganggu maka

sel Leydig pun terganggu. Sel tersebut akan mengalami apoptosis sehingga mengakibatkan berkurangnya jumlah sel dan produksi *testosterone* yang digunakan dalam proses spermatogenesis.

Mekanisme kedua yaitu dengan berikatan secara langsung antara radikal bebas NAPQI dan membran lipid sel Leydig. Hal ini disebabkan karena membran sel Leydig sebagian besar mengandung asam lemak tidak bersaturasi (*Poly Unsaturated Fatty Acids*) sehingga mudah teroksidasi dan sitoplasmanya hanya mengandung sedikit enzim antioksidan yang dapat menetralkan ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Luangpirom dkk., 2012). Ikatan tersebut mengakibatkan rusaknya sel Leydig sehingga menurunkan sekresi testosterone yang dibutuhkan untuk spermatogenesis. Akibatnya proses spermatogenesis terganggu.

Peningkatan radikal bebas dalam tubuh, memerlukan antioksidan tambahan dari luar atau yang sering disebut dengan antioksidan eksogen. Menurut Sastrohamidjojo dalam (Rorong, 2008), dalam ekstrak daun cengkeh mengandung senyawa seperti senyawa flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Selain itu, dalam minyak daun cengkeh terdapat komponen fenolik seperti eugenol dan karyofilin. Kandungan fenolik tumbuhan diketahui memiliki aktivitas antioksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya untuk berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi inaktif dan proses spermatogenesis berjalan dengan baik.

3.3. Hipotesis

H₀ = Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) tidak memiliki pengaruh terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian eksperimen murni (*true experimental design*) dengan rancangan penelitian *post test only control group design* skala laboratorium secara *in vivo* menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/c. Jenis penelitian ini menggunakan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan dan kelompok *treatment* yang diberi perlakuan, sehingga didapatkan korelasi sebab akibat dalam penelitian (Siyoto dan Sodik, 2015). Syarat dari penelitian eksperimen murni adalah adanya kelompok kontrol, kelompok perlakuan dan randomisasi. Rancangan penelitian *post test only control group design* yaitu dilakukan intervensi kepada sampel dan selanjutnya dilakukan pengukuran sebanyak 1 kali setelah penelitian atau *post test*. Rancangan penelitian ini digunakan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) sebagai antioksidan terhadap jumlah sel Leydig yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 Bulan, yaitu pada bulan Januari sampai dengan Maret 2021. Tempat pelaksanaan penelitian yaitu:

1. Laboratorium Biomedik dan Farmakokinetik, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri

Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat adaptasi dan perlakuan pada mencit.

2. Laboratorium Fitokimia, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat pembuatan ekstrak kental.
3. Laboratorium Botani Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk tempat pengamatan preparat histologi testis.
4. Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya untuk tempat pembuatan preparat histologi testis dan pengamatan jumlah sel Leydig.
5. Unit Pelaksana Teknis Materia Medika Batu untuk tempat penggilingan daun cengkeh dan determinasi tanaman.

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1. Populasi Penelitian

Populasi merupakan seluruh objek penelitian yang dapat memberikan informasi pada penelitian (Siyoto dan Sodik, 2015). Penelitian ini menggunakan populasi mencit galur Balb/c dan berjenis kelamin jantan yang berasal dari Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3.2. Sampel Penelitian

Menurut Notoatmodjo (2005) menyatakan bahwa sampel penelitian merupakan sebagian atau seluruh anggota populasi yang diteliti dan dianggap mewakili populasi. Adapun kriteria inklusi yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain:

1. Mencit galur Balb/c
2. Berjenis kelamin jantan
3. Usia 3-4 bulan
4. Berat badan 20-30 gram
5. Keadaan sehat yang ditunjukkan dengan bergerak aktif

Sedangkan kriteria eksklusi pada penelitian ini, antara lain:

1. Mati saat perlakuan

Jumlah sampel yang digunakan dapat dihitung menggunakan rumus Federer (1955), sebagai berikut:

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

Dimana (t) menunjukkan jumlah kelompok perlakuan dan (n) menunjukkan jumlah subjek untuk setiap kelompok perlakuan. Dalam penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan, yaitu:

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75 \text{ dibulatkan menjadi } 5$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, sampel hewan coba yang dibutuhkan untuk setiap kelompok perlakuan sebanyak 5 ekor, sehingga dalam penelitian ini jumlah hewan coba yang digunakan untuk 5 kelompok perlakuan sebanyak 25 ekor mencit dari populasi yang ada.

4.3.3. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *simple random sampling* sesuai kriteria inklusi. Teknik ini mengasumsikan bahwa pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana sehingga setiap anggota atau unit populasi memiliki kesempatan yang sebanding dalam seleksi sampel. Selanjutnya mencit yang memenuhi kriteria inklusi dikelompokkan berdasarkan kelompok perlakuan dan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari.

4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

a. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan suatu variabel yang mampu menyebabkan terjadinya perubahan pada variabel lain. Perubahan yang dihasilkan dapat berasal dari faktor yang diukur maupun dipilih oleh peneliti agar mampu menentukan hubungan antara perubahan

yang diamati dengan perlakuan yang diberikan dalam penelitian. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.), parasetamol dosis toksik, dan vitamin C.

b. Variabel terikat

Variabel merupakan suatu variabel yang mengalami perubahan akibat adanya pengaruh variabel bebas maupun faktor – faktor yang diamati dan diukur oleh peneliti. Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel Leydig mencit jantan.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang perlu dikendalikan maupun dipertahankan sedemikian rupa, sehingga pengaruh yang ada dapat disamakan terhadap seluruh kondisi penelitian. Variabel kontrol pada penelitian ini adalah kandang, pakan, dan minuman mencit.

4.4.2. Definisi Operasional

Tabel 4. 1. Definisi Operasional

No.	Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala Data
1.	Bebas	Ekstrak daun cengkeh (<i>Syzigium aromaticum</i> L.)	Ekstrak daun cengkeh adalah suatu suspensi yang diperoleh dari daun cengkeh yang telah dikeringkan, dihaluskan, dan diekstraksi dengan metode UAE (<i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>) menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak selanjutnya dilarutkan dengan CMC Na 0,1%. Dosis yang diberikan pada mencit adalah 0,7mg/gBB/hari; 1,4mg/gBB/hari; dan 2,8mg/gBB/hari.	Rasio

		Parasetamol dosis toksik	Bentuk sediaan parasetamol yang digunakan adalah tablet 500 mg dari PT. Mersi. Parasetamol diberikan pada mencit jantan galur Balb/c selama 14 hari dengan cara dilarutkan dalam aquadest secara oral menggunakan sonde dengan dosis 0,065mg/gBB/hari.	Rasio
		Vitamin C	Vitamin C dikenal memiliki fungsi sebagai antioksidan. Pada penelitian ini bentuk sediaan vitamin C berupa serbuk yang selanjutnya akan dilarutkan dalam aquadest. Pemberian pada mencit jantan galur Balb/c dilakukan peroral menggunakan sonde selama 14 hari dengan dosis 1,95mg/gBB/hari.	Rasio
2.	Terikat	Sel Leydig	Sel Leydig terletak pada jaringan interstitial testis dengan ciri-ciri bentuk sel polihedral dengan inti sel berbentuk bulat berdiameter sekitar 20 μm , sitoplasma berwarna pucat karena kandungan lipid (<i>bubbly appearance</i>) (Ross dan Wilson, 2015). Sel Leydig diamati dengan menghitung jumlah selnya pada preparat histologi yang dibuat menggunakan pewarna <i>Haematoxylin-Eosin</i> dan diamati dengan mikroskop <i>Olympus</i> dengan 10 lapang pandang yang berada diantara 3 sampai 5 tubulus seminiferus dan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan secara manual menggunakan aplikasi <i>Image Raster</i> .	Rasio

3.	Kontrol	Kandang	Kandang yang digunakan untuk 5 ekor mencit berupa bak plastik berukuran 40cm x 30cm x 18cm yang dilengkapi dengan penutup kandang berupa kawat. Kandang diberi alas berupa serbuk gergaji sebagai penghangat bagi mencit (<i>Mus musculus</i>).	Rasio
		Pakan	Pemberian pakan yang sesuai yaitu pakan mencit BR1 dilakukan satu kali sehari pada pagi hari.	Rasio
		Minuman	Minuman diberikan <i>ad libitum</i> (diberikan tidak terbatas). Botol minuman dibersihkan tiap tiga hari sekali dan diisi ulang dengan air yang baru apabila air telah habis. Air minum yang digunakan yaitu air mineral bermerk Cleo.	Rasio

4.5. Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1. Alat Penelitian

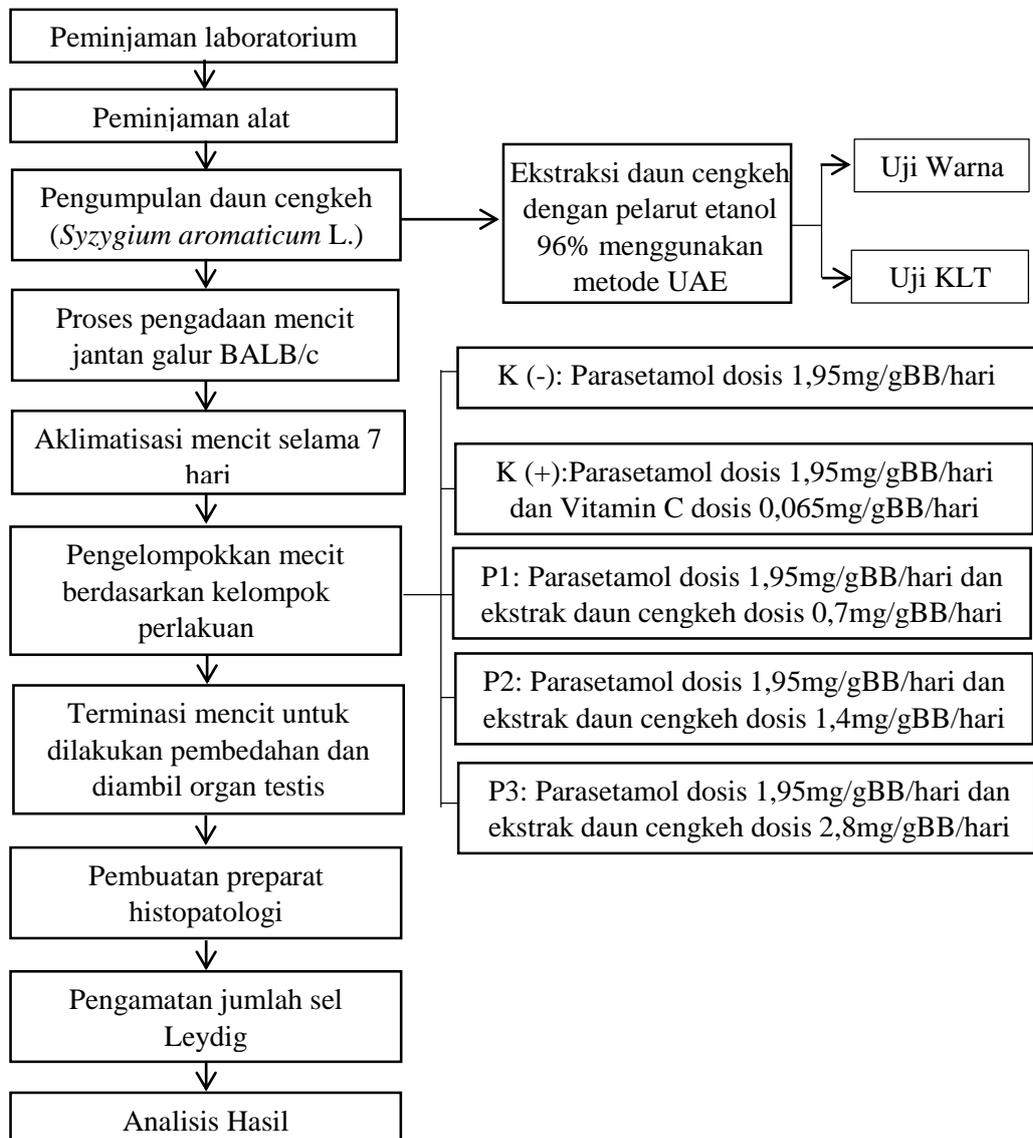
Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang mencit, tempat makan dan minum mencit, oven, mesin penggiling, *beaker glass*, batang pengaduk, pipet volume 10 mL, pipet tetes, *pushball*, *erlenmeyer*, corong, kaca arloji, kaki tiga, bunsen, kasa, sendok tanduk, neraca analitik, cawan porselen, *ultrasonic processor*, *rotary evaporator* (merk *Heidolph Instrument*), oven (merk *Memmert*), *moisture content* (merk *Mettler Toledo*), sonde lambung, spuit 1 mL Terumo, pisau bedah, gunting, *object glass*, *cover glass*, dan mikroskop.

4.5.2. Bahan Penelitian

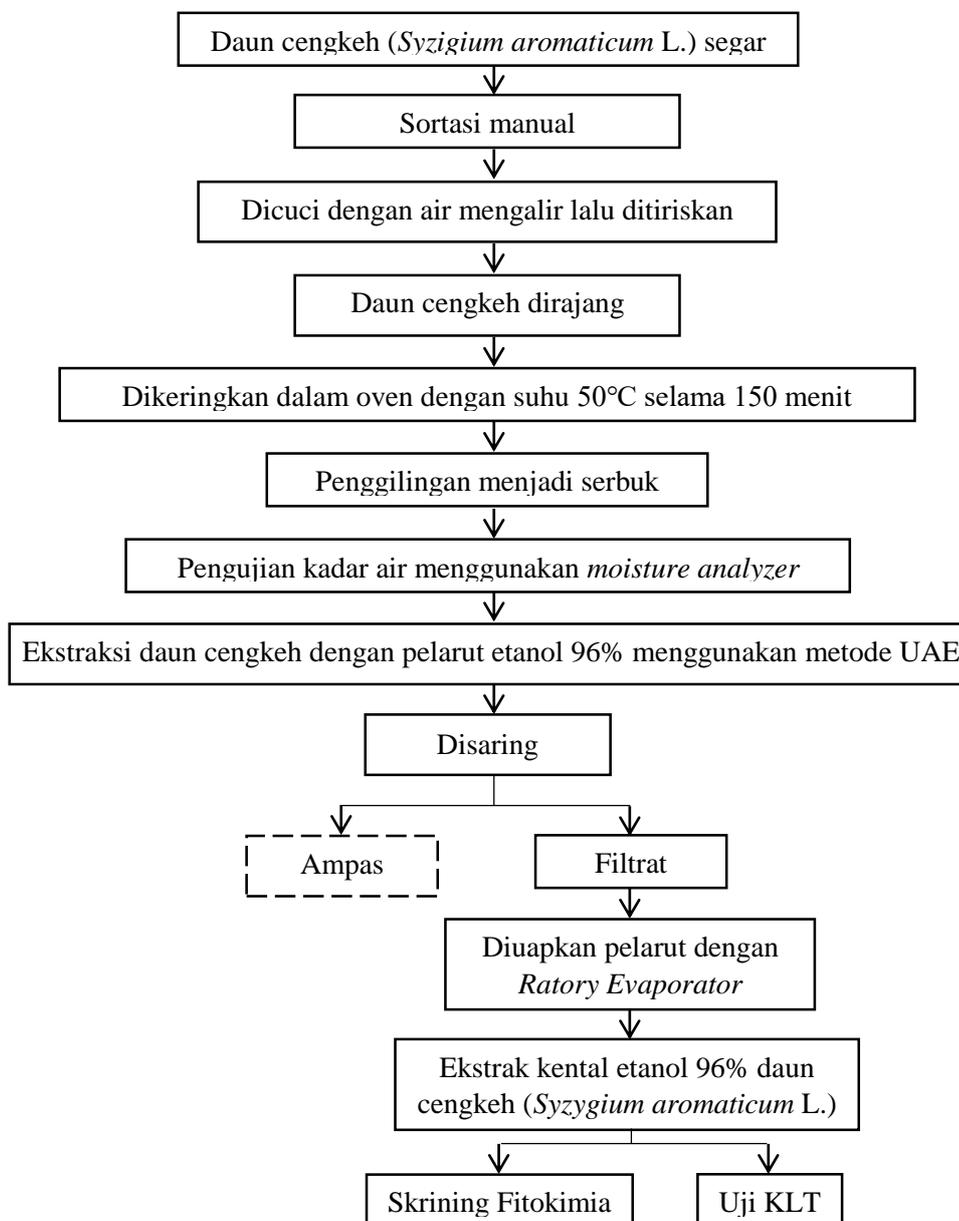
Bahan – bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini antara lain mencit jantan sesuai dengan kriteria inklusi, parasetamol 500 mg generik merk Mersi, daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), vitamin C, etanol 96%, CMC-Na, kloroform, aquadest, pakan mencit (BR-1), air mineral (Cleo), pewarna eosin.

4.6. Prosedur Penelitian

4.6.1. Alur Penelitian



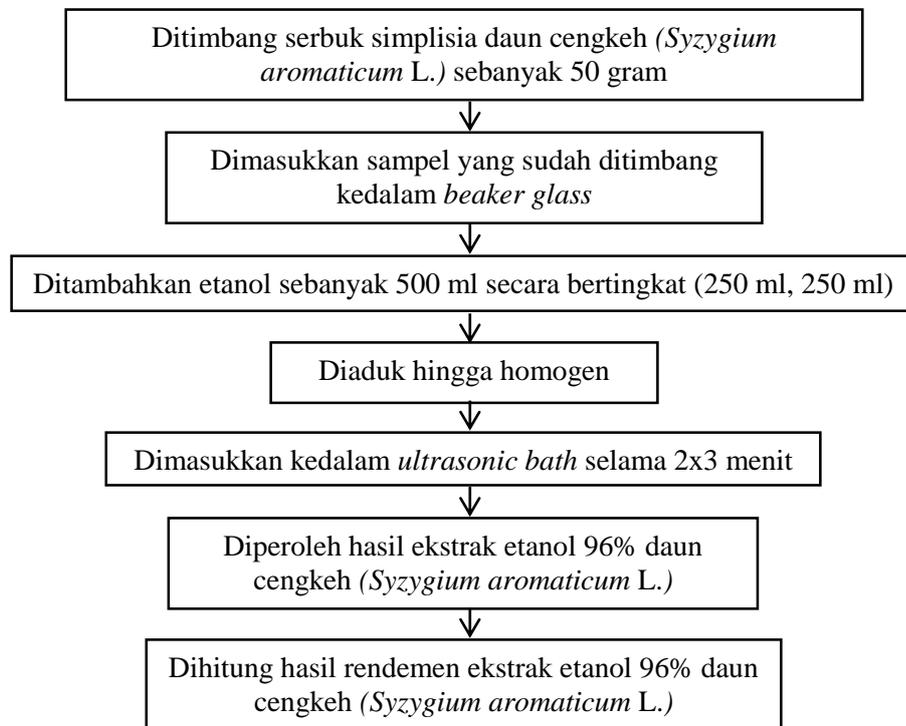
4.6.2. Skema Kerja Pengolahan Tanaman



Proses ekstraksi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dimulai dari daun cengkeh segar lalu dilakukan sortasi manual untuk memilih daun cengkeh yang kualitasnya bagus. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir kemudian ditiriskan. Setelah itu daun cengkeh dirajang lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C. Hasilnya didapatkan simplisia rajangan kering yang selanjutnya dibuat serbuk melalui proses penggilingan. Serbuk

simplisia kemudian ditimbang sebanyak 150 gram. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, dilakukan pengujian kadar air menggunakan *moisture analyser*. Ekstraksi daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dilakukan menggunakan metode UAE dengan pelarut etanol 96%. Penggunaan pelarut etanol 96% dianggap aman dan menghasilkan rendemen lebih besar. Setelah itu hasil ekstraksi disaring dan didapatkan filtratnya. Kemudian filtrat tersebut diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator sehingga dihasilkan ekstrak kental etanol 96% daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). Selanjutnya dilakukan uji warna dan uji KLT pada ekstrak etanol daun cengkeh untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung di dalamnya.

4.6.3. Ekstraksi UAE



Ekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assiated Extraction*)

dapat dilakukan dengan cara ditimbang simplisia daun cengkeh (*Syzygium*

aromaticum L.) sebanyak 50 gram menggunakan neraca analitik. Kemudian, dimasukkan ke dalam beaker glass ukuran 500 ml dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 500 ml secara bertingkat (250 ml dan 250 ml) untuk memperoleh hasil ekstrak cair secara optimal. Selanjutnya, diaduk secara terus-menerus hingga homogen dan dimasukkan ekstrak cair daun cengkeh ke dalam *ultrasonic bath* selama 2 x 3 menit (diganti pelarut setiap 3 menit dan diaduk sesekali). Terakhir, diperoleh hasil ekstrak etanol 96% daun cengkeh dan dihitung hasil rendemen total ekstraksi dengan rumus adalah sebagai berikut (Senduk dkk, 2020):

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan baku}} \times 100\%$$

Keterangan:

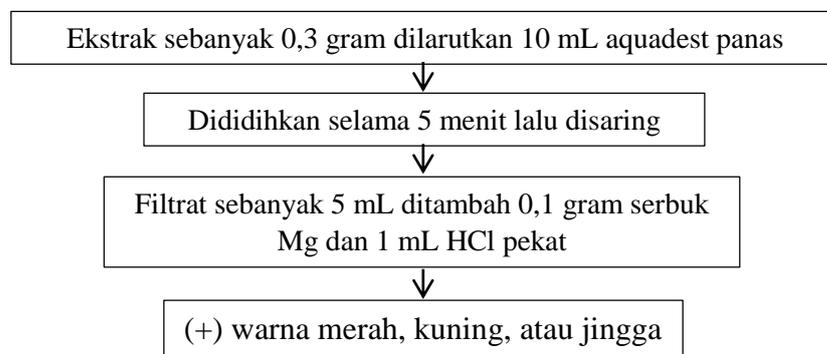
M_e = Massa ekstrak (gram)

M_a = Massa awal ekstrak (gram)

K_{sp} = Kadar sisa pelarut (%)

4.6.4. Skrining Fitokimia

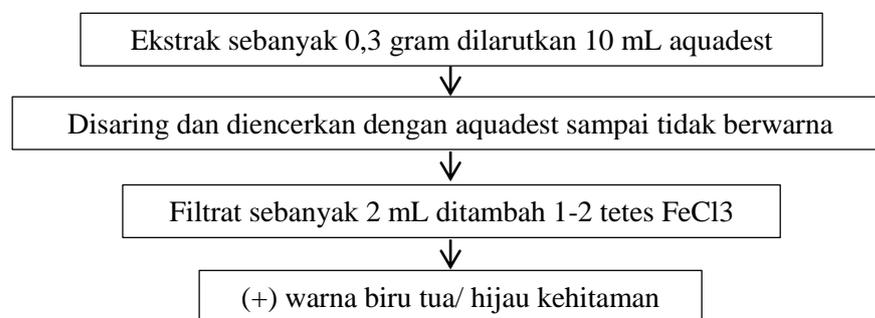
a. Identifikasi Senyawa Flavonoid



Identifikasi senyawa flavonoid dapat dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 0,3 gram ekstrak kental daun cengkeh (*Syzygium*

aromaticum L.) menggunakan neraca analitik. Selanjutnya ekstrak dilarutkan dalam 10 mL aquadest panas. Setelah itu, larutan ekstrak dididihkan selama 5 menit menggunakan penangas air lalu disaring. Diambil filtrat sebanyak 5 mL kemudian ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 gram dan HCl pekat sebanyak 1 mL. Hasil positif ditunjukkan oleh warna merah, kuning, atau jingga yang terbentuk.

b. Identifikasi Senyawa Fenol



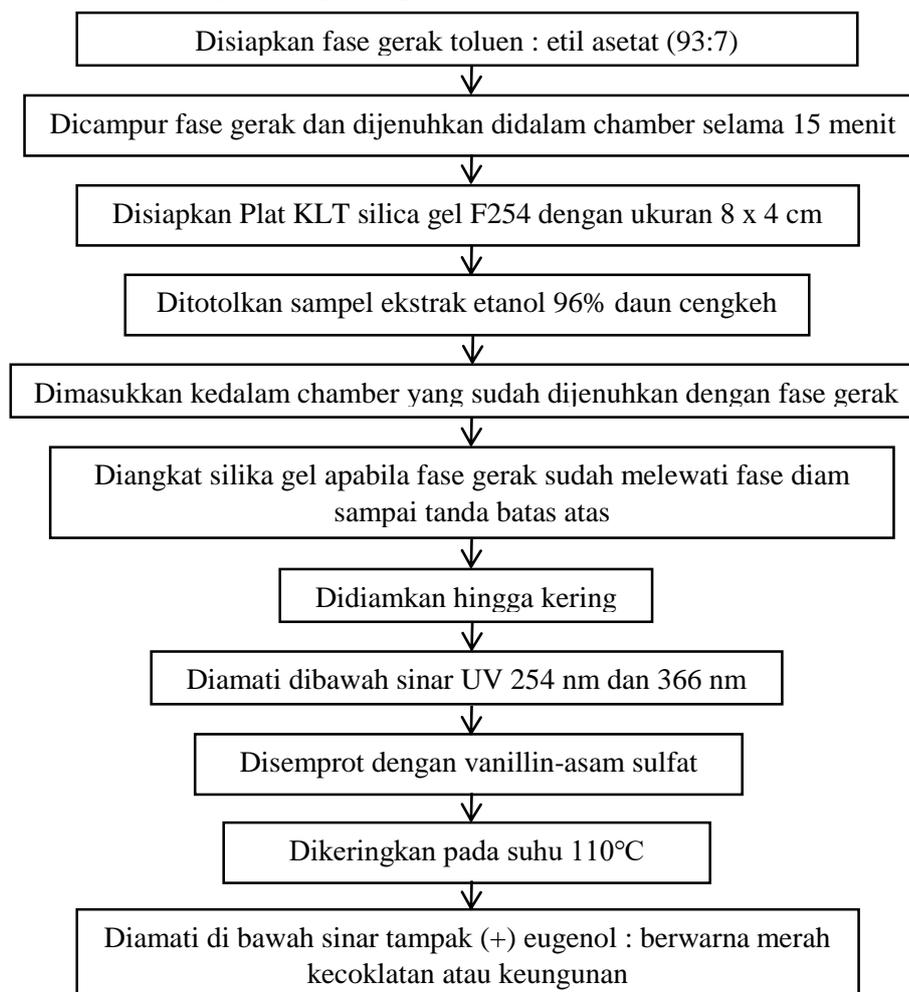
Identifikasi senyawa fenol dapat dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 0,3 gram ekstrak kental daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menggunakan neraca analitik. Selanjutnya ekstrak dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Kemudian larutan ekstrak tersebut disaring dan diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna. Setelah itu, sebanyak 2 mL filtrat ditambah FeCl₃ sebanyak 1-2 tetes. Hasil positif ditunjukkan oleh warna biru tua atau hijau kehitaman yang terbentuk.

c. Identifikasi Senyawa Tanin



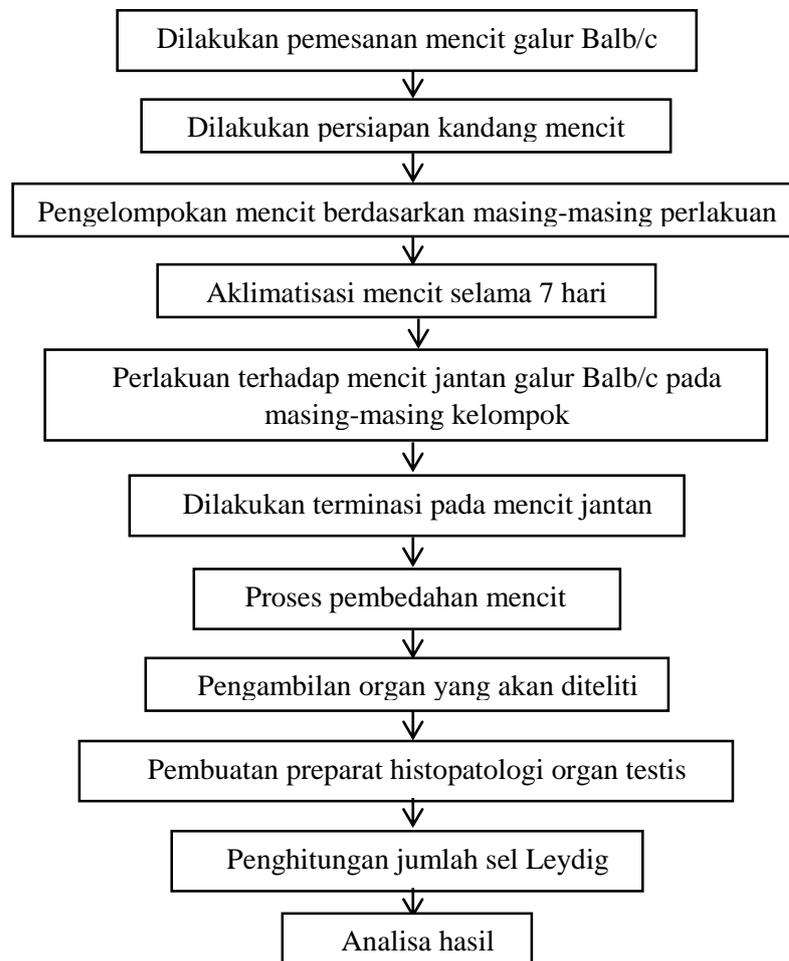
Identifikasi senyawa tanin dapat dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 0,3 gram ekstrak kental daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menggunakan neraca analitik. Selanjutnya ekstrak dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Kemudian larutan ekstrak tersebut disaring dan diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna. Setelah itu, sebanyak 2 mL filtrat ditambah larutan gelatin 1% sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif ditunjukkan oleh adanya endapan putih yang terbentuk.

4.6.6. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Senyawa Eugenol



Uji kromatografi lapis tipis dapat dilakukan dengan beberapa tahapan dimulai dari menyiapkan fase gerak toluen dan etil asetat dengan perbandingan 93:7. Kemudian, dicampurkan kedua fase gerak dan dijenuhkan didalam chamber selama 15 menit untuk menghilangkan uap air serta gas lainnya. Chamber telah siap digunakan dalam penelitian tersebut. Peneliti menyiapkan plat KLT silika gel F254 dengan ukuran 8 x 4 cm dan menotolkan ekstrak etanol daun cengkeh menggunakan pipa kapiler secara hati-hati. Kemudian, dimasukkan plat KLT ke dalam chamber yang telah dijenuhkan dengan fase gerak dan ditunggu hingga mencapai tanda batas. Jika fase gerak telah sampai tanda batas atas, maka diangkat silika gel dan didiamkan hingga kering. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada sinar UV 254 nm jika terlihat bercak berwarna hijau dan biru menandakan adanya eugenol. Kemudian pengamatan pada sinar UV 366 nm jika tampak berwarna biru muda menandakan adanya eugenol, selanjutnya disemprot plat KLT dengan vanillin-asam sulfat lalu dikeringkan pada suhu 110°C kemudian diamati dengan sinar tampak jika terlihat noda berwarna merah kecoklatan atau keunguan menandakan adanya eugenol.

4.6.7. Skema Kerja Perlakuan Hewan Coba



(1) Persiapan Hewan Coba

Tahap persiapan yang dilakukan dalam penelitian ini berupa pemesanan hewan coba mencit jantan galur Balb/c untuk 5 kelompok perlakuan. Kemudian, dipersiapkan kandang dan dikelompokkan mencit jantan berdasarkan masing-masing perlakuan. Mencit jantan perlu diaklimatisasi (diadaptasikan) selama 1 minggu dalam lingkungan kandang di Laboratorium Hewan Coba Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

(2) Perlakuan

Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Mencit jantan galur Balb/c yang telah terbagi ke dalam 5 kelompok perlakuan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari dalam laboratorium.
- b. Ditimbang masing-masing berat badan mencit jantan galur Balb/c dan dihitung rata-rata berat badannya.
- c. Setiap kelompok diberikan tanda sebagai berikut :
 - 1) Kontrol positif (K-) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari.
 - 2) Kontrol positif (K+) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/grBB/hari dan vitamin C dosis 0,065mg/gBB/hari.
 - 3) Perlakuan 1 (P1) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 0,7mg/gBB/hari.
 - 4) Perlakuan 2 (P2) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 1,4mg/gBB/hari.
 - 5) Perlakuan 3 (P3) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 2,8mg/gBB/hari.
- d. Perlakuan dilakukan selama 14 hari.

(3) Pembedahan Hewan Coba

Hewan coba mencit jantan diterminasi (dianastesi) dengan kloroform dosis 0,0335ml/gBB mencit terlebih dahulu. Kemudian, diletakkan diatas papan fiksasi untuk tahap pembedahan dan pengambilan

organ testis yang akan diteliti dalam penelitian. Organ testis ini harus dicuci dengan NaCl 0,9% dan dimasukkan ke dalam vial berisi formalin 10% minimal selama 7 jam. Selanjutnya, dibuat preparat histopatologis organ testis untuk pengamatan jumlah sel Leydig pada testis. Terakhir, peneliti melakukan analisis hasil parameter secara keseluruhan.

(4) Pengukuran Sel Leydig

Perhitungan jumlah sel Leydig dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel yang berada diantara tiga sampai empat tubulus seminiferus dalam 10 lapang pandang menggunakan mikroskop *Olympus* dengan perbesaran 400x. Perhitungan dilakukan secara manual menggunakan aplikasi *Image Raster*. Untuk menghitung jumlah sel Leydig dilakukan dengan cara:

$$\Sigma \text{ sel Leydig} = n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_x$$

Keterangan:

n = jumlah sel yang diamati pada lapang pandang

x = jumlah lapang pandang yang diamati

4.7. Analisis Data dan Pengolahan Data

4.7.1. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui populasi data terdistribusi secara normal atau tidak. Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel yang diteliti sedikit (<50 sampel) selain itu uji ini memiliki keakuratan yang lebih baik daripada uji normalitas lainnya (Novianty dkk, 2014; Rini dan Fachri, 2015).

Distribusi data dikatakan normal jika nilai $p\text{-value} > 0,05$ dan dikatakan terdistribusi tidak normal jika nilai $p\text{-value} < 0,05$ (Rojijah dkk, 2015).

4.7.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui populasi dan sampel dalam penelitian homogen atau tidak. Uji homogenitas pada penelitian ini menggunakan *Levene`s Test*. Data dikatakan homogen jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p\text{-value} > 0,05$) (Rojijah dkk, 2015).

4.7.3. Uji One Way ANOVA (*Analytical of Variance*)

Uji One Way ANOVA dilakukan untuk membandingkan nilai rata – rata dari masing – masing kelompok perlakuan dengan cara mengetahui minimal terdapat dua kelompok yang berbeda signifikan. Apabila terdapat perbedaan signifikan, maka akan dilakukan analisa BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dikenal sebagai LSD (*Least Significance Different*) (Rojijah dkk, 2015). Dikatakan beda signifikansi jika nilai $p\text{-value} < 0,05$ dan tidak beda signifikansi jika $p\text{-value} > 0,05$. Pada analisis *One Way ANOVA* terdapat syarat yang harus dipenuhi, yaitu terpenuhinya uji normalitas data (terdistribusi normal) dan uji homogenitas varian (varian harus homogen). Apabila tidak terpenuhi maka dilakukan transformasi data, jika masih belum memenuhi syarat, dilakukan uji lain yaitu uji non-parametrik seperti *Kruskal Wallis* (Dahlan, 2014).

4.7.4. Uji *Post-Hoc* LSD (*Least Significance Different*)

Digunakan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan (Ghozali, 2005). Bila *p-value* > 0,05, artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan atau dengan kata lain hipotesis ditolak (Dahlan, 2014).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Determinasi Tanaman

Serbuk simplisia daun cengkeh dalam penelitian ini diperoleh dari Unit Pelaksana Teknis Materia Medica Batu. Selanjutnya dilakukan determinasi tanaman, yaitu dengan menyocokkan ciri morfologi tanaman dengan kepustakaan. Tujuan dari determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran identitas dari tanaman serta menghindari adanya kesalahan dalam bahan utama penelitian (Diniatik, 2015). Proses determinasi dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Adapun hasil determinasi dengan nomor surat 074/602A/102.7/2020, didapatkan kunci determinasi: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-244b-248b-249b-250a-251b-253b-254b-255b-256b-261a-262b-263b-246b-2b.

Sedangkan untuk tingkatan taksonomi dari cengkeh sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Myrtales
Suku : Myrtaceae
Marga : Syzygium
Jenis : *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry

Daun cengkeh memiliki ciri morfologi, yaitu berjenis daun tunggal, berbentuk bulat telur, ujung dan pangkal daun runcing, tepi daun rata, tulang daun menyirip, daun yang masih muda berwarna merah dan daun yang sudah tua berwarna hijau, permukaan atas daun mengkilap, panjang daun 6-13,5 cm,

lebar daun 2,5-5 cm, dan panjang tangkai daun 1-2 cm. Berdasarkan determinasi yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian merupakan spesies *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Cengkeh

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian suatu senyawa aktif dari suatu bahan atau simplisia baik dari nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai (Depkes RI, 2000). Ekstraksi daun cengkeh dalam penelitian ini menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Metode ini merupakan metode ekstraksi non termal yang dapat meningkatkan laju transfer massa serta memecahkan dinding sel dengan banyaknya *microcavity* sehingga akan mempersingkat waktu proses dan mengoptimalkan penggunaan pelarut. Kelebihan lain dari metode ini adalah dapat mengeluarkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak (Handaratri dan Yuyun, 2019).

Ekstraksi daun cengkeh dilakukan menggunakan pelarut etanol 96%. Pelarut etanol diketahui bersifat netral, tidak beracun, absorpsi baik, lebih selektif sebagai larutan penyari, dan memerlukan suhu yang lebih rendah untuk proses pemekatan menjadi ekstrak kental. Selain itu, etanol merupakan pelarut yang sesuai karena dapat melarutkan senyawa fenolik yang merupakan kandungan utama dalam daun cengkeh (Wahyulianingsih dkk., 2016). Menurut Munte dkk. (2015), konsentrasi etanol sebesar 96% mampu melarutkan senyawa fitokimia yang terkandung dalam tanaman secara menyeluruh baik

yang bersifat polar maupun non polar sehingga diharapkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun cengkeh dapat tersari secara optimal.

Daun cengkeh diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1: 10 untuk sampel dan pelarut yang bertujuan untuk memperoleh hasil nilai rendemen yang tinggi (Rifai dkk, 2018). Ekstraksi diawali dengan menimbang serbuk simplisia daun cengkeh sebanyak 300 gram menggunakan neraca analitik. Kemudian dilarutkan menggunakan etanol 96% sebanyak 3000 mL dibagi dalam 3 *beaker glass*. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat dan diaduk secara terus-menerus sampai homogen untuk meningkatkan kontak antara sampel dan pelarut sehingga senyawa dapat tersari dengan sempurna (Prasetya dkk, 2020). Selanjutnya diultrasonikasi pada *ultrasonic cleaning bath* selama 2 menit dengan 3 kali pengulangan, hal ini bertujuan untuk mendapatkan hasil ekstrak yang optimal.

Hasil ekstraksi kemudian disaring dengan kertas saring *whatman* untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Pelarut dalam filtrat diuapkan menggunakan *Rotary Vacum Evaporator* pada suhu 40°C kecepatan putaran 70 rpm, dan tekanan 175 Psi. Proses penguapan dihentikan ketika volume ekstrak mencapai jumlah kecil dan konsistensinya berubah menjadi agak kental agar ekstrak dapat dikeluarkan dari *evaporation flask* (Abeyseena dan Darrington, 2014).

Ekstrak diuapkan kembali menggunakan oven pada suhu 40°C selama 24 jam untuk menghilangkan sisa pelarut. Penggunaan oven menghasilkan berat kering konstan lebih cepat dan mengurangi resiko

penurunan kualitas ekstrak (Widarta dan Wiadnyani, 2019). Secara organoleptis diperoleh ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman, dan berbau khas.



Gambar 5. 1 Ekstrak kental simplisia daun cengkeh

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang untuk mengetahui nilai rendemen. Perhitungan rendemen ekstrak dilakukan untuk menentukan perbandingan jumlah ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal serta untuk mengetahui banyaknya senyawa bioaktif yang dapat tersari dalam ekstrak (Utami dkk, 2020). Hasil rendemen dari ekstrak kental daun cengkeh sebesar 14%. Ekstraksi ini dapat dikatakan baik karena hasil persen rendemen sesuai dengan yang dipersyaratkan yaitu 10-15% (Dirjen POM, 2000).

5.3. Uji Warna dan Uji Kromatografi Lapis Tipis

5.3.1. Uji Warna

Skrining fitokimia bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Susanti dkk, 2014). Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

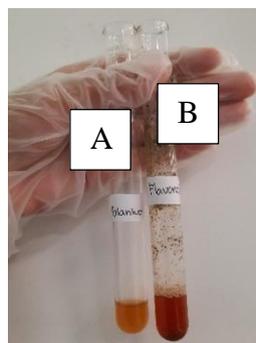
meliputi uji senyawa flavonoid, fenol dan tanin. Hasil dari uji warna yang telah dilakukan sebagai berikut:

Tabel 5. 1 Uji reaksi warna

Identifikasi Senyawa Aktif	Parameter Warna	Hasil
Flavonoid	Merah	Positif
Fenol	Hijau kehitaman	Positif
Tannin	Endapan putih	Positif

a. Uji Flavonoid

Ekstrak daun cengkeh sebanyak 0,3 gram dilarutkan dalam 10 mL aquadest panas. Kemudian dididihkan di atas penangas air untuk melarutkan senyawa flavonoid yang terkandung lalu disaring. Sebanyak 5 mL filtrat ditambahkan serbuk Mg 0,1 gram dan HCl pekat sebanyak 1 mL. Penambahan ini bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron pada senyawa flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Ergina dan Indarini, 2014). Perubahan warna menjadi merah pada sampel menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh positif mengandung senyawa flavonoid.



Gambar 5. 2 Hasil uji flavonoid

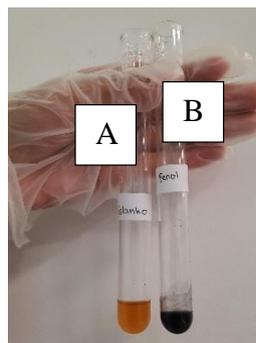
Keterangan :

Larutan A : larutan ekstrak

Larutan B : hasil positif uji flavonoid (perubahan warna menjadi merah)

b. Uji Fenol

Ekstrak daun cengkeh sebanyak 0,3 gram dilarutkan dalam 10 mL aquadest panas. Kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. filtrat kemudian diencerkan kembali dengan aquadest sampai tidak berwarna. Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 1-2 tetes FeCl₃. FeCl₃ akan bereaksi dengan gugus OH pada fenol menghasilkan warna warna biru tua atau hijau kehitaman (Robinson, 1991). Perubahan warna menjadi hijau kehitaman pada sampel menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh positif mengandung senyawa fenol.



Gambar 5. 3 Hasil uji fenol

Keterangan :

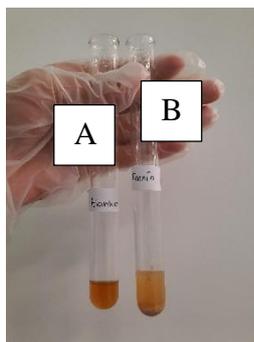
Larutan A : larutan ekstrak

Larutan B : hasil positif uji fenol (perubahan warna menjadi hijau kehitaman)

c. Uji Tanin

Ekstrak daun cengkeh sebanyak 0,3 gram dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. filtrat kemudian diencerkan kembali dengan aquadest sampai tidak berwarna. Sebanyak 2 mL filtrate ditambahkan 2-3 tetes larutan gelatin 1%. Senyawa tanin akan menggumpalkan protein dari gelatin membentuk kopolimer yang tidak larut air sehingga membentuk

endapan putih (Desinta, 2015). Adanya endapan putih pada sampel menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh positif mengandung senyawa tanin.



Gambar 5. 4 Hasil uji tannin

Keterangan :

Larutan A : larutan ekstrak

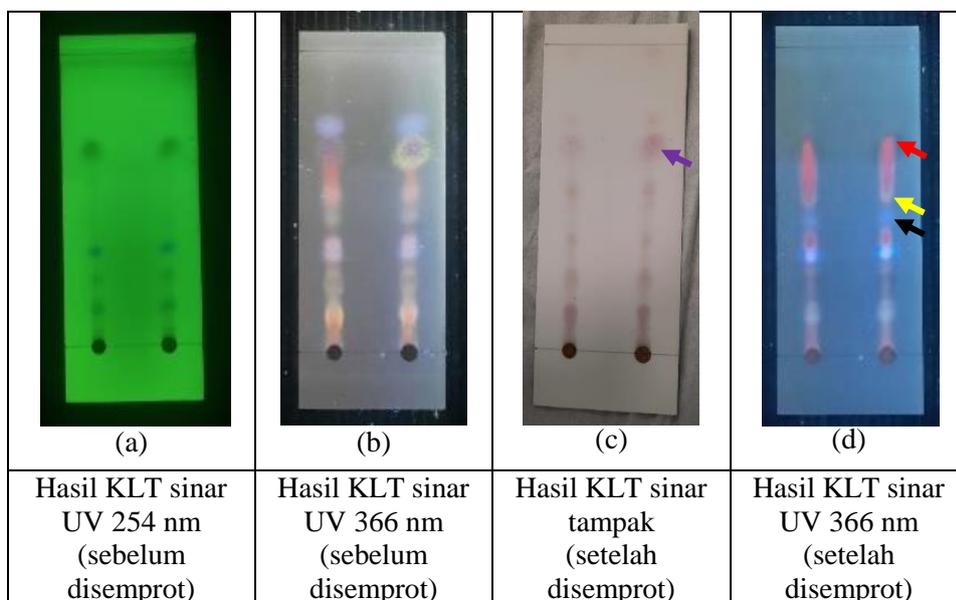
Larutan B : hasil positif uji tannin (terbentuk endapan berwarna putih)

5.3.2. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu metode analisis sederhana yang prinsip kerjanya adalah pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Uji kromatografi lapis tipis dilakukan sebagai uji penegasan dari skrining fitokimia (Forestryana dan Arnida, 2020). fase gerak yang digunakan, yaitu toluen: etil asetat dengan perbandingan 93:7. Sedangkan fase diam yang digunakan adalah plat silica gel F₂₅₄ berukuran 8 cm x 4 cm yang telah diberi tanda batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1,5 cm.

Ekstrak daun cengkeh ditotolkan pada plat silica gel F₂₅₄ menggunakan pipa kapiler berukuran 2 µl dengan jarak 1 cm pada tiap totolan lalu dimasukkan dalam *chamber* berisi fase gerak yang telah dijenuhkan sebelumnya. Ditunggu fase gerak mencapai tanda batas atas plat

kemudian diambil dan dikeringkan. Plat KLT yang telah kering diamati bercak nodanya dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya disemprotkan penampak noda H_2SO_4 pada plat KLT yang berfungsi sebagai reduktor gugus kromofor sehingga panjang gelombang noda bergeser kearah yang lebih panjang dan noda menjadi tampak oleh mata (Stahl, 1985). Setelah disemprot dilakukan pengamatan kembali pada panjang gelombang 366 nm. Hasil pengamatan pada sinar tampak menunjukkan spot bercak noda berwarna merah keunguan yang menunjukkan adanya senyawa eugenol pada daun cengkeh (Winarti, 2007). Pengamatan plat KLT pada sinar UV 366 nm menunjukkan adanya senyawa fenol yang ditunjukkan spot berwarna merah, senyawa flavonoid ditunjukkan spot warna kuning, dan senyawa tannin ditunjukkan spot warna biru (Harbone, 1987).



Gambar 5. 5 Hasil KLT ekstrak daun cengkeh

Keterangan:

↖ : spot eugenol

↘ : spot flavonoid

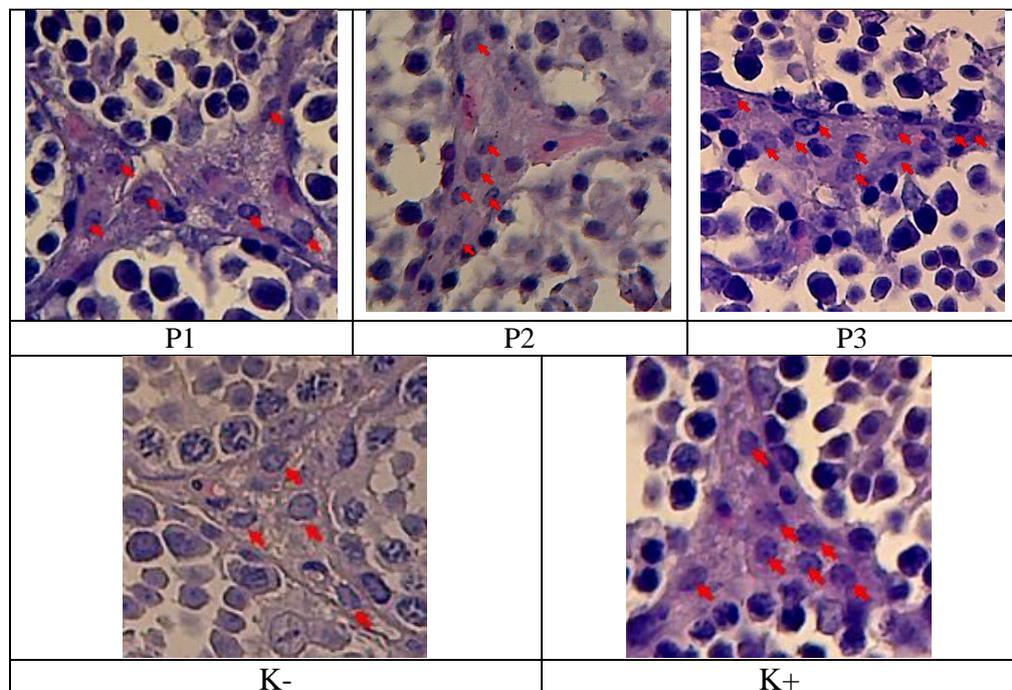
↗ : spot fenol

↙ : spot tanin

5.4. Hasil Penelitian

5.4.1. Hasil Pengamatan Histopatologi dan Perhitungan Jumlah Sel Leydig Mencit Jantan

Pengaruh ekstrak daun cengkeh terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik dapat diamati dari hasil preparat histopatologinya yang telah dilakukan pewarnaan menggunakan *hematoksin-eosin*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop cahaya *Olympus* dengan perbesaran 400 kali menggunakan *software Olyvia*. Perhitungan jumlah Sel Leydig dilakukan menggunakan *software Image Raster 3.0* dengan cara menghitung jumlah sel Leydig yang berada diantara tubulus seminiferus pada 10 lapang pandang. Hasil pengamatan histopatologi testis mencit jantan sebagai berikut:



Gambar 5. 6 Gambar sel Leydig pada setiap kelompok perlakuan
Keterangan: tanda panah merah menunjukkan sel Leydig

Hasil perhitungan jumlah Sel Leydig yang didapatkan selanjutnya diolah secara statistik dengan *software* SPSS versi 26 for windows. Hasil dari perhitungan jumlah sel Leydig pada setiap mencit yang telah diberi perlakuan sebagai berikut:

Tabel 5. 2 Hasil perhitungan jumlah sel Leydig

Kelompok \ Replikasi	Jumlah Sel Leydig					Mean \pm SD
	1	2	3	4	5	
K-	55	50	52	43	57	51,4 \pm 5,413
K+	95	65	95	124	95	94,8 \pm 20,861
P1	71	98	97	106	96	93,6 \pm 13,240
P2	110	105	105	115	109	108,8 \pm 4,147
P3	138	139	130	129	137	134,6 \pm 4,722

Keterangan:

1. Kontrol positif (K-) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari.
2. Kontrol positif (K+) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/ hari dan vitamin C dosis 0,065mg/gBB/hari.
3. Perlakuan 1 (P1) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 0,7mg/gBB/hari.
4. Perlakuan 2 (P2) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 1,4mg/gBB/hari.
5. Perlakuan 3 (P3) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 2,8mg/gBB/hari.

Tabel 5.2 menunjukkan hasil perhitungan jumlah Sel Leydig setelah mendapat perlakuan sesuai dengan kelompok perlakuan. Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan kontrol negatif yang hanya diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari memiliki jumlah sel Leydig paling sedikit. Pemberian parasetamol dengan dosis berlebih ini dapat mengakibatkan kadar radikal bebas dalam tubuh meningkat. Peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh dapat mempengaruhi sistem reproduksi salah satunya yaitu terjadinya apoptosis sel Leydig (Luangpirom

dkk, 2011). Sedangkan jumlah sel Leydig paling banyak ditunjukkan pada mencit kelompok perlakuan 3 (P3) yang diberi parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 2,8mg/gBB/hari. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh memiliki pengaruh terhadap jumlah Sel Leydig mencit jantan yang diinduksi pemberian parasetamol dosis toksik.

5.4.2. Hasil Analisis Data

a. Uji Normalitas

Pengujian normalitas dilakukan dengan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel yang diteliti kurang dari 50. Asumsi dari uji normalitas *Shapiro Wilk* adalah data dikatakan berdistribusi normal jika nilai signifikansi atau *p-value* $> 0,05$. Data berdistribusi normal merupakan persyaratan untuk uji statistik parametrik *One Way ANOVA*.

Tabel 5. 3 Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk*

Replikasi Kelompok	Nilai <i>P-Value</i> <i>Shapiro-Wilk</i>	Keterangan
K-	0,686	Normal
K+	0,325	
P1	0,087	
P2	0,390	
P3	0,127	

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa hasil analisis dari uji normalitas *Shapiro-Wilk* pada data jumlah sel Leydig memiliki nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga dapat dinyatakan bahwa data dalam penelitian ini data menyebar mengikuti distribusi normal.

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah populasi dan sampel yang digunakan dalam penelitian homogen antar kelompok atau tidak. Metode yang digunakan yaitu metode *Levene`s Test*. Uji homogenitas terpenuhi jika nilai signifikansi atau *p-value* $> 0,05$.

Tabel 5. 4 Hasil Uji Homogenitas *Levene`s Test*

Kelompok \ Replikasi	Nilai <i>P-Value</i> <i>Levene`s Statistic</i>	Keterangan
K-	0,392	Homogen
K+		
P1		
P2		
P3		

Berdasarkan tabel di atas hasil uji homogenitas dengan *Levene`s Test* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,392, sehingga dapat disimpulkan bahwa data kelompok perlakuan pada variabel sel Leydig memiliki ragam yang homogen atau memiliki varians yang sama. Pengujian selanjutnya adalah analisis parametrik menggunakan uji *One Way ANOVA*, karena data telah memenuhi persyaratan, yaitu berdistribusi normal dan homogen.

c. Uji *One Way ANOVA (Analytical of Variance)*

Uji *One Way ANOVA (Analytical of Variance)* merupakan metode statistika parametrik yang digunakan untuk pengujian perbedaan beberapa kelompok rata-rata, dimana hanya terdapat satu variabel bebas atau independen yang dibagi dalam beberapa kelompok dan satu variabel terikat atau dependen. Hipotesis yang digunakan pada uji ANOVA, yaitu:

H0 = Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) tidak memiliki pengaruh terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

H1 = Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) memiliki pengaruh terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

Kriteria H0 ditolak dan H1 diterima adalah jika nilai nilai signifikansi atau $p\text{-value} < 0,05$ yang diinterpretasikan terdapat perbedaan rata-rata dari kelompok yang signifikan.

Tabel 5. 5 Hasil uji *One Way ANOVA*

Replikasi Kelompok	Nilai $P\text{-value}$ Uji <i>One Way ANOVA</i>	Keterangan
K-		
K+		
P1	0,000	Berbeda signifikan
P2		
P3		

Berdasarkan hasil analisis *One Way ANOVA* (tabel 5.5) di atas, diperoleh nilai signifikansi atau $p\text{-value}$ sebesar 0,000. Maka dapat disimpulkan bahwa H0 ditolak dan H1 diterima atau terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian ekstrak daun cengkeh (*Syzigium aromaticum* L.) terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi parasetamol dosis toksik. Apabila H0 ditolak, selanjutnya dilakukan analisis lanjutan untuk mengetahui perbedaan setiap kelompok perlakuan yaitu dengan analisis *Post Hoc* atau pasca ANOVA.

d. Uji *Post Hoc* LSD (*Least Difference Significant*)

Uji analisis lanjutan setelah ANOVA atau uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji LSD (*Least Difference Significant*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap kelompok perlakuan. Uji *Post Hoc* LSD dikatakan berbeda signifikan jika nilai signifikansi atau *p-value* > 0,05.

Tabel 5. 6 Hasil uji Post Hoc LSD

Perlakuan	K-	K+	P1	P2	P3
K-		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K+	0,000*		0,872	0,072	0,000*
P1	0,000*	0,872		0,052	0,000*
P2	0,000*	0,072	0,052		0,002*
P3	0,000*	0,000*	0,000*	0,002*	

Keterangan:

* = berbeda signifikan

1. Kontrol positif (K-) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari.
2. Kontrol positif (K+): mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan vitamin C dosis 0,065mg/gBB/hari.
3. Perlakuan 1 (P1) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 0,7mg/gBB/hari.
4. Perlakuan 2 (P2) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 1,4mg/gBB/hari.
5. Perlakuan 3 (P3) : mencit jantan diberikan parasetamol dosis 1,95mg/gBB/hari dan ekstrak daun cengkeh dosis 2,8mg/gBB/hari.

Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc* LSD (tabel 5.6) di atas dapat disederhanakan untuk mempermudah membaca hasil analisis, berikut tabel notasi yang menunjukkan hasil penyederhanaan uji *Post Hoc* LSD yang telah dilakukan:

Tabel 5. 7 Hasil notasi Uji Post-hoc LSD

Perlakuan	Notasi
K-	a
K+	b
P1	b
P2	b
P3	c

Keterangan: notasi huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc* LSD (tabel 5.7) di atas, terdapat beda signifikan antara kelompok kontrol negatif (K-) dengan kelompok perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), perlakuan 3 (P3), dan kontrol positif (K+). Hal ini ditunjukkan dari nilai signifikansi $< 0,05$ antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok lain, yaitu 0,000 pada tiap kelompok perlakuan. Hasil ini dapat diartikan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh dosis 0,7mg/gBB/hari, 1,4mg/gBB/hari, dan 2,8mg/gBB/hari serta vitamin C dosis 0,065mg/gBB/hari memiliki aktivitas dalam perbaikan sel ditunjukkan dengan jumlah sel Leydig pada mencit jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

Perbedaan tidak signifikan ($p\text{-value} > 0,05$) ditunjukkan pada hasil uji *LSD* antara kelompok kontrol positif (K+), perlakuan 1 (P1), dan perlakuan 2 (P2). Sedangkan pada kelompok perlakuan 3 terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa dosis pada perlakuan 3 memiliki pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

5.6. Pengaruh Ekstrak Daun Cengkeh terhadap Jumlah Sel Leydig

Penelitian terhadap pengaruh pemberian ekstrak etanol daun cengkeh pada jumlah sel Leydig mencit jantan yang diinduksi oleh parasetamol dosis toksik menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol daun cengkeh dapat melindungi sel dari radikal bebas yang disebabkan oleh parasetamol dosis toksik. Hasil ini dibuktikan dari pengamatan preparat histopatologi testis mencit jantan. Pada kelompok kontrol negatif yang hanya diberi parasetamol dosis toksik memiliki jumlah sel Leydig paling sedikit. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun cengkeh dosis bertingkat mengalami perbaikan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Parasetamol merupakan salah satu sumber radikal bebas (Phaniendra dan Periyasamy, 2015). Parasetamol yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami proses metabolisme di hati. Pada metabolise fase pertama, sebagian kecil parasetamol dioksidasi oleh CYP-450 menjadi produk radikal bebas yaitu NAPQI (*N-acetyl-p-benzoquinoneimine*). Atom karbon pada struktur cincin benzena milik NAPQI mempunyai sifat elektrofil (kekurangan elektron) sehingga mempunyai muatan lebih positif. Sifat tersebut dapat dikonjugasi oleh *glutathione* (GSH) di hati. Konsumsi parasetamol dengan dosis yang berlebih (toksik) menyebabkan radikal bebas NAPQI meningkat sehingga jumlah *glutathione* (GSH) tidak cukup untuk berikatan. NAPQI yang selanjutnya didistribusikan melalui aliran darah ke seluruh tubuh akan berikatan secara destruktif dengan sel-sel dalam tubuh yang tersusun atas

lemak, protein, karbohidrat, DNA dan RNA (Fessenden, 2006; Mazaleuskaya dkk, 2015; Rosahdi dkk, 2013).

Sel Leydig memiliki peran penting dalam sistem reproduksi pria, yaitu sebagai penghasil hormon testosteron yang bertanggung jawab terhadap spermatogenesis dan perkembangan sifat kelamin sekunder (Sherwood, 2014). Membran sel Leydig sebagian besar tersusun atas lemak (PUFA). Hal ini menyebabkan radikal bebas dapat dengan mudah mengikat sel Leydig sehingga mengganggu fungsi sel dan terjadi apoptosis sel melalui reaksi peroksidasi lipid (Darbandi dkk, 2018).

Kadar radikal bebas dalam tubuh yang tinggi menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif dapat mengganggu keseimbangan hormonal reproduksi pria dengan mengaktifkan sumbu HPA (*hypothalamic-pituitary-adrenal*) lalu melepaskan hormon kortikosteron (pada hewan) dan kortisol (pada manusia) sebagai respons terhadap stress. Peningkatan hormon kortisol menghambat sekresi hormon GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*) sehingga sekresi hormon LH (*Luteinizing Hormone*) dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) menurun. Penurunan LH menyebabkan sel Leydig tidak memproduksi testosteron yang cukup sehingga terjadi kegagalan untuk mempertahankan pertumbuhan normal yang disebut dengan peristiwa apoptosis. Apoptosis sel merupakan kematian sel terprogram (*programed cell death*) yang bertujuan untuk mempertahankan kestabilan populasi sel yang dapat menyebabkan berkurangnya jumlah sel (Darbandi dkk, 2018; Lumongga, 2008). Pada penelitian ini ditunjukkan oleh jumlah sel Leydig kelompok

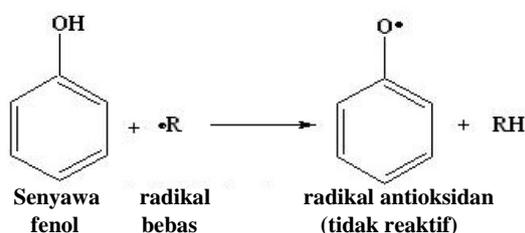
kontrol negatif yang hanya diberikan parasetamol dosis toksik sebesar 1,95mg/gBB/hari, memiliki jumlah sel Leydig paling sedikit dibanding kelompok perlakuan lain.

Dampak negatif radikal bebas akibat konsumsi parasetamol berlebih (dosis toksik) dapat diredam dengan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat terjadinya reaksi oksidasi dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam dan tidak menyebabkan kerusakan pada sel maupun jaringan (Faramayuda dkk, 2013; Indrawati dkk, 2018).

Antioksidan secara alami dapat diperoleh dari makanan yang berasal dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang mengandung senyawa fenolik yang cukup tinggi yaitu sebesar 70-80% (eugenol) serta flavonoid, dan tanin (Rorong, 2008; Sukirawati, 2020). Berdasarkan hasil penelitian melalui uji reaksi warna (skrinning fitokimia) dan KLT menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mengandung senyawa fenol (eugenol), flavonoid, dan tanin.

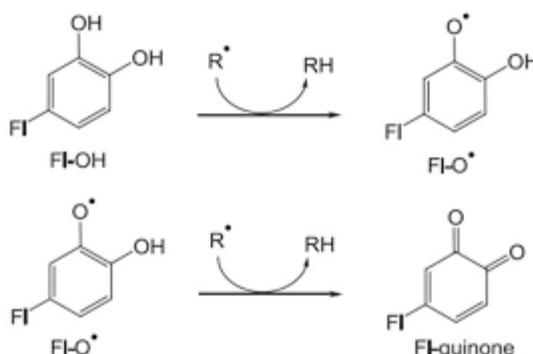
Hasil penelitian dari pemberian ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dengan dosis 0,7 mg, 1,4 mg, dan 2,8 mg per gram BB mencit per hari dapat memperbaiki kerusakan sel Leydig yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel akibat konsumsi parasetamol dosis toksik. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh yang mengandung senyawa fenol (eugenol), flavonoid, dan tanin bersifat antioksidan terhadap radikal

bebas parasetamol dosis toksik. Kandungan senyawa fenolik pada ekstrak mereduksi radikal bebas pada gugus hidroksi, peredam terbentuknya oksigen singlet, pengkelat logam, dan pendonor elektron (Zuraida dkk, 2017; Gazali dkk, 2019). Eugenol yang merupakan kandungan terbesar dalam daun cengkeh memiliki efek yang sama dengan α -tokoferol dalam menghambat peroksidasi lipid serta oksidasi LDL dan VLDL (Mu`nisa dkk, 2012). Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa fenol dalam meredam radikal bebas sebagai berikut:



Gambar 5. 7 Reaksi senyawa fenol dengan radikal bebas (Anwar, 2008)

Kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak memiliki aktivitas antioksidan melalui donor satu atom hidrogen dari gugus hidroksil (OH), menangkap dan menangkalkan radikal bebas (*scavenge*), serta peredam terbentuknya oksigen singlet (O^{\bullet}) (Trianggadewi 2010; Kamilatussaniah dan Iswari, 2015).



Gambar 5. 8 Reaksi senyawa flavonoid dengan radikal bebas (Pietta, 2000)

Reaksi tersebut (Gambar 5.9) merupakan mekanisme senyawa flavonoid sebagai antioksidan melalui donor atom hidrogen. Senyawa flavonoid (FI-OH) yang berikatan dengan radikal bebas (R^*) akan menghasilkan senyawa radikal fenoksil (FI-O *). Selanjutnya radikal fenoksil akan mengikat radikal bebas kedua sehingga menghasilkan quinone yang stabil (FI-quinone) (Arifin dan Sanusi, 2018).

Senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak ini juga dikenal sebagai antioksidan. Senyawa tanin memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi lipid dan menangkal radikal bebas (*scavenge*) dalam prooksidasi seluler (Sieniawska, 2015). Tanin juga bertindak sebagai antioksidan sekunder dengan mengkelat ion besi dan memperlambat proses oksidasi (Fithriani dkk, 2015).

Dosis pemberian ekstrak etanol daun cengkeh secara bertingkat dilakukan untuk mengetahui dosis yang paling berpengaruh dalam melakukan perbaikan sel. Dari hasil pengamatan dan perhitungan jumlah sel Leydig yang dilanjutkan dengan uji statistik dapat diketahui dosis yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan paling baik. Pada dosis 1 (0,7mg/gBB/hari) dan dosis 2 (1,4mg/gBB/hari) tidak menunjukkan perbedaan perbaikan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol positif vitamin C dosis 0,065mg/gBB/hari. Hal ini dimungkinkan karena jumlah antioksidan yang terdapat dalam ekstrak daun cengkeh dosis 1, dosis 2, serta vitamin C masih kurang untuk mengikat radikal bebas NAPQI dalam tubuh. Sedangkan pada dosis 3 (2,8mg/gBB/hari) menunjukkan efek perbaikan paling baik dan signifikan dibandingkan dosis 1,

dosis 2, dan vitamin C. Ekstrak daun cengkeh memiliki berbagai kandungan senyawa antioksidan dengan mekanisme kerja yang berbeda, salah satunya flavonoid yang mampu meningkatkan sintesis enzim antioksidan endogen sehingga meningkatkan jumlah perbaikan sel Leydig (Kusuma, 2015).

5.7. Manfaat Daun Cengkeh dalam Islam

Allah SWT telah menciptakan dan mengatur segala sesuatu yang ada di muka bumi ini. Hal ini tertuang dalam Al-Qur`an, salah satunya tentang penyembuhan penyakit yang terdapat dalam surah Asy-Syu`ara 26:78-80, yang berbunyi:

الَّذِي خَلَقَنِي فَهُوَ يَهْدِينِ ۚ وَالَّذِي هُوَ يُطْعِمُنِي وَيَسْقِينِ ۚ وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ۚ

Artinya: “(Allah) yang telah menciptakanku. Maka, Dia (pula) yang memberi petunjuk kepadaku (78) Dia (pula) yang memberiku makan dan minum (79) Apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku (80).” (QS. 26 As-Syu`ara` :78-80)

Menurut tafsir Al-Misbah, ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan makhluk dengan kadar dan ukuran yang sangat tepat agar menjalankan fungsinya dengan baik dan Allah sebagai pemberi petunjuk dalam menjalankan hidupnya. Dan hanya Allah yang memberi makan dan minum, apabila seseorang makan atau minum sesuatu yang mestinya dihindari atau melakukan kegiatan yang menjadikannya sakit, maka hanya Allah yang menyembuhkannya (Shihab, 2012).

Ayat tersebut memperingatkan manusia bahwa makan atau minum sesuatu yang seharusnya dihindari dapat menjadikan seseorang sakit. Pada dosis sesuai parasetamol merupakan obat yang memiliki efek terapeutik sebagai analgesik dan antipiretik. Namun penggunaan parasetamol secara berlebihan harus dihindari karena akan bersifat toksik dan dapat merusak sel atau jaringan dalam tubuh yang dapat menyebabkan seseorang sakit.

Allah menyembuhkan seseorang yang sakit, bukan berarti Allah dengan segera menyembuhkan suatu penyakit tanpa adanya usaha terlebih dahulu. Sebagaimana yang dikatakan dalam Shihab (2012) bahwa manusia harus tetap mencari obat dari setiap penyakit. Salah satu caranya yaitu meneliti kandungan berbagai jenis tumbuhan yang berpotensi menjadi obat. Allah dalam Al-Qur`an memberi petunjuk dalam surah Asy-Syu`ara 26:7-8:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ۙ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan yang baik?(7) Sungguh pada yang demikian itu terdapat tanda (kebesaran Allah), tetapi kebanyakan mereka tidak beriman (8)” (QS. 26 As-Syu`ara` :7).

Menurut tafsir Al Misbah dalam QS. Asy-Syu`ara ayat 7 di atas terdapat tiga kata yang ditekankan yaitu kata يَرَوْا yang artinya memperhatikan, زَوْج yang artinya tumbuh – tumbuhan dan كَرِيم yang artinya baik dan mulia. Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah memerintahkan manusia untuk memperhatikan tumbuh-tumbuhan baik disekitarnya yang telah diciptakan oleh Allah SWT. Tumbuhan yang baik atau mulia dapat diartikan sebagai

tumbuhan yang memiliki manfaat. Penciptaan tumbuhan ini dimaksudkan agar manusia senantiasa beriman akan penciptaan-Nya melalui tanda-tanda keagungan dan kekuasaan Allah SWT (Shihab, 2012).

Salah satu jenis tumbuhan yang memiliki manfaat dan potensi sebagai obat herbal namun masih jarang diteliti adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). Daun cengkeh mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin yang memiliki aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas (Rorong, 2008). Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak daun cengkeh menunjukkan efek perbaikan pada organ reproduksi pria ditunjukkan dari jumlah sel Leydig mencit jantan yang diinduksi oleh parasetamol dosis toksik.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil skrining fitokimia melalui uji reaksi warna dilanjutkan dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mengandung senyawa fenol, flavonoid, dan tanin.
2. Terdapat pengaruh signifikan ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap jumlah sel Leydig mencit jantan yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

6.2.Saran

Saran yang dapat disampaikan adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan variabel penelitian dengan sistem organ yang berbeda agar dapat diketahui efek ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) sebagai antioksidan pada organ tubuh lainnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan supaya ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dapat dikembangkan menjadi obat herbal.

DAFTAR PUSTAKA

- Abeysena, I. dan Darrington R. 2014. *Understanding Evaporation and Concentration Technologies*. Part 1-Basic Principle of Commonly Used Evaporation Teknologi. Ipswich UK: Genevac Ltd.
- Afifatunnisa. 2013. Pengaruh Lama Waktu Kematian terhadap Kemampuan Motilitas Spermatozoa testis Hewan Coba Post Mortem yang Diperiksa pada Suhu Kamar dan Dingin [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Alfa, Nicholas, Syazili Mustofa, dan Nur Ayu Virginia Irawati. 2019. Likopen, Antioksidan Eksogen yang Bermanfaat bagi Fertilitas Laki-laki. *Jurnal Majority*. Volume 8, Nomor 1.
- Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi. 2002. *Terjemah Tafsir Ibnu Katsir Juz 23*. Bandung: Sinar Baru al-Gensindo.
- Ali, Farida, Ferawati Ferawati, Risma Arqomah. 2013. Ekstraksi Zat Warna dari Kelopak Bunga Rosella (Study Pengaruh Konsentrasi Asam Asetat Dan Asam Sitrat). *Jurnal Teknik Kimia*. Volume 19 Nomor 1.
- Amanda C. Carita, Bruno Fonseca Santos, Jemima Daniela Shultz, Bozena Michniak-Kohn, Marlus Chorilli, Gislaine Ricci Leonardi. 2020. Vitamin C: One Compound, Several Uses. Advances for Delivery, Efficiency and Stability. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 24.
- American Medical Association, 2013. *American Medical Association Complete Guide to Prevention and Wellness*. United State of America: Wiley.
- Anas, Yance, Niken Puspitasari, Maulita Cut Nuria. 2013. Aktivitas Stimulansia Ekstrak Etanol Bunga dan Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry.) pada Mencit Jantan Galur *Swiss* Beserta Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Jurnal Ilmu Farmasi & Farmasi Klinik*. Volume 10, Nomor 1.
- Anwar, Yunita Arian Sani. 2008. Pengaruh Bubur Buah Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L) terhadap Angka Peroksida Minyak Kelapa. *Jurnal Pijar MIPA*. Volume 3, Nomor 1.
- Apparavoo P. 2012. Penggunaan Parasetamol oleh Pelajar SMA dan Tukang Becak [skripsi]. Universitas Sumatera Utara.
- Arief, S. 2007. *Radikal Bebas*. Surabaya: Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran UNAIR.

- Arifin, Bustanul dan Sanusi Ibrahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah* Volume 6 Nomor 1.
- Aulanni'am, Muslim Akmal, M. Aris Widodo, Sutiman B. Sumitro, dan Basuki B. Purnomo. 2011. Inhibin B Menghambat Ekspresi Molekul Protamine P2 di Dalam Kepala Spermatozoa Tikus (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. Volume 5, Nomor 2.
- Berne B., Levy, dan Koeppen B. Stanton. 2018. *Physiology*. Edisi ke-7. Philadelphia: Elsevier.
- Bertolini, A., dkk., 2006, *Paracetamol: New Vistas of an Old Drug*. USA: Fall Winter 2006.
- Bhuiyan, N.I., Jaripa Begum, Nemai Chandra Nandi dan Farhana Akter. 2010. Constituents of Essential Oil from Leaves and Buds of Clove (*Syzygium aromaticum* (L) Alston). *African Journal of Plant Science*. Volume 4, Nomor 11.
- BPOM RI. 2006. *Data Keracunan Parasetamol di Indonesia Tahun 2002-2005*. Jakarta: Sentra Informasi Keracunan Nasional.
- Campbell, Neil A. 2004. *Biologi. Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Corwin, Elizabeth J. 2000. *Buku Saku Patofisiologi*. EGC: Jakarta.
- Dahlan, M.S. 2014. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Dalaen-Al S, Al-Qtaitat AI. 2014. Review article: Oxidative Stress versus Antioxidants. *BIO Journal*. Volume 2, Nomor 5.
- Darbandi, Mahsa, dkk. 2018. Reactive Oxygen Species and Male Reproductive Hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology*. Volume 16, Nomor 87.
- Dawn B, Marks. dkk., 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar*. Jakarta: EGC.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal POM: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Desinta, Tirtawijaya. 2015. Penentuan Jenis Tanin Secara Kualitatif dan Penetapan Kadar Tanin dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) secara Permanganometri. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol. 4 No. 1*

- Diego, F.C, Claudia R.F, and Wanderley. 2014. Clove (*Syzigium aromaticum*: A Precious Spice. *Asian Pacific Journal Tropical Biomed.* Volume 4, Nomor 2.
- Diniatik. 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook F. & Th.) dengan Metode Spektrofotometri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi* Volume 3, Nomor 1.
- Direktorat Jenderal POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Dong L, Jelinsky SA, Finger JN, Johnston DS, Kopf GS, Sottas CM, Hardy MP, Ge RS. 2007. Gene Expression During Development of Fetal and Adult Leydig Cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol. 1120.
- Ergina, Siti Nuryanti, dan Indarini Dwi Puspitasari. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. Volume 3, Nomor 3.
- Esquenezi, 2017. *Anatomy and Physiology Hepar* Vol 7. USA: Universidad del Rosario.
- Faramayuda, Fahrauk, Fikri Alatas, dan Teresa T.R. 2013. Formulasi Sediaan Losion Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Coklat (*Theobroma cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. Volume 1, Nomor 1.
- Federer, W. 1995. *Statistic and Society: Data Collection and Interpretation*. New York: Marcel Dekker.
- Fessenden RJ, Fessenden JS. 1986. *Kimia Organik. Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Fithriani, Diini, Sri Amini, Susiana Melanie, Rini Susilowati. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.*, dan *Nannochloropsis sp.* *Jurnal PB Kelautan dan Perikanan*. Volume 10, Nomor 2.
- Forestryana D. dan Arnida. 2020. Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* Volume 11 Nomor 2.
- Gazali, Mohamad, Hayatun Nufus, Nurjanah, dan Zuriat. 2019. Eksplorasi Senyawa Bioaktif Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb) Asal Pesisir Aceh Barat Sebagai Antioksidan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Volume 11, Nomor 1.

- Ghozali, I. 2005. *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Gonzales, Pablo Hurtado dan Rod T. Mitchell. 2017. Analgesic Use in Pregnancy and Male Reproductive Development. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes Journal*. Volume 24, Nomor 3.
- Gordon, M. H. 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro*. London: Elsevier Applied Science.
- Graham GG, Davies MJ, Day RO, Mohamudally A, dan Scott KF. 2013. The Modern Pharmacology of Paracetamol: Therapeutic Actions, Mechanism of Action, Metabolism, Toxicity and Recent pharmacological Findings. *Journal Inflammopharmacology*. Volume 21, Nomor 3.
- Guittot Mazaud S, dkk. 2013. Paracetamol, Aspirin, and Indomethacin Induce Endocrine Disturbances in the Human Fetal Testis Capable of Interfering with Testicular Descent. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Volume 98, Nomor 11.
- Haditomo, I. 2010. Efek Larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap *Aedes aegypti* [skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Hafez ESE, Jainudeen MR, dan Rosnina Y. 2000. *Hormones, Growth Factor and Reproduction*. Dalam: Hafez ESE and Hafez B, editor. *Reproduction in Farm Animals 7th*. Maryland: Lippincott William and Wilkins.
- Halim, Steven Victoria, Antonius Adji Prayitno, dan Yosi Irawati Wibowo. 2018. Profil Swamedikasi Analgesik di Masyarakat Surabaya, Jawa Timur. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Volume 16, Nomor 1.
- Halliwell, Barry dan Gutteridge John M. C. 2015. *Free Radikal In Biology And Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Handaratri, A. dan Yuyun Yuniati. 2019. Kajian Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei dengan Metode Sonikasi dan Microwave. *Reka Buana: Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, Volume 4 Nomor 1.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Cetakan II, Diterjemahkan oleh K. Padawinata dan I. Soediro. Bandung: ITB.
- Harvey RA dan Champe PC. 2013. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Jakarta: Widya Medika.

- Hasanah, Annisa`. 2015. Efek Jus Bawang Bombay (*Allium cepa* Linn.) terhadap Motilitas Spermatozoa Mencit yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*. Volume 11, Nomor 2.
- Hochschilds, Z.F., G.D. Adamson, J.D. Mouzon, O. Ishihara, R. Mansour. 2009. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART). *World Health Organization (WHO) revised glossary on ART terminology*. Volume 92, Nomor 5.
- Ibrahim, Tasneem, Smriti Agnihotri dan Arun Kumar Agnihotri, 2013. Paracetamol Toxicity- An Overview. *Emergency Medicine Journal*. Volume 3, Nomor 6.
- Indrawati, Fitria Suci Ariva, Refilda. 2018. Penentuan Kandungan Antioksidan Dalam Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang Diekstraksi dengan Bantuan Gelombang Ultrasonik. *Chempublish Journal*. Volume 3, Nomor 2.
- Isbagio, D.W. 1992. Euthanasia pada Hewan Percobaan. *Jurnal Media Litbangkes* Volume 11 Nomor 1.
- Istriyati dan F. Susilowati, 2008. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Jarak (*Ricinus communis* L) terhadap Struktur Histologis Testis Tikus Sawah (*Ratus argentiventer* Robinson & Kloss). *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. Volume 15, Nomor 2.
- James, L.P., Mayenix, P.R., dan Hinson, J.A. 2003. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity. *Journal of Drug Metabolism and Disposition*. Volume 13, Nomor 12.
- Junqueira L.C., Carneiro J., Kelley R.O. 1998. *Histologi Dasar*. Terjemahan Jan. Tambayong. Edisi 8. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kamilatussaniah, A Yuniastuti, dan RS Iswari. 2015. Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar TSA Dan MDA Tikus Putih Yang Diinduksi Timbal (Pb). *Jurnal MIPA* Volume 38 Nomor 2.
- Katzung, B.G., 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi III. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kembuan, Melisa V, Sunny Wangko, dan George N.T. 2012. Peran Vitamin C Terhadap Pigmentasi Kulit. *Jurnal Biomedik*. Volume 4, Nomor 3.
- Kumar, S., K. Jyotirmayee, M. Sarangi. 2013. Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal

- Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Volume 18, Nomor 1.
- Kusuma, Anggia Shinta Wijaya. 2015. The Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves (*Annona muricata* L.) to Decreased Levels of Malondialdehyde. *Jurnal Majority*. Volume 4, Nomor 3.
- Lacy, C. F., Armstrong, L., Golgman, M. P., Lance, L. L. 2008. *Drug Information Handbook*, 17th ed. New York: Lexi-Copm Inc.
- Lee dan William. 2017. Acetaminophen (APAP) Hepatotoxicity-Isn't it Time For APAP to Go Away?. *Journal of Hepatology*. Volume 67.
- Luangpirom, Ampa, Watchara Kourchampa dan Thanaree Junaimuang. 2012. Attenuating Effect of *Allium ascalonicum* L. on Paracetamol Induced Seminal Quality Impairment in Mice. *Journal of Medicinal Plants Research*. Volume 6, Nomor 13.
- Lumongga, Fitriani. 2008. *Apoptosis*. Medan: USU Repository.
- Lusiana, Darsono. 2002. *Diagnosis dan Terapi Intoksikasi Salisilat dan Parasetamol*. Bandung: Universitas Kristen Maranatha.
- Malole, M.B.M., Pramono C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Marta Jerzy. 2014. Paracetamol: Mechanism of Action, Applications and Safety Concern. *Poland Journal: Polish Pharmaceutical Society*. Volume 1.
- Martin, A., Swarbrick, J. dan Cammarata, A. 2008. *Farmasi Fisik* Edisi Ketiga. Jakarta: Penerbit UI Press.
- Mazaleuskaya, Liudmila L., Katrin Sangkuhl, Caroline F. Thorn, Garret A. FitzGerald, Russ B. Altman, 2015. Pharmgkb Summary: Pathways of Acetaminophen Metabolism at the Therapeutic Versus Toxic Doses. *Pharmacogenet Genomics* Volume 25 Nomor 8.
- Mescher, A. L. 2012. *Histologi Dasar Junqueira* edisi 12. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Mu`nisa, Andi, Tutik Wresdiyati, Nastiti Kusumorini, dan Wasmen Manalu. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh. *Jurnal Veteriner*. Volume 13, Nomor 3.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Volume 7, Nomor 2.

- Munte, Liliyanti, Max Revolta Runtuwene, Gayatri Citraningtyas. 2015. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Volume 4 Nomor 3.
- Mutiarahmi, Citra Nur, Tyagita Hartady, Ronny Lesmana. 2021. Kajian Pustaka: Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus* Volume 10 Nomor 1.
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan* (Edisi Revisi). Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Novianty. Shella Indri, Christnawati, dan Darmawan S. 2014. Pengaruh Aplikasi Novamin Terhadap Kekuatan Geser Pelekatan Braket Ortodontik. *Jurnal Kedokteran Gigi*. Volume 5, Nomor 4.
- Ojha S, dkk. 2015. Thymoquinone Protects Against Myocardial Ischemic Injury by Mitigating Oxidative Stress and Inflammation. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine 2015*.
- Pakaya, David. 2014. Peranan Vitamin C Pada Kulit. *Medika Tadulako, Jurnal Ilmiah Kedokteran*. Volume 1, Nomor 2.
- Phaniendra A., Jestadi D.B. dan Periyasamy L., 2015. Free Radicals: Properties, Source, Targets and Their Implication in Various Disease. *India Journal Clinical Biochemical*. Volume 30, Nomor 1.
- Pietta, P.G. 2000. Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod* Volume 63 Nomor 7.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., dan Shahabimajd, N., 2006, Antioxidant Activity, Phenol, and Flavonoid Content of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*. Volume 5, Nomor 11.
- Prasetya, I Wayan Gede Angga, G.P. Ganda Putra, Luh Putu Wrasati. 2020. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri* Volume 8 Nomor 1.
- Pratiwi, Yunita Surya dan Sulistiana Prabowo. 2018. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Jaringan Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Parasetamol Dosis Tinggi. *Hang Tuah Medical Journal*. Volume 15, Nomor 2.

- Prayoga, Priangga Rostu. 2015. The Effect of Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill) To Amount, Motility, and Morphology of Spermatozoa in Cigarettes-Induced Infertility Patients. *Jurnal Majority*. Volume 4 Nomor 5.
- Priambodo, S. 1995. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu, Seri PHT*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Prianto Henny, Rurini Retnowati, Unggul Pundjung Juswono. 2013. Isolasi dan Karakterisasi dari Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Kering Hasil Distilasi Uap. *Kimia Student Journal*. Volume 1, Nomor 2.
- Qomarrudin, Achmad, dkk. 2016. Profil Pengetahuan Ibu-Ibu PKK Tentang Penggunaan Obat Antipiretik Secara Swamedikasi. *Jurnal Farmasi Komunitas*. Volume 3, Nomor 1.
- Rafita, Ita Dwi, Lisdiana Lisdiana, Aditya Marianti. 2015. Pengaruh Ekstrak Kayu Manis terhadap Gambaran Histopatologi dan Kadar SGOT-SGPT Hepar Tikus yang Diinduksi Parasetamol. *Unnes Journal of Life Science*. Volume 4, Nomor 1.
- Ramadhani, Nur, dan Sri Adi Sumiwi. 2016. Aktivitas Antiinflamasi Berbagai Tanaman Diduga Berasal dari Flavonoid. *Jurnal Farmaka Suplemen*. Volume 14, Nomor 2.
- Rifai, Ginanjar, I Wayan Rai Widarta, Komang Ayu Nocianitri. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut dan Rasio Bahan dengan Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal ITEPA* Volume 7 Nomor 2.
- Rini, Dyah Setyo, dan Fachri Faisal. 2015. Perbandingan Power of Test dari Uji Normalitas Metode Bayesian, Uji Shapiro-Wilk, Uji Cramer-von Mises, dan Uji Anderson-Darling. *Jurnal Gradien*. Volume 11, Nomor 2.
- Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *Biotrends*. Volume 4, Nomor 1.
- Rojihah, Lusy Asa Akhrani, Nur Hasanah. 2015. Perbedaan Political Awareness Dilihat Dari Peran Gender Pemilih Pemula. *Jurnal Media PSI*. Volume 01, Nomor 01.
- Rorong, Johnly Alferts. 2008. Uji Aktivitas Antioskidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia carryophyllus* Thumb) dengan Metode DPPH. *Jurnal Chemistry Progress*. Volume 1, Nomor 2.

- Rosahdi, Tina Dewi, Mimin Kusmiyati, Fitri Retna Wijayanti. 2013. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Buah Rambutan Rapih Dengan Metode DPPH. *Jurnal ISTEK*. Volume 7, Nomor 1.
- Rossidy, I. 2008. *Rahasia Tumbuhan Obat Perspektif Islam* 1st ed. Malang: UIN-Maliki Press.
- Ross dan Wilson. 2005. *Anatomy and Physiology in Health and Illness 10 th edition*. Terjemahan oleh Elly. Nurachmah. 2011. Jakarta: Salemba Medika.
- Salisbury, G. W. 1987. *Fisiologi Reproduksi Dan Inseminasi Buatan Pada Sapi*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sari, Ade Irna Novita. 2019. Penentuan Kafein dan Parasetamol dalam Sediaan Obat Sakit Kepala Secara Simultan Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Ind. J. Chem. Anal.* Volume 02, Nomor 01.
- Sari, Erna Yunita, Bhakti Karyadi, Aceng Ruyani, Choirul Muslim. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kijing (*Pilsbryoconcha exilis*) Pada Pemulihan Kualitas Sperma Mencit (*Mus musculus*). *PENDIPA Journal of Science Education*. Volume 3, Nomor 1.
- Senduk, Toar Waraney, Lita A. D. Y. Montolalu, dan Verly Dotulong. 2020. Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. Volume 11, Nomor 1.
- Setiyono, Awik, Hendy Hendarto, Budi Prasetyo, Margarita M. Maramis. 2015. Pengaruh Tingkat Stres dan Kadar Kortisol dengan Jumlah Folikel Dominan pada Penderita Infertilitas yang Menjalani Fertilisasi Invitro. *Majalah Obstetri & Ginekologi*. Volume 23 Nomor 3.
- Sherwood, L. 2014. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Shihab, M. Quraish. 2012. Tafsir al-Misbah. Jakarta: Lentera Hati.
- Sholihah, Mar`atus, Usman Ahmad, dan I Wayan Budiastira. 2017. Aplikasi Gelombang Ultrasonik untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksi dan Kulit Manggis. *JTEP Jurnal Keteknik Pertanian*. Volume 5 Nomor 2.
- Siagian, A. 2002. *Bahan Tambahan Makanan*. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara.
- Sidabutar, Denty M., Carla F. Kairupan, Meilany Durry. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Gambaran Histopatologik Hati Tikus Wistar yang Diberikan Parasetamol Dosis Toksik. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. Volume 4, Nomor 1.

- Sieniawska, Elwira. 2015. Activities of Tannins – From In Vitro Studies to Clinical Trials. *Journal Natural Product Communications* Volume 10 Nomor 11.
- Sinaga, Fajar Apollo. 2016. Stress Oksidatif dan Status Antioksidan pada Aktivitas Fisik Maksimal. *Jurnal Generasi Kampus*. Volume 9, Nomor 2.
- Siyoto dan Sodik. 2015. *Dasar Metodologi Penelitian* Cetakan 1. Yogyakarta: Literasi Media Publishing.
- Sjamsul, Arif. 2012. *Radikal Bebas*. Surabaya: FK UNAIR
- Solomon, Michael dkk. 2009. *Consumer Behaviour: A European Perspective*. UK: Financial Times / Prentice Hall.
- Stahl, E.. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Edisi terjemahan (diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Iwang Soediro). ITB Press: Bandung.
- Steinberg, Francene, dan Rucker, R. B. 2004. *Vitamin C: Encyclopedia of Biological Chemistry*. California: University of California.
- Sukirawati, Ainun Muzdalifah. 2020. Uji Daya Hambat Krim Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*. Volume 4, Nomor 1.
- Surya, Made Ayu Nadine Indira, Gusti Ayu Artini, Desak Ketut Ernawati. Pola Penggunaan Parasetamol atau Ibuprofen sebagai Obat Antipiretik *Single Therapy* pada Pasien Anak. *E-Jurnal Medika*, Volume 7 Nomor 8.
- Suryanto. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Surabaya: CV Putra Media Nusantara (PMN).
- Susanti, N.M.P., Budiman, I.N.A, Warditiani, N.K. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 90% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.). *Jurnal Farmasi Udayana* Volume 3 Nomor 1.
- Suwarto, Silvia Hermawati, dan Yuke Octavianty. 2014. *Top 15 Tanaman Perkebunan*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Syarif, Rezki Amriati, Muhajir, Aktsar Roskiana Ahmad, dan Abd. Malik. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Etanol Daun *Cordia Myxa* L. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. Volume 2 Nomor 1.

- Talahatu, Diana R, Pamela Mercy Papilaya. 2015. Pemanfaatan Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) sebagai Herbisida Alami terhadap Pertumbuhan Gulma Rumput Teki (*Cyperus Rotundus* L.). *Biopendix*. Volume 1, Nomor 2.
- Thomas. 2007. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Yogyakarta: Kanisius.
- Thomson, E.B. 1985. *Drug Bioscreening, Fundamentals of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology*. New York: Graceway Publishing Company Inc.
- Tolistiawaty, Intan, Junus W., Phetisya Pamela F. Sumolang, Octaviani. 2014. Gambaran Kesehatan pada Mencit (*Mus musculus*) di Instalasi Hewan Coba. *Jurnal Vektor Penyakit*. Volume 8, Nomor 1.
- Tortora, G. J., dan Derrickson, B. 2009. *Principles of Anatomy & Physiology*. USA: John Wiley & Sons. Inc.
- Trianggadewi DP. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) Terhadap Kadar Kolesterol LDL Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi dengan Pakan Hiperkolesterolemia. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Negeri Surakarta.
- Utami Novi Fajar, Sely Meidi Nurdayanty, Sutanto, dan Usep Suhendar. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi pada Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Iler (*Plectranthus scutellarioides*). *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi* Volume 10 Nomor 1.
- Utami, Dyah Kartika. 2015. Pengaruh Boraks Terhadap Sistem Reproduksi Pria. *Majority*. Volume 4, Nomor 8.
- Utami, Sri. 2009. Etiologi Infertilitas pada Pria Akibat dari Mutasi DNA Mitokondria (mtDNA). *Maranatha Journal of Medicine and Health*. Volume 9, Nomor 1.
- Vliegenthart, ADB, dkk. 2018. Circulating Acetaminophen Metabolites Are Toxicokinetic Biomarkers of Acute Liver Injury. *Journal Clinical Pharmacology & Therapeutics*. Volume 101, Nomor 4.
- Wahbah az-Zuhaili. 1991. *Tafsir al-Munir Fi Al-`aqidah wa Asy-Syar`iah wa Al-Manhaj Juz 23*. Suriah Damaskus: Darul Fikri.
- Wahdaningsih, Sri, Erna Prawita Setyowati dan Subagus Wahyono. 2011. Aktivitas Panangkap Radikal Bebas dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J.Sm). *Majalah Obat Tradisional*. Volume 16, Nomor 3.

- Wahyulianingsih, Selpida Handayani, Abd. Malik. 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* Volume 3 Nomor 2.
- Wahyuni, 2019. Rasionalitas Penggunaan dan Kelengkapan Resep Non Steroid Anti Inflamasi Drugs (NSAID) pada Tiga Puskesmas di Kabupaten Gayo Lues. *Jurnal Dunia Farmasi*. Volume 2, Nomor 2.
- Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Volume 3, Nomor 2.
- Widarta, I Wayan Rai, dan Anak Agung Istri Sri Wiadnyani. 2019. Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Alpukat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* Volume 8 Nomor 3.
- Widhiantara, I Gede, I Wayan Rosiana. 2015. Terapi Testoteron dan LH (*Luteinizing Hormone*) Meningkatkan Jumlah Sel Leydig Mencit (*Mus musculus*) yang Menurun Akibat Paparan Asap Rokok. *Jurnal Virgin*. Volume 1, Nomor 1.
- Wilmana Freddy P. dan Sulistia Gan. 2011. *Analgesik-Antipiretik Analgesik AntiInflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya*. dalam D. F.-U. Indonesia, S. G. Gunawan, R. Setiabudy, Nafrialdi, & Elysabeth. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Winarsih dan Mutiatikum. 2013. Pelayanan Farmasi dan Perbekalan Kesehatan pada Musim Haji Tahun 2012 di Sektor 3 Madinah, Arab Saudi. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Volume 3, Nomor 1.
- Winarti, Wiwi, Ratna Djamil, Eva Nurwahidah. 2007. Perbedaan Pola Kromatogram dari Daun Cengkeh dan Bunga Cengkeh, *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry., Myrtaceae. *International Seminar on Pharmaceutics*.
- Yatim, W. 1996. *Reproduksi dan Embryologi Untuk Mahasiswa Biologi dan Kedokteran*. Bandung: Penerbit TARSITO.
- Yuswantina, R. 2009. Uji Aktivitas Penangkap Radikal dari Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat, dan Etanol *Rhizoma binahong* dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) [skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Zheng, W. dan Wang, S. Y. 2009. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries, *Journal. Agric. Food Chem*. Volume 51, Nomor 2.

- Zulfiani, Syafruddin Ilyas, dan Salomo Hutahaean. 2013. Pengaruh Pemberian Vitamin C Dan E Terhadap Gambaran Histologis Ginjal Mencit (*Mus musculus* L.) yang Dipajankan Monosodium Glutamat (MSG). *Saintia Biologi*. Volume 1, Nomor 3.
- Zuraida, Sulistiyani, Dondin Sajuthi, dan Irma Herawati Suparto. 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. Volume 35, Nomor 3.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil uji determinasi tanaman

**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR**
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396, e-mail: materiamedicabatu@jatimprov.go.id
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/ 602A/ 102.7/ 2020
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Cengkeh**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : MEILINA RATNA D, S.Kep., NS., M.Kep
NIP : 19820523 200912 2 001
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman cengkeh

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Myrtales
Suku : Myrtaceae
Marga : Syzygium
Jenis : *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry
Sinonim : *Eugenia aromatica* (L.) Baill. = *Eugenia caryophyllata* Thunb. = *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bull. & Harr. = *Caryophyllus aromaticus* L. = *Syzygium Perry*. = *Jambos caryophyllus*, Spreng.

Nama Umum : Clove (Inggris), cengkeh (Indonesia, Jawa, Sunda), wunga lawang (Bali), cangkik (Lampung), sake (Nias), bungeu lawang (Gayo), cengke (Bugis), sinke (Flores), canke (Ujung Pandang), gomode (Halmahera, Tidore).

Kunci Determinasi: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251b-253b-254b-255b-256b-261a-262b-263b-264b-2b

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 10 m. Batang: Berkayu, bercabang banyak, bulat, mengkilap, masih muda hijau setelah tua keunguan. Daun: Tunggal, bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengkilap, panjang 6-13.5 cm, lebar 2.5-5 cm, tangkai panjang 1-2 cm, masih muda merah setelah tua hijau. Bunga: Majemuk, malai, tumbuh di ujung batang, kelopak bentuk corong, pangkal berlekatan, mahkota bentuk bintang, panjang 4-5 mm, benang sari banyak, panjang ± 5 mm, tangkai putik pendek, masih muda hijau setelah tua merah. Buah: Buni, bulat telur, panjang 2-2.5 cm, merah kehitaman. Biji: Kecil, diameter ± 4 mm, coklat muda. Akar: Tunggang, coklat.

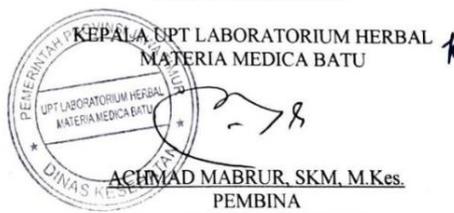
3. Bagian yang digunakan : Daun.
4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 28 Desember 2020


KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Scanned by TapScanner

Lampiran 2 Hasil uji kode etik

	FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Kampus 3 FKIK Gedung Ibu Thufail lantai 2 Jalan Locari, Tlekung Kota Batu E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id
	KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 021/EC/KEPK-FKIK/2021

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN(KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul Efektifitas Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) dan Buah Delima Merah (*Punica granatum L*) terhadap Histopatologi Mencit Dan Penyembuhan Luka Bakar

Sub Judul Efektifitas Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum L*) dan Buah Delima Merah (*Punica granatum L*) terhadap Histopatologi Mencit Dan Penyembuhan Luka Bakar

Peneliti

- Melina Ratna Dianti, S.Kep.,NS.,M.Kep
- Adhin Muiza Keswanty
- Ivana Ifadayanti
- Suci Angra Heny
- Alya Bunga Kirana
- Eka Laeli Agustin
- Arien Alvi Fathoniyah
- Pratiwiek Nanda Trisanti
- Ikrimah Nur Alawiyah

Unit / Lembaga Program Studi Pendidikan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Tempat Penelitian laboratorium FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 5 April 2021


 Popy Indrawan ,MMRS
 NIP. 19781001201701011113

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 3 Tabel konversi dosis

	Mencit 20g	Tikus 200g	Kelinci 1,5 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20g	1,0	7,0	27,80	387,9
Tikus 200g	0,14	1	3,9	56,0
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	1,0	14,2
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,07	1,0

Tabel Konversi Dosis Hewan Percobaan (Kemenkes, 2016)

Species	Volume maksimum sesuai jalur pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
Mencit 20-30 g	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus 200 g	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Kelinci 2,5 kg	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0

Tabel Volume Pemberian dengan Rute Pemberiaan (Kemenkes, 2016)

Keterangan :

- i.v = intravena
- i.m = intramuscular
- i.p = intraperitoneal
- s.c = subkutan
- p.o = per oral

Lampiran 4 Perhitungan Dosis

A). Parasetamol (kontrol negatif)

Menurut penelitian (Majeed *et al*, 2013) menyatakan bahwa konsumsi parasetamol dengan pemberian dosis sebesar 15 gram dapat menimbulkan efek toksik pada tubuh. Pada penelitian ini akan digunakan parasetamol sebesar 15 gram sebagai dosis toksik. Maka, hewan coba yang digunakan pada penelitian berupa mencit jantan galur balb/c dengan berat 20 gram.

- **Dosis toksik parasetamol pada manusia**

$$= 15 \text{ gr} / 70 \text{ kg BB manusia}$$

- **Konversi dosis toksik parasetamol pada mencit 20 gram**

$$= 15.000 \text{ mg} \times 0,0026$$

$$= 39 \text{ mg} / 20 \text{ gr BB mencit}$$

$$= 1,95 \text{ mg} / \text{gr BB mencit}$$

- **Kebutuhan 5 kelompok perlakuan**

$$= 30 \text{ mencit} \times 39 \text{ mg}$$

$$= 1.170 \text{ mg} / 20 \text{ gr BB mencit}$$

- **Volume pemberian pada mencit 20 gram**

$$\text{Mencit 1 gramBB} = 0,01 \text{ ml (sekali sonde)}$$

$$\text{Mencit 20 gramBB} = 0,2 \text{ ml (sekali sonde)}$$

- **Volume pembuatan parasetamol dosis toksik**

$$x \text{ ml} = \frac{1.170 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml}}{39 \text{ mg}}$$

$$= 6 \text{ ml} / 20 \text{ gr BB mencit}$$

- **Kebutuhan CMC Na dalam setiap 1 gramBB mencit**

Konsentrasi CMC Na 0,1% :

$$0,1 \text{ gram} / 100 \text{ ml} = X / 0,01 \text{ ml}$$

$$100 / 100 \text{ ml} = X / 0,01 \text{ ml}$$

$$X = 0,01 \text{ mg} / 0,01 \text{ ml}$$

Jadi setiap 1 gramBB mencit membutuhkan 0,01 mg CMC Na dalam 0,01 ml pelarut aquadest

- **Kebutuhan CMC Na untuk 5 kelompok perlakuan**

1 gramBB mencit = 0,01 mg/0,01 ml

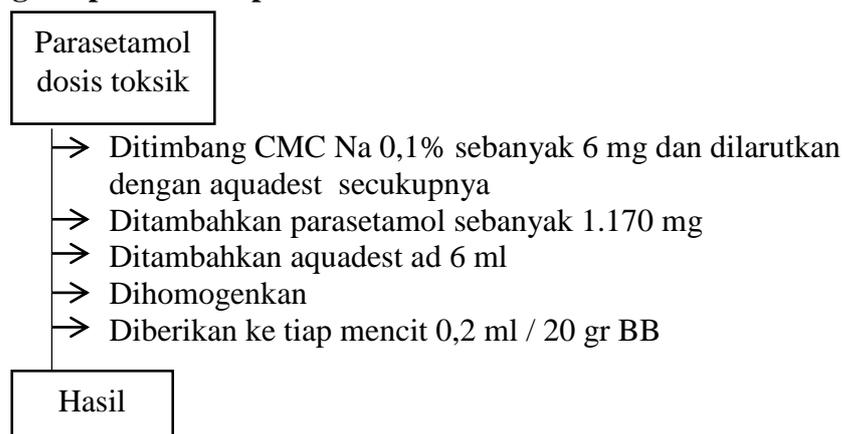
30 mencit (20 gram) = 0,2 mg/0,2 ml

30 mencit (20 gram) = 6 mg/6 ml

Jadi jumlah CMC Na dan parasetamol pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

Berat Badan	Parasetamol	CMC Na 0,1%
1 gramBB mencit	1,95 mg / 0,01 ml	0,01 mg CMC Na
1 mencit (20 gramBB)	39 mg / 0,2 ml	0,2 mg CMC Na
30 mencit (20 gramBB)	1.170 mg / 6 ml	6 mg CMC Na

- **Langkah pembuatan parasetamol dosis toksik**



B). Vitamin C (kontrol positif)

Menurut penelitian (Pacier and Martirosyan, 2015) menyatakan bahwa dosis optimal vitamin C sebesar 500 mg / hari secara oral. Pada penelitian ini akan digunakan vitamin C dengan dosis 500 mg. Maka, hewan coba yang digunakan pada penelitian berupa mencit jantan galur balb/c dengan berat 20 gram.

- **Konversi dosis vitamin C pada mencit 20 gram**

= 500 mg x 0,0026

= 1,3 mg / 20 gr BB mencit

= 0,065 mg / gr BB mencit

Kebutuhan 5 kelompok perlakuan

$$= 30 \text{ mencit} \times 1,3 \text{ mg}$$

$$= 39 \text{ mg} / 20 \text{ gr BB mencit}$$

- **Volume pemberian pada mencit 20 gram**

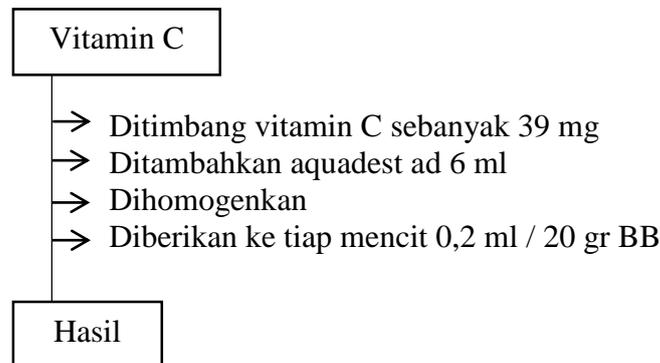
$$= 0,2 \text{ ml (sekali sonde)}$$

- **Volume pembuatan vitamin C**

$$x \text{ ml} = \frac{39 \text{ mg} \times 0,2 \text{ ml}}{1,3 \text{ mg}}$$

$$= 6 \text{ ml}$$

- **Langkah pembuatan vitamin C**

**C). Ekstrak Daun Cengkeh**

Menurut penelitian (Sidabutar dkk, 2016) menyatakan bahwa dosis ekstrak daun cengkeh yang telah terbukti sebagai antioksidan pada hewan coba tikus sebesar 200 mg / hari.

$$\text{Dosis } \frac{1}{2} n = 100 \text{ mg / hari (kelompok perlakuan 1)}$$

$$\text{Dosis } n = 200 \text{ mg / hari (kelompok perlakuan 2)}$$

$$\text{Dosis } 2n = 400 \text{ mg / hari (kelompok perlakuan 3)}$$

- **Konversi dosis pada mencit**

Kelompok 1

$$= 100 \text{ mg} / 200 \text{ gr BB tikus}$$

Mencit 20 gram

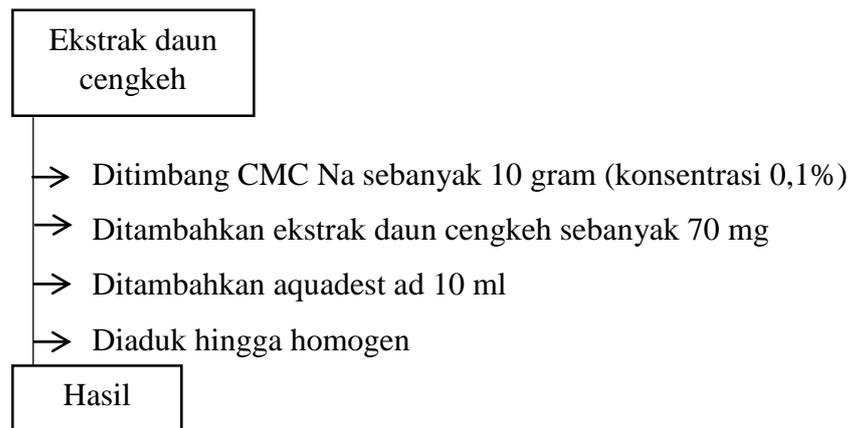
$$= 100 \text{ mg} \times 0,14$$

= 14 mg / 20 gr BB mencit

= 0,07 mg / gr BB mencit

- ❖ 14 mg dalam 0,2 ml (dengan kandungan CMC Na 0,1 %)
- ❖ 70 mg dalam 10 ml (dengan kandungan CMC Na 0,1 %)

(penggunaan volume sebesar 10 ml bertujuan untuk memudahkan pembuatan larutan)



Kelompok 2

= 200 mg / 200 gr BB tikus

Mencit 20 gram

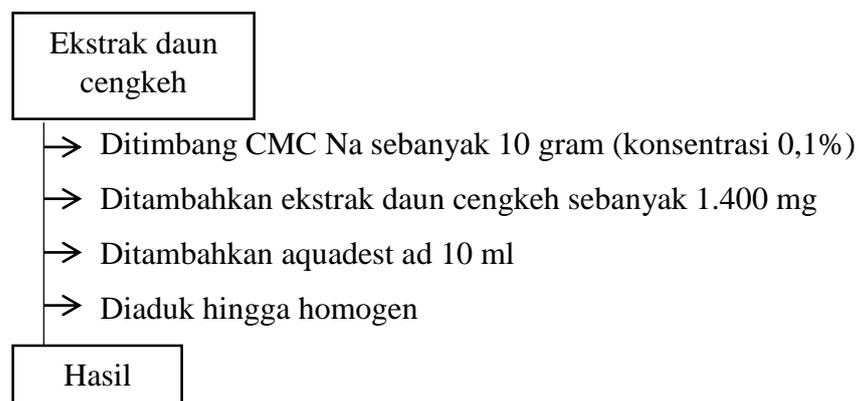
= 200 mg x 0,14

= 28 mg / 20 gr BB mencit

= 1,4 mg / gr BB mencit

- ❖ 28 mg dalam 0,2 ml (dengan kandungan CMC Na 0,1 %)
- ❖ 1.400 mg dalam 10 ml (dengan kandungan CMC Na 0,1 %)

(penggunaan volume sebesar 10 ml bertujuan untuk memudahkan pembuatan larutan)



Kelompok 3

= 400 mg / 200 gr BB tikus

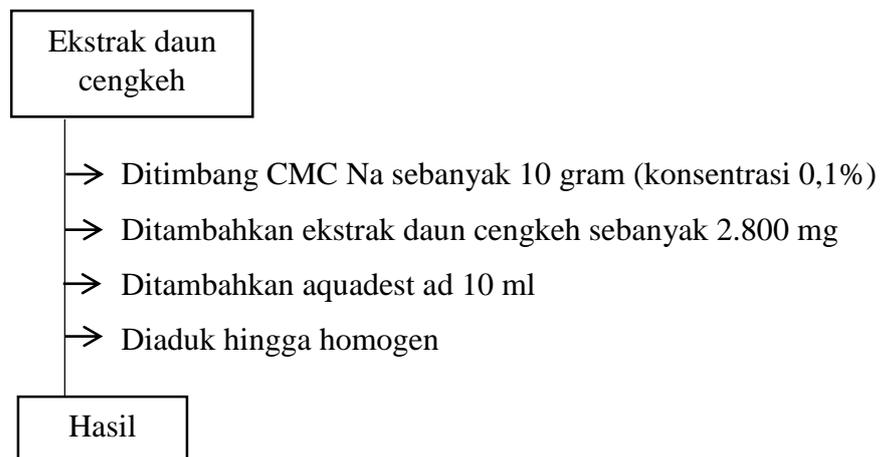
Mencit 20 gram

= 400 mg x 0,14

= 56 mg / 20 gr BB mencit

= 2,8 mg / gr BB mencit

- ❖ 56 mg dalam 0,2 ml (dengan kandungan CMC Na 0,1 %)
 - ❖ 2.800 mg dalam 10 ml (dengan kandungan CMC Na 0,1 %)
- (penggunaan volume sebesar 10 ml bertujuan untuk memudahkan pembuatan larutan)

**D). CMC Na 0,1%**

$$\text{Konsentrasi } 0,1\% = \frac{0,1 \text{ gr}}{100 \text{ ml}} = \frac{100 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = \frac{1 \text{ mg}}{1 \text{ ml}}$$

- ❖ Apabila diinginkan membuat 2 ml larutan, maka CMC Na konsentrasi 0,1% yang dibutuhkan sebesar 2 mg. Namun, pada perlakuan sekali sonde tiap mencit dengan volume pemberian 0,2 ml akan dibutuhkan CMC Na konsentrasi 0,1% sebesar 0,2 mg.

Lampiran 5 Hasil perhitungan jumlah sel Leydig

Kelompok	Replikasi	Jumlah Sel Leydig										Jumlah
		LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	LP6	LP7	LP8	LP9	LP10	
K-	1	5	5	6	10	5	2	3	6	6	7	55
	2	12	6	5	2	3	3	6	5	4	4	50
	3	10	4	3	6	6	3	5	4	6	5	52
	4	2	3	8	6	5	3	6	3	3	4	43
	5	4	6	4	8	4	8	3	8	6	6	57
K+	1	5	5	12	9	6	6	12	13	16	11	95
	2	4	4	11	7	9	5	5	8	8	4	65
	3	4	10	22	18	4	6	7	4	15	5	95
	4	13	12	8	11	16	11	24	11	9	9	124
	5	7	8	13	11	9	7	12	9	12	7	95
P1	1	8	6	10	6	6	10	4	5	7	9	71
	2	8	10	19	7	11	8	6	12	8	9	98
	3	5	7	23	8	7	5	14	13	5	10	97
	4	9	8	11	12	6	6	17	17	15	5	106
	5	6	6	4	7	13	11	13	11	18	7	96
P2	1	6	6	12	12	14	9	21	7	11	12	110
	2	8	7	16	12	6	9	10	18	11	8	105
	3	8	7	12	16	6	8	8	11	8	21	105
	4	9	6	9	10	9	11	27	8	17	9	115
	5	8	7	13	12	9	9	16	11	12	12	109
P3	1	16	9	10	11	35	9	10	12	14	12	138
	2	13	20	16	7	9	9	24	20	6	15	139
	3	25	12	7	11	18	10	13	18	7	9	130
	4	12	11	8	8	17	13	15	8	13	24	129
	5	7	14	16	9	26	9	10	7	16	23	137

Lampiran 6 Hasil analisis statistik menggunakan SPSS

1. Uji Normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Sel	Kontrol Negatif	.198	5	.200*	.943	5	.686
	Kontrol Positif	.304	5	.148	.883	5	.325
	Perlakuan 1	.372	5	.023	.804	5	.087
	Perlakuan 2	.220	5	.200*	.896	5	.390
	Perlakuan 3	.294	5	.181	.825	5	.127

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

		Test of Homogeneity of Variances			
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Jumlah Sel	Based on Mean	1.082	4	20	.392
	Based on Median	.834	4	20	.520
	Based on Median and with adjusted df	.834	4	8.212	.539
	Based on trimmed mean	1.022	4	20	.420

3. Uji *One Way ANOVA*

		ANOVA				
Jumlah Sel		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		18240.560	4	4560.140	33.565	.000
Within Groups		2717.200	20	135.860		
Total		20957.760	24			

4. Uji *Post-Hoc* LSD**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Jumlah Sel

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
		Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	-43.400*	7.372	.000	-58.78	-28.02
	Perlakuan 1	-42.200*	7.372	.000	-57.58	-26.82
	Perlakuan 2	-57.400*	7.372	.000	-72.78	-42.02
	Perlakuan 3	-83.200*	7.372	.000	-98.58	-67.82
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	43.400*	7.372	.000	28.02	58.78
	Perlakuan 1	1.200	7.372	.872	-14.18	16.58
	Perlakuan 2	-14.000	7.372	.072	-29.38	1.38
	Perlakuan 3	-39.800*	7.372	.000	-55.18	-24.42
Perlakuan 1	Kontrol Negatif	42.200*	7.372	.000	26.82	57.58
	Kontrol Positif	-1.200	7.372	.872	-16.58	14.18
	Perlakuan 2	-15.200	7.372	.052	-30.58	.18
	Perlakuan 3	-41.000*	7.372	.000	-56.38	-25.62
Perlakuan 2	Kontrol Negatif	57.400*	7.372	.000	42.02	72.78
	Kontrol Positif	14.000	7.372	.072	-1.38	29.38
	Perlakuan 1	15.200	7.372	.052	-.18	30.58
	Perlakuan 3	-25.800*	7.372	.002	-41.18	-10.42
Perlakuan 3	Kontrol Negatif	83.200*	7.372	.000	67.82	98.58
	Kontrol Positif	39.800*	7.372	.000	24.42	55.18
	Perlakuan 1	41.000*	7.372	.000	25.62	56.38
	Perlakuan 2	25.800*	7.372	.002	10.42	41.18

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

Lampiran 7 Dokumentasi penelitian

No	Perlakuan	Gambar
1.	Penimbangan serbuk simplisia daun cengkeh	
2.	Penambahan etanol 96% dalam serbuk simplisia daun cengkeh	
3.	Dilakukan proses ekstraksi dengan UAE selama selama 2 x 3 menit	
4.	Dilakukan penyaringan filtrat dan residu	
5.	Filtrat dievaporasi dengan <i>rotary evaporator</i>	

6.	Ekstrak dioven selama 2 hari dengan suhu 40 derajat celcius hingga didapat ekstrak kental	
7.	Didapatkan ekstrak kental daun cengkeh	
8.	Pembuatan larutan parasetamol untuk masing-masing kelompok perlakuan	
9.	Pembuatan larutan vitamin C dan ekstrak daun cengkeh untuk masing-masing kelompok perlakuan	
10.	Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari	

12.	Pemberian perlakuan pada mencit	
13.	Pembedahan dan pengambilan organ lambung mencit	
14.	Organ dibersihkan dengan NaCl dan direndam dalam formalin 10%	
15.	Proses pembuatan preparat histologi	