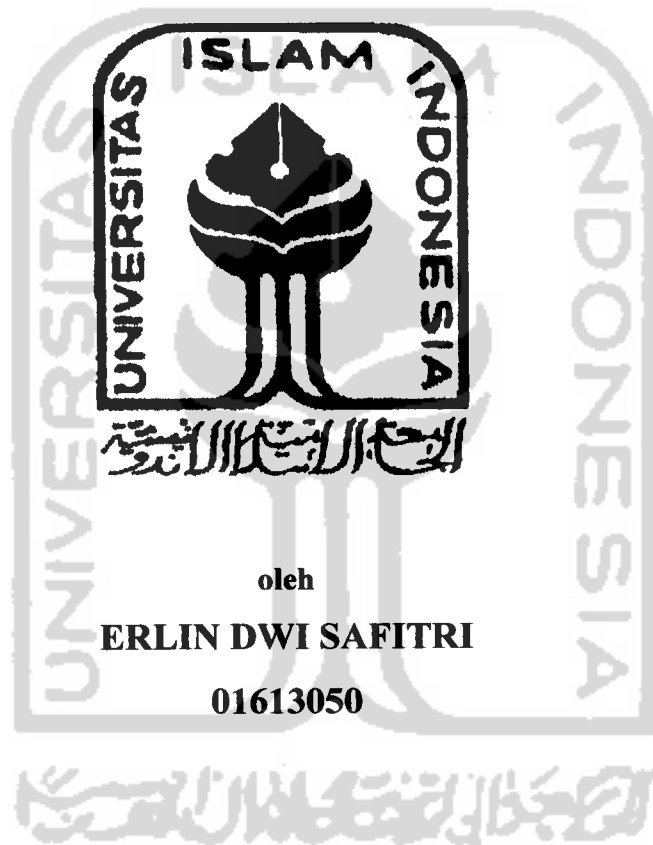


**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF INFUS BATANG BUGENVIL
(*Bougainvillea glabra*, Choisy) PADA TIKUS PUTIH
GALUR WISTAR YANG TERINDUKSI PARASETAMOL**



oleh

ERLIN DWI SAFITRI

01613050

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
AGUSTUS 2005**

SKRIPSI

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF
INFUS BATANG BUGENVIL (*Bougainvillea glabra*, Choisy)
PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR
YANG TERINDUKSI PARASETAMOL**

oleh

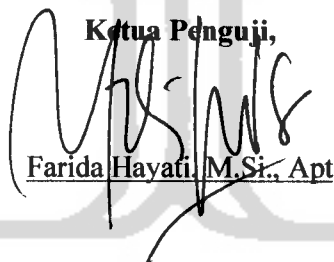
ERLIN DWI SAFITRI

01613050

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Juruan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 19 agustus 2005

Ketua Penguji,



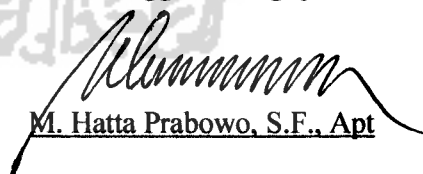
Farida Hayati, M.Si., Apt

Anggota Penguji,



drh. Retno Murwanti, MP

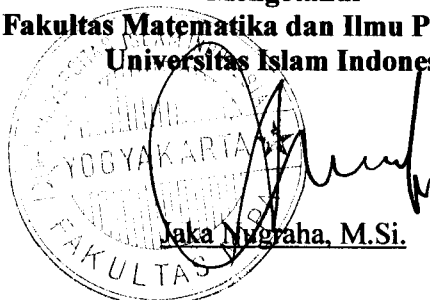
Anggota Penguji,



M. Hatta Prabowo, S.F., Apt

Mengetahui

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia**



Jaka Nugraha, M.Si.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya, juga tidak terdapat karya yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan ditertibkan dalam daftar pustaka.

Jogjakarta, Agustus 2005

Penulis,



Erlin Dwi Safitri

PERSEMBAHAN



kerajaan, dan Dia
mati dan hidup, untuk
ia. Dan Dia maha perkasa
tujuh lapis langit ..."

"bertasbih kepada ALLAH apa saja yang ada dilangit dan di bumi, dan
Dialah Yang maha perkasa dan maha bijaksana"

Ash-shaff : 01

... pada hari Rabu, tanggal 14, bulan Rabbul Mu'ta, semoga terhitung
... yang awal sudah bu Ya ALLAH ...

... h,

... ta,
... yang

Bapak Terkasih...

Djafar Itoni

Luv' you so much, daddy

Atas segala nasihat dan pengorbanan yang bapak lakukan untuk el
Semoga ALLAH menghitungnya sebagai ibadah

Adheke tercinta...

uchie

Atas pengertian, keceriaan, kenakalan, kesabaran, kedewasaan, selama ini
Jazakillah bi ahsanil jazaa, makasih ya dek.

Indah

Luv' u my sist'... nakalan yang dapat membuat hari-hari m'el ceria



Seluruh Keluarga besar di Pontianak yang sangat el banggakan
Terimakasih Atas semua dukungan yang diberikan selama ini

Sahabat sejawat

Alexandra Samudra

Thanks, buat tahun-tahun yang banyak membawa arti di kehidupan el,

El harap Allah akan selalu melindungi el

dan malaikat pun akan menjaga el

El hanya membuat k'al baik, tetapi ingin k'al selalu mendapat yang terbaik

Eka kartika untari, Islammiyah Neda Rahayu
untuk persahabatan yang sangat indah selama ini

Bayu, lenny, asty, Teh yun, ca ai, nobita, ratna, neneng, Erwin, bim-bim,
lolly, Nurul, rima, k'icha, Abdullah, tyo, rico, Andy, m'djoeldhi,
m goezs, m yoseph, ca' lina, m ndank
(thanks tuk doa dan masaz yang indah)

savanna crew dilla, wulan ceu euis, th viet, icha, Wisma Zahra crew, pandu,
hanna, ike, m'indah, m'mur, th eik, m' mel, Al-ghuroba crew, KAMMI, LEM
crew, my platonist's luv, temen-temen farmasi angkatan '01, penghuni
FMIPA, KKN XXX/21, SC PESTA '04, saudara2 di assyafa, ar-royan,
annida, kasturi,
a 97, SMF Yarsi, CBMP crew,
... semua orang yang telah dan akan sangat berarti dalam kehidupan el
...Jazakumullah Bi Ahsanil Jazaa...

1)

Almamater tercinta Universitas Islam Indonesia

Rehwal fillah

Dienul islam

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum WR.WB

Dengan menyebut Nama ALLAH Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang. Syukur Alhamdulillah atas segala rahmat dan Anugerah-Nya yang telah memberikan ilmu, kekuatan, dan kesempatan sehingga pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan penulisan dan penyusunan skripsi yang ber judul Uji Efek Hepatoprotektif Infus Batang Bigenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) Pada Tikus Putih Galur Wistar Yang Terinduksi Parasetamol, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar kefarmasian.

Dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis menghatur banyak terima kasih kepada :

1. Allah SWT, atas segala nikmat yang telah diberikan selama ini.
2. Bapak Dr.Ir. Luthfi Hasan, M.S, selaku rektor UII.
3. Bapak Jaka Nugraha, M.Si, selaku dekan FMIPA UII.
4. Ibu Farida Hayati, M.Si, Apt, selaku pembimbing utama yang telah banyak memberikan masukan dan berbagi pengetahuan kepada penulis sehingga skripsi ini akhirnya dapat diselesaikan.
5. Bapak M. Hatta Prabowo, SF, Apt. selaku pembimbing pendamping, atas saran, kritik, dan bantuan yang diberikan pada saat penyusunan skripsi ini.
6. Ibu drh. Retno Murwanti, MP, selaku dosen penguji atas masukan-masukan untuk perbaikan dalam penulisan skripsi ini.
7. Staf-staf yang ada di LPPT “pak gito”; Patklin KH “mbak ning, pak kayat” lab biofar “pak Ary”, mas har, mbak nora, mbak dyah, atas bantuannya selama ini.
8. Prof. Dr. Soesanto Mangkoewidjojo, M.Sc. Ph.D, “sumber ilmu” yang tak segan membantu penulis dalam analisa histologi. Makasih ya Prof. Salut banget to Prof Santo.

9. Ibu drh. Christin, MP ; mas drh. Hendry Saragih, MP., makasih udah minjamin labnya dan bantuan nya selama ini.
10. Keluarga tercinta, bapak, ibu, adek dan keluarga besar H. Wagimin di pontianak, atas dukungan dan segala yang telah diberikan untuk penulis.
11. Seluruh sahabat dan kerabat atas doa dan dukungannya.
12. Komputer ku tercinta yang tak pernah kenal lelah dan pengertiannya untuk tidak cerewet pada saat pengerjaan skripsi.
13. “Si ijo”, motornya Ayu yang sudah meringankan langkah el.
14. Sahabat-sahabat ku, di JAG, LEMF, Papharozi, Leophard, N Komunitas ku yang lain.
15. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis sadar sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu koreksi dan saran yang membangun senantiasa diharapkan.

Akhirnya semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat memberikan sumbangan bagi kemajuan keilmuan Farmasi. Amiiien

Wassalamu'alaikum WR.WB

Jogjakarta, Agustus 2005



Erlin Dwi Safitri

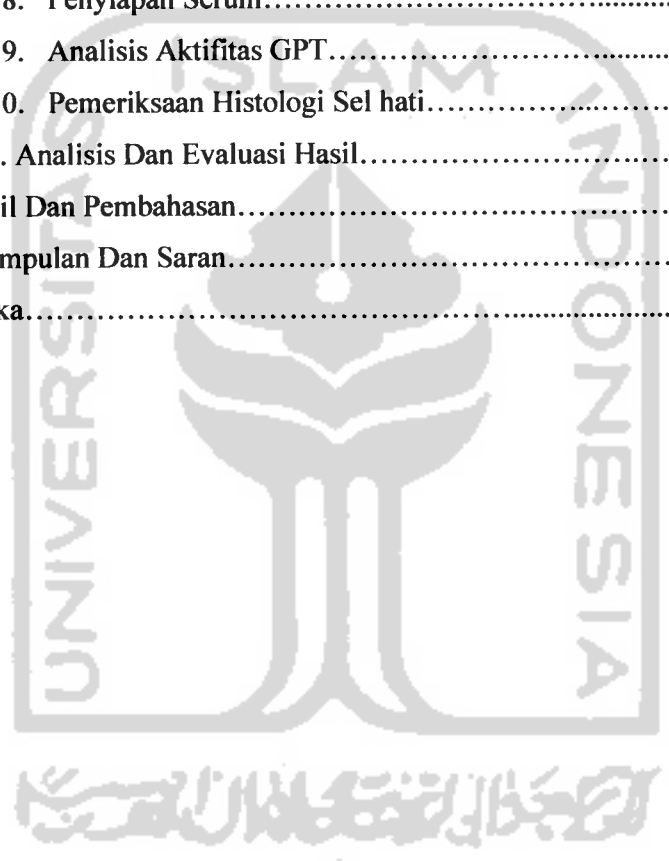
DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan Pembimbing.....	ii
Halaman Pengesahan Penguji.....	iii
Halaman Pernyataan.....	iv
Halaman Persembahan.....	v
Kata Pengantar.....	vii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Intisari.....	xiv
Abstraksi.....	xv
BAB I. Pendahuluan	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
BAB II. Studi Pustaka	
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Parasetamol.....	5
2. Hepatotoksin.....	8
3. Hati.....	14
4. Bugenvil.....	21
B. Landasan Teori.....	24
C. Hipotesis.....	24
BAB III. Metode Penelitian	
A. Bahan dan Alat.....	25
B. Cara Penelitian.....	26
1. Determinasi Tanaman.....	26

Table

1. A
2. A
3. A
4. A
5. F
6. F
7. F
8. F

2. Pengumpulan Bahan.....	26
3. Pembuatan Infusa.....	26
4. Pembuatan Larutan CMC 1%.....	27
5. Pembuatan Suspensi Paracetamol.....	27
6. Penetapan Dosis Sediaan Uji.....	27
7. Penetapan Tolok Ukur Kerusakan Hati.....	28
8. Penyiapan Serum.....	29
9. Analisis Aktifitas GPT.....	29
10. Pemeriksaan Histologi Sel hati.....	30
C. Analisis Dan Evaluasi Hasil.....	31
BAB IV Hasil Dan Pembahasan.....	32
BAB V Kesimpulan Dan Saran.....	51
Daftar Pustaka.....	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Metabolisme Parasetamol.....	7
2. Reaksi enzimatik perubahan piruvat menjadi laktat.....	13
3. Tipe-tipe Nekrosis Hati.....	20
4. Diagram Aktivitas GPT-serum hewan uji sebelum perlakuan.....	34
5. Diagram Aktivitas GPT-serum 48 jam setelah perlakuan hepatotoksin....	37
6. Gambaran Histologi sel hati tikus normal.....	44
7. Gambaran Histologi sel hati tikus dosis toksik parasetamol.....	45
8. Gambaran Histologi sel hati tikus infus dosis 0,4725 g/kgBB.....	46
9. Gambaran Histologi sel hati tikus infus dosis 0,945 g/kgBB.....	47
10. Gambaran Histologi sel hati tikus infus dosis 1,89 g/kgBB.....	48
11. Gambaran Histologi sel hati tikus infus dosis 3,78 g/kgBB.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Keterangan melakukan determinasi.....	56
2. Surat Keterangan Determinasi.....	57
3. Gambar Tanaman Bugenvil.....	58
4. Surat Keterangan Keaslian Hewan.....	59
5. Perhitungan Dosis.....	60
6. Tabel Konversi Perhitungan Dosis.....	61
7. Perhitungan Volum Pemejanaan Infus.....	62
8. Perhitungan Volum Pemejanaan Parasetamol Hepatotoksin.....	65
9. Surat Keterangan pemeriksaan aktifitas enzim dan Histologi.....	69
10. Data Aktifitas Enzim GPT-serum sebelum perlakuan.....	70
11. Data Aktifitas Enzim GPT-serum setelah perlakuan dosis uji	71
12. Data Aktifitas Enzim GPT-serum 48 jam setelah perlakuan hepatotoksin..	72
13. Hasil Pembacaan Histologi Sel Hati.....	73
14. Perhitungan Daya Hepatoprotektif.....	74
15. Perhitungan Prosentase Perbedaan dosis Uji dan kontrol.....	75
16. Out put Analisis Statistik.....	77
17. Isi Reagen Pemeriksaan SGPT.....	80
18. Cara kerja pemeriksaan enzim GPT-serum.....	81

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF
INFUS BATANG BUGENVIL (*Bougainvillea glabra*, Choisy)
PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR YANG TERINDUKSI
PARASETAMOL**

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dapat berfungsi sebagai hepatoprotektif terhadap sel hati tikus yang sudah terinduksi parasetamol. Metode yang dilakukan adalah menurut rancangan acak lengkap pola satu arah dengan perlakuan sebagai berikut : Sejumlah 36 ekor tikus yang sehat dibagi dalam 6 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus, dipelihara dalam kondisi sama, diambil darahnya sebelum perlakuan dan kemudian tiap kelompok diberi perlakuan sebagai berikut ; Kelompok I sebagai kontrol diberi aquades (peroral); Kelompok II sebagai kontrol negatif diberi perlakuan dengan Parasetamol dosis toksik 2,5 g/kg BB (peroral); Kelompok III-VI berturut-turut diberi perlakuan sediaan uji (infusa batang bugenvil) peroral dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB, selama tujuh hari berturut – turut. 8 jam setelah pemberian infusa bugenvil hari ke enam, hewan uji diberi Parasetamol dosis toksik 2,5 g/kgBB. Empat puluh delapan jam setelah pemberian parasetamol, segera dilakukan pengambilan darah hewan uji guna menentukan aktifitas enzim serum. Sesaat setelah pengambilan darah hewan uji dikorbankan untuk diambil hatinya dan dimasukkan dalam formalin 10% untuk dibuat preparat histologi. Data yang diperoleh adalah aktivitas SGPT serum dalam Unit/ Liter dan dianalisa dengan analisis statistik menggunakan anava pola searah dan diteruskan uji tuckey taraf kepercayaan 95%. Berdasarkan pemeriksaan Aktifitas Enzim GPT-serum didapatkan hasil bahwa infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dapat berfungsi sebagai hepatoprotektif terhadap sel hati tikus yang sudah terinduksi parasetamol. Dengan persen daya hepatoprotektif untuk dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB adalah berturut-turut 18,93 %; 53,14 %; 60,08 %; 77,86 %. Data hasil pemeriksaan histologi dianalisis secara kualitatif dan didapatkan hasil bahwa tingkat kerusakan hati dapat diturunkan seiring naiknya dosis sediaan uji. Infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) memiliki aktifitas sebagai hepatoprotektif dan kisaran dosis efektifnya adalah 0,945 g/ kgBB- 3,78 g/ kgBB.

Keywords : Hepatoprotektif, Bugenvil, Parasetamol.

**THE TEST FOR HEPATOPROTECTIVE EFFECT
OF BOUGENVIL'S BAR (*Bougainvillea glabra*, Choisy) INFUSE
ON ACETAMINOPHEN INDUCED WISTAR STRAIN WHITE RATS**

ABSTRACT

This research was aimed to find how excellent Bougenvil's bar protects the liver from the damages caused acetaminophen and find the hepatoprotective data of Bougenvil's bar dose effect span in infusion form through the SGPT enzyme and histopathology of liver cell analysis. The research used the completed random of unindirect pattern method, used wistar strain white rats as the tested animals, The way of attempt : 36 rats were divided in to 6 groups where each groups had 6 rats. For the treatment, group 1 was controlled by aquadest. Group II was given acetaminophen suspension dose 2,5 g/kgBB. Group III-VI was given Bougenvil's bar infuse by oral dose 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB Once in a day for a week and 8 hours after that, it was given acetaminophen suspension dose 2,5 g/kgBB. Forty eight hours after gift Acetaminophen, is immediately conducted by intake of animal blood test to utilize to determined the activity of serum enzyme. Momentary after intake of animal blood test sacrificed to be ingratiated its and input in formalin 10% to be made by histologic preparation. Data obtained by activity of SGPT serum in Unit/ liter and analyzed with the statistical analysis use oneway anova and continued by tuckey test of level 95%. Based of activity of Enzyme GPT-Serum the result was bougenvill's bar (*Bougainvillea Glabra*, Choisy) infuse could function as Hepatoprotective to rats liver cell induced the Acetaminophen. With the gratuity of energy Hepatoprotective for the dose of 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB are 18,93 %; 53,14 %; 60,08 %; 77,86 %. Histologic data analyzed by Qualitative. Range of effective doses are 0,945 g/ kgBB- 3,78 g/ kgBB.

Keywords : Hepatoprotective, Bougenvil, Acetaminophen.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang masalah

Hati merupakan organ metabolisme yang terbesar dan terpenting dalam tubuh. Hati terlibat dalam sintesis, penyimpanan dan metabolisme banyak senyawa endogen dan klirens senyawa eksogen, termasuk obat dan toksin lain dari tubuh. Kerusakan hati akibat obat dapat dibagi menjadi hepatotoksisitas intrinsik dan hepatotoksisitas idiosinkratik. Walaupun demikian, kedua tipe tersebut dapat menyebabkan pola kerusakan hati yang hampir sama dan beberapa obat dapat menyebabkan lebih dari satu jenis kerusakan (Anonim, 2003a).

Penanggulangan penyakit hati baik yang disebabkan oleh virus maupun hepatotoksin lain masih merupakan masalah kesehatan yang besar. Hingga saat ini belum ada obat yang spesifik untuk mengatasi hepatitis. Kelangkaan obat hepatitis tersebut mungkin terkait dengan kerumitan sasaran terapi maupun syarat obat idealnya (Donatus, 1992).

Obat-obat yang selama ini diberikan untuk pengobatan hepatitis umumnya hanya sebagai pengobatan simptomatik, yaitu untuk meringankan gejala penyakit yang timbul disamping sebagai terapi suportif atau promotif yang berguna untuk membantu kelangsungan fungsi hati. Obat – obat tersebut umumnya bersifat sebagai hepatoprotektor, lipotropik, kholeretik, atau kholagogum. Hepatoprotektor yaitu senyawa atau zat berkhasiat yang dapat melindungi sel hati terhadap pengaruh zat toksik yang dapat merusak sel hati. Senyawa tersebut bahkan dapat

memperbaiki jaringan hati yang fungsinya sedang terganggu dengan cara detoksikasi senyawa racun baik yang masuk dari luar (eksogen) maupun yang terbentuk didalam tubuh (endogen); meningkatkan regenerasi; anti-inflamasi; dan sebagai imunomodulator (Dalimartha, 1999).

Asetaminofen (parasetamol) merupakan metabolit fenasetin dengan efek terapeutik yang sama dan telah digunakan sejak tahun 1893. Asetaminofen di Indonesia lebih dikenal dengan nama parasetamol, dan tersedia sebagai obat bebas. Walau demikian, laporan kerusakan fatal hepar akibat overdosis harus diperhatikan. Akibat dosis toksik parasetamol yang paling serius adalah nekrosis hati, nekrosis tubuli renalis serta koma hipoglikemik dapat juga terjadi (Anonim, 1995a).

Sebagai obat, ramuan bugenvil tidak enak di lidah. Rasanya pahit, kelat, dan hangat. Beberapa bahan kimia terkandung didalamnya, antara lain; *betanidin*, *isobetanidin*, *6-O- β -saphoroside*, dan *6-O-rhamnosysophoroside*. Namun dalam ilmu pengobatan tradisional, perpaduan rasa pahit, kelat, dan hangat inilah yang mencirikan adanya khasiat obat, terutama berguna membantu memperlancar peredaran darah di dalam tubuh. (Hariana, 2004). Bugenvil juga mengandung saponin dan senyawa polifenol yang telah terbukti memiliki efek antioksidan yang kuat guna menetralisir radikal-radikal bebas (Anonim, 2003b; Khomsan, 2002).

Berdasarkan keterangan empiris, rebusan batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dapat berkhasiat sebagai obat pada penyakit hepatitis (Dalimartha, 1999; Hariana, 2004). Bagian yang digunakan untuk pengobatan hepatitis adalah batang yang sudah dikeringkan. Pengolahan sangat sederhana,

cukup dengan cara direbus saja. Bagian kuntum bunga bugenvil juga berfungsi sebagai obat. Khasiatnya antara lain mengobati penyakit bisul, biang keringat, keputihan, nyeri haid, serta melancarkan haid yang tidak teratur (irreguler menstruation) (Anonim, 2004b).

Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) juga dapat berfungsi sebagai hepatoprotektif. Yaitu dapat melindungi sel-sel hati tikus dari kerusakan akibat terinduksi parasetamol dosis toksik. Juga untuk mendapatkan kisaran dosis efektif infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) sebagai hepatoprotektif. Hepatotoksin yang digunakan adalah parasetamol dosis berlebih karena Parasetamol merupakan salah satu obat yang paling sering digunakan di masyarakat, akan tetapi banyak yang tidak mengetahui bahwa pemakaian parasetamol dalam dosis berlebih dapat menyebabkan kerusakan hati.

B. Perumusan Masalah

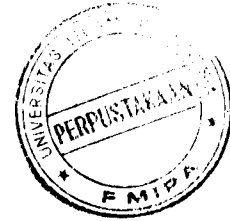
1. Apakah infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) mempunyai efek hepatoprotektif ?
2. Berapakah data kisaran dosis efek hepatoprotektif batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dalam bentuk infusa.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) mempunyai efek hepatoprotektif dan untuk mendapat kisaran data dosis efek hepatoprotektif batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dalam bentuk infusa, melalui pemeriksaan enzim GPT-serum dan pemeriksaan histopatologi sel-sel hati.



BAB II
STUDI PUSTAKA
A. Tinjauan Pustaka



1. Parasetamol.

a. Aspek hayati parasetamol.

Parasetamol merupakan senyawa analgetik antipiretik non narkotik turunan paraaminofenol dengan beberapa nama kimia (p.asetamidofenol, p.asetaminofenol, N-asetil-p-aminofenol, N-p-hidroksi fenil asetamida). Parasetamol yang semula diduga bersifat aman, juga memperlihatkan efek toksik nekrosis hepatik sentrolobular, yang lazim timbul pada dosis tinggi bukan kisaran dosis terapi (0,5-1 gram 3-4 x /hari, oral). Kehepatotoksikan parasetamol terjadi melalui terbentuknya metabolit reaktif di dalam hati. Didalam hati parasetamol mengalami metabolisme, sebagian besar akan berkonjugasi dengan asam glukoronat dan asam sulfat, dan sisanya oleh sistim sitokrom P-450 mikrosomal teroksidasi sehingga membentuk suatu metabolit elektrofil, N-asetil-p-benzokinonimina (NABKI) yang bersifat hepatotoksik. Dalam keadaan normal metabolit elektrofil tersebut akan diikat oleh glutathion (GSH) hati sebelum diekspresikan melalui ginjal sebagai konjugat sistein dan asam merkapturat. Namun jika kandungan glutathion hati berkurang menjadi 20 % - 30 % dari harga normalnya maka NABKI dapat berikatan dengan makromolekul protein sel hati. Akibatnya terjadi kematian sel hati atau nekrosis (gambar 1). Pada keadaan nekrosis sel-sel hati pecah sehingga enzim glutamat piruvat transaminase yang terdapat dalam sel hati akan keluar dan masuk kealiran darah disekitar vena

sentralis sehingga terjadi kenaikan aktivitas GPT-serum melebihi nilai normalnya (Berbassis dkk, 1977 *cit* Donatus, 1994). Nilai normal GPT-serum manusia pada suhu 37°C adalah < 31 IU/ liter untuk pria dan < 41 IU/ liter untuk wanita. Dalam keadaan radang hati (hepatitis) yang disebabkan alkohol nilai aktifitas GPT-serum dapat meningkat hingga 4-5 kali dari nilai normalnya (Zimmerman, 1978). Dalam keadaan radang hati yang diakibatkan oleh viral dan atau obat, terjadi kenaikan aktifitas GPT-serum yang sangat signifikan yaitu mencapai 3500 IU/L atau naik sekitar 100 kali dari nilai normalnya (Anonim, 2005). Metabolisme parasetamol dipengaruhi oleh : usia, jenis makhluk hidup dan galur untuk hewan uji (Price dan Jollow, 1986 *cit* Donatus, 1994) juga oleh penyakit, dosis, dan antaraktan penghambat atau pemicu enzim.

b. Toksikologi parasetamol.

Wujud dan ciri : dengan pemeriksaan histopatologi ditemukan kerusakan sel yang utamanya bertempat di daerah sentrilobular, ditandai oleh degenerasi sel eusinofil bersama-sama dengan piknosis inti sel. Vakuolisasi dan perubahan degeneratif awal teramati di daerah sel yang lebih tepi disekitar saluran kortal, juga infiltrasi leukosit polimorfonuklear yang ringan. Gambaran histopatologi ini mencerminkan nekrosis hepatik akut yang parah jenis sentrilobular (Zimmerman, 1978).

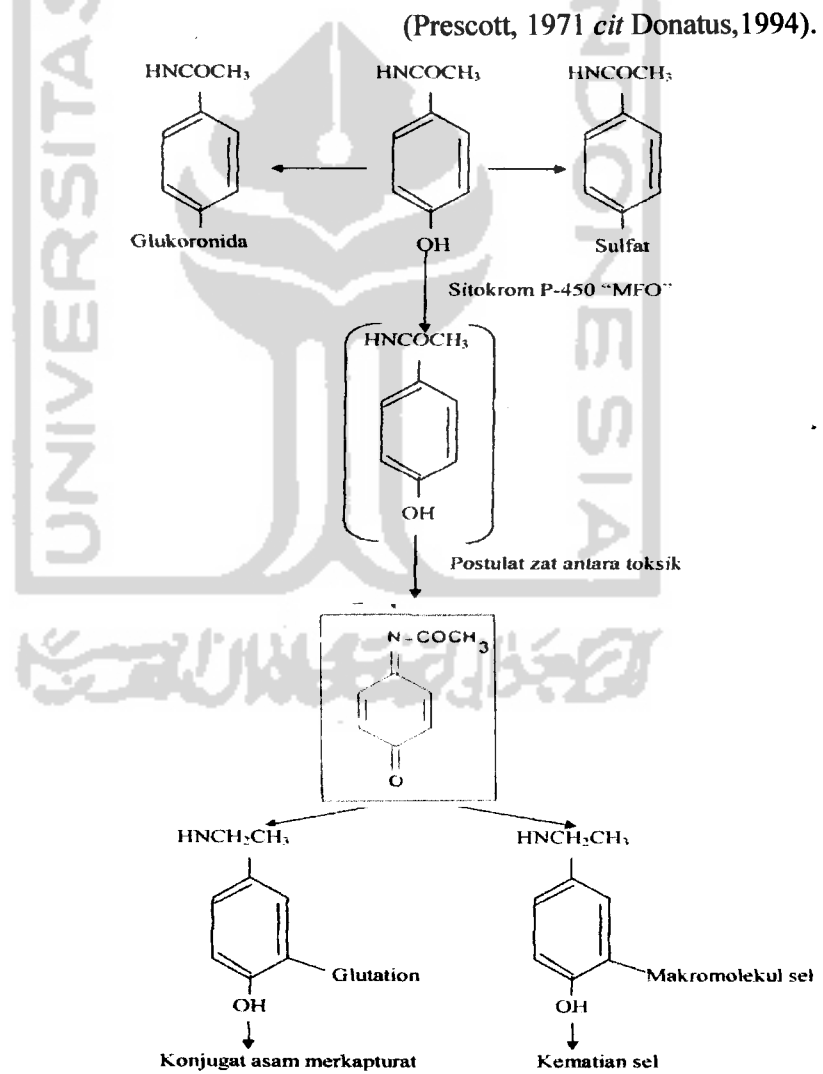
Tanda klinis dan gambaran biokimiawi toksikologi parasetamol adalah :

1. Kenaikan aktivitas GPT, GOT dan HBD (Hidroksi Butirat Dehidrogenase) dan LDH (Laktat Dehidrogenase) serum,
2. Hiperbilirubinemia ringan,

3. Kenaikan waktu protrombin, dan
4. Penurunan kadar gula darah.

Agen-agen hepatoprotektif dapat mencegah kematian sel hati melalui mekanisme:

1. Inhibisi aktivitas metabolit
2. Membantu mekanisme perbaikan sel (regenerasi),
3. Pendesakan antioksidan, dan
4. Stabilisasi membran dengan antiradikal bebas



Gambar 1. Metabolisme Parasetamol (Zimmerman, 1978)

2. Hepatotoksin

Hepatotoksin di definisikan sebagai zat yang memiliki efek toksik pada hati, dengan dosis berlebihan atau dalam jangka waktu lama. Hepatotoksin dapat menyebabkan kerusakan hati akut, sub akut dan kronik (Plaa, 1975). Pada umumnya, hepatotoksisitas akibat obat memberikan prognosa yang baik ketika obat penyebabnya dihentikan, tetapi prognosa itu sendiri sebenarnya dipengaruhi oleh tipe kerusakan hati, lamanya keadaan tersebut dan apakah kerusakan hati tersebut irreversible (Anonim, 2003a).

Golongan hepatotoksin, yaitu :

1. Hepatotoksin intrinsik / dapat diramalkan, yakni golongan senyawa yang memiliki sifat dasar toksik terhadap hati, misalnya karbon tetraklorida (CCl_4), etionin, kloroform dan steroid kontraseptik.
2. Hepatotoksin idiosinkratik / tidak dapat diramalkan, yakni golongan senyawa yang tidak mempunyai sifat dasar toksik terhadap hati tetapi senyawa ini mengakibatkan hepatitis pada individu yang hipersensitif terhadap senyawa ini. Contoh golongan ini misalnya isoniazida, haloten., dan sulfonamida.

Ciri-ciri senyawa hepatotoksik intrinsik yaitu : a. Angka kejadian pada individu tinggi dan beberapa diantaranya menyebabkan luka pada ginjal dan organ lain ; b. Menghasilkan luka yang sama ; c. Perkembangan dan tingkat kerusakan yang dihasilkan tergantung pada dosis yang diberikan ; d. Masa laten singkat dan konsisten. Sedangkan ciri-ciri hepatotoksin idiosinkratik merupakan kebalikan ciri-ciri hepatotoksin intrinsik (Zimmerman, 1978).

Hepatotoksisitas intrinsik dapat diprediksi, tergantung dosis dan melibatkan mayoritas individu yang menggunakan obat dalam jumlah tertentu. Rentang waktu antara mulainya pengobatan dan timbulnya kerusakan hati sangat bervariasi (dari beberapa jam sampai beberapa minggu). Contoh : Paracetamol menyebabkan nekrosis hati yang dapat diprediksi pada pemberian overdosis; Metotreksat dapat menyebabkan fibrosis dan sirosis pada pengobatan berkelanjutan jangka panjang; tetrasiklin menyebabkan *microvesicular fatty liver*; Siklofosfamid dapat menyebabkan, walaupun jarang, nekrosis sel hati akut; kontrasepsi oral dapat menyebabkan kolestasis juga meningkatkan resiko adenoma (Anonim, 2003a).

Hepatotoksisitas idiosinkratik dapat terkait dengan hipersensitivitas terhadap obat ataupun kelainan metabolisme. Respons ini tidak dapat diprediksi dan tidak bergantung pada dosis obat yang diberikan. Hal ini terjadi pada kurang dari 1% individu yang terpapar. Masa inkubasinya bervariasi, tetapi biasanya berminggu atau berbulan-bulan. Contoh : Klorpromazin dapat menyebabkan kolestasis yang parah dan dapat terjadi selama berminggu-minggu setelah obat dihentikan. Obat yang lain diantaranya adalah koamoksislav, eritromisin, asam fusidat, glibenklamid, fenotiazin, natrium valproat; halotan biasanya mengakibatkan sedikit kenaikan serum transaminase yang bersifat sementara, walaupun jarang , halotan dapat menyebabkan nekrosis sel hati yang parah dan mengarah pada gagal hati yang berat (*fulminant hepatic failure*) dengan mortalitas yang tinggi; isoniazid dapat menyebabkan peningkatan transaminase sebanyak 10% pasien dan

menyebabkan jaundice pada 1% pasien dalam 2 bulan pertama. Isoniazid dapat pula menyebabkan hepatitis akut dan hepatitis kronis; hepatotoksitas yang diakibatkan sulfonamide dapat menyerupai hepatitis virus; nitrofurantoin menyebabkan kolestasis dan hepatitis akut maupun kronis (Anonim, 2003a).

Tolok ukur kehepatotoksikan.

Evaluasi kerusakan hepatic dapat dilakukan dengan beberapa uji penting di laboratorium. Evaluasi tersebut dapat dikategorikan antara lain :

1. Pemeriksaan zat warna

- a. Bromosulfalein (BSP). Zat warna ini dalam waktu 2 jam setelah disuntikkan akan ditemukan dalam jumlah 70 - 100 % di dalam empedu. Zat BSP terikat erat dalam albumin plasma. Eksresi ekstra hepatic mungkin dapat terjadi pada keadaan ikterus walaupun berkurang. Penggunaannya untuk memeriksa gangguan faal hati.
- b. Indosianina hijau. Zat warna ini lebih aman, di eksresikan hanya oleh hati tanpa konjugasi, dan tidak mengalami sirkulasi enterohepatik. Bersifat lebih khas daripada BSP (Noer, 1987)

2. Pemeriksaan asam amino dan protein. Dengan cara spektrofotometrik dapat diperiksa total protein, albumin dan globulin. Bila dibutuhkan pengukuran yang lebih tepat, maka dapat dilakukan pemeriksaan protein dengan elektroforesis. Dengan elektroforesis, fraksi protein dapat dipisahkan menjadi albumin, alpha-1, alpha-2, beta dan gamma globulin. Pada keadaan akut didapatkan kenaikan alpha globulin dan beta globulin, sedikit kanaikan gamma globulin, dan penurunan albumin yang tidak

begitu jelas. Sedangkan pada keadaan kronis di dapatkan kenaikan gamma globulin dan penurunan kadar albumin yang jelas (Abubakar, 1975).

3. Pemeriksaan flokulasi. Dasarnya percobaan semi empiris yang memperlihatkan bahwa pemberian reagen kepada serum seseorang dengan kerusakan sel hati yang difus biasanya akan menghasilkan presipitasi, kekeruhan atau flokulasi. Uji flokulasi tidak dapat menggambarkan perjalanan hepatitis, karena kembalinya nilai normal lebih lama dibanding dengan uji lainnya. Uji ini tidak dapat dipakai untuk membedakan berat ringan penyakit.
4. Metabolisme hidrat arang. Kadar glukosa akan rendah pada nekrosis hati akut yang fulminan. Pada penyakit hati kronik dapat terjadi gangguan toleransi glukosa dan terjadi resistensi insulin relative (Noer, 1987).
5. Pemeriksaan kadar kolesterol. Pemeriksaan ini digunakan untuk menilai adanya metabolisme gangguan lemak, sehingga tidak spesifik untuk memeriksa gangguan faal hati. Kadar kolesterol dapat naik dengan adanya kerusakan parenkim hati, meskipun banyak keadaan lain yang dapat menimbulkan kenaikan ini (Abubakar, 1975).
6. Pemeriksaan enzim serum. Pemeriksaan enzim makin lama makin dapat menggantikan pemeriksaan lain dalam menilai adanya kerusakan parenkim hati. Dasar pemeriksaan ini adalah bahwa setiap kerusakan jaringan (adanya nekrosis jaringan hati) dimana dalam jaringan tersebut berisi banyak enzim, maka akan didapatkan kenaikan aktivitas enzim (Abubakar, 1975). Dalam hal ini, yang sering digunakan adalah pemeriksaan fosfatase

alkali aspartat transaminase (SGOT) dan glutamate piruvat transaminase (SGPT) (Noer, 1987). Serum alanine aminotransferase/ transaminase (ALT) adalah indikator yang sensitif terhadap kerusakan sel hati (Anonim, 2003a).

Diantara pemeriksaan-pemeriksaan tersebut, pemeriksaan serum glutamate piruvat transaminase (SGPT) lebih sering digunakan untuk menilai adanya kerusakan parenkim hati. Pemeriksaan tersebut cukup sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan serum glutamat oksaloasetat transaminase (SGOT). Sebagian besar SGOT terdapat di hati dan otot rangka, selain itu juga tersebar keseluruhan jaringan (Sulistyawati, 2002).

Enzim GPT hampir semata-mata dihati, sehingga GPT merupakan petunjuk yang lebih spesifik terhadap adanya nekrosis hati daripada GOT (Zimmerman, 1978). Kenaikan aktifitas GPT juga dapat terjadi karena adanya perubahan membran sel yang disebabkan oleh anoksia. Karena itu pemeriksaan histologi jaringan hati merupakan petunjuk yang lebih meyakinkan tentang adanya nekrosis hati (Sulistyawati, 2002)

Jadi disini pengujian kehepatotoksikan parasetamol dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif. Secara kuantitatif, yaitu dengan cara mengukur aktivitas GPT-serum, yang paling banyak digunakan adalah pengukuran piruvat dari hasil reaksi antara alanin dan 2-oksoglutarat, yang dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu secara enzimatis dengan LDH (β laktat dehidrogenase) dan NADH, dan secara kalorimetri, yaitu dengan 2,4-dinitro fenil-hidrasina. Cara enzimatis merupakan metoda yang paling peka (Sulistyawati, 2002)

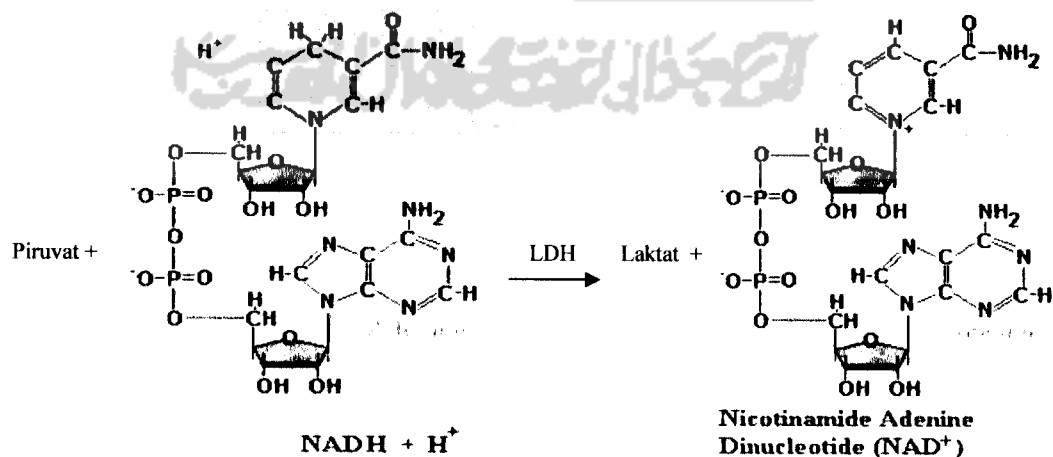
Dalam penelitian ini aktivitas GPT diukur secara fotometri dengan GPT-ALAT (alanin aminotransferase) metoda standar yang dioptimasi dari *Deutsche gesselchraft fur klinische chemie* (Modified IFCC U.V. Kinetic). Dasar metoda ini adalah dengan mengkatalisis pemindahan nitrogen dari glutamat ke piruvat sesuai dengan persamaan berikut :



Untuk menentukan GPT secara kuantitatif, serum yang akan dianalisis direaksikan dengan 2-oksoglutarat dan L-alanin di dalam buffer. Piruvat yang terbentuk oleh NADH^+ dengan adanya laktat dehidrogenase (LDH), diubah secara enzimatik menjadi laktat seperti tampak dalam persamaan berikut :



Atau lebih jelas dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2. reaksi enzimatik perubahan piruvat menjadi laktat

Kadar pemakaian NADH dapat diukur dengan berkurangnya serapan dalam daerah dekat ultraviolet, yang sebanding dengan aktivitas GPT. Pemilihan ini didasarkan atas pertimbangan bahwa tipe nekrosis karena parasetamol telah diketahui dengan pasti, sehingga tidak diperlukan metoda yang sangat peka dan spesifik untuk mendeteksi tipe nekrosis tersebut. Selain itu, hasil pemeriksaan kuantitatif masih diperkuat dengan pemeriksaan kualitatif yang berupa pemeriksaan histologi jaringan hati dengan metoda pengecatan hematoksilin-eosin (HE) (Anonim, 2004a; Sulistyawati, 2002)

3. Hati

Hati adalah organ terbesar dan secara metabolisme paling kompleks didalam tubuh. Organ ini terlibat dalam metabolisme zat makanan serta sebagian besar obat dan toksikan. Jenis zat yang belakangan ini biasanya dapat mengalami detoksifikasi, tetapi banyak toksikan dapat dibioaktifkan dan menjadi lebih toksik. Hati sering menjadi organ sasaran karena beberapa hal. Sebagian besar toksikan memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal, dan setelah diserap, toksikan dibawa oleh vena porta hati ke hati (Lu, 1995)

Salah satu fungsi hati yang sangat penting ialah melindungi tubuh terhadap terjadinya penumpukan zat berbahaya yang masuk dari luar, misalnya obat. Banyak obat yang bersifat larut lemak dan tidak mudah di eksresi oleh ginjal. Untuk itu , maka sistim enzim dalam mikrosom hati akan melakukan biotransformasi sedemikian rupa sehingga terbentuk metabolit yang lebih mudah larut dalam air dan dapat dieksresikan melalui urin atau empedu. Dengan faal

yang demikian, maka hati mempunyai kemungkinan yang sangat besar untuk dirusak oleh obat (Setiabudi, 1979).

Beberapa fungsi utama hati :

1. Penyimpanan

Hati menyimpan energi (glikogen, lemak), vitamin (contoh; vitamin A dan vitamin B12), mineral (contoh Fe, Cu), darah dan substansi lain yang berperan dalam pembentukan dan regenerasi darah.

2. Homeostasis

Contoh : Glukosa

3. Sekresi

Contoh : Garam empedu

4. Ekskresi

Contoh : kolesterol, bilirubin

5. Sintesis

Sintesis protein plasma, contoh: albumin, transferin, lipoprotein (very low density lipoproteins-VLDL, High Density Lipoprotein-HDLs)

Sintesis factor koagulasi, contoh: protrombin; fibrinogen; factor V, VII, IX, X, XIII, produksi heparin.

6. Pembentukan (dan destruksi) sel darah merah

25-hidroksilasi vitamin D3 (Vitamin D3 atau kolekalsiferol adalah precursor dari 1,25-dihidroksikolekalsiferol, bentuk aktif vitamin D). Produksi 1,25-dihidroksikolekalsiferol (kalsitriol) memerlukan hidroksilasi molekul

kolekalsiferol pada posisi 1- α , dan posisi 25. Hidroksilasi pada posisi 25 terjadi dihati, sedangkan hidroksilasi pada posisi 1- α terjadi dijinjal).

7. Metabolisme

Contoh : metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein.

8. Detoksifikasi

Detoksifikasi atau degradasi sisa metabolisme tubuh dan hormone, termasuk juga: obat, alcohol, dan senyawa asing lainnya termasuk antigen.

9. Klirens

Contoh : Aldosteron, obat

10. Penyelesaian dan perlindungan

Fagositosis mikroorganisme yang berkembang dalam darah dan juga sel darah merah (eritrosit) yang tidak berguna (oleh kupffer cells).

(Anonim, 2003a)

Pada dasarnya hati merupakan organ tubuh yang mudah mengalami kerusakan, tapi organ ini memiliki cadangan fungsional yang sangat baik. Pada hewan percobaan telah terbukti bahwa 10 % parenkim hati saja sudah cukup untuk mempertahankan fungsi normal hati. Pada manusia diduga demikian juga sifatnya, sehingga kerusakan hati haruslah cukup luas untuk menimbulkan gejala insufisiensi hepatic (Darmawan, 1983).

Adanya cadangan fungsional ini terkadang malah dapat merugikan, sebab gejala kerusakan hati baru akan diketahui setelah hati mengalami kerusakan yang cukup parah. Hati juga merupakan organ yang sel-selnya selalu melakukan pembaharuan dengan cara regenerasi yang cepat. Kehilangan jaringan hati akibat

kerja senyawa toksik atau pembedahan akan memacu mekanisme pembelahan, dan hal itu terus berlangsung sampai perbaikan massa jaringan semula tercapai (Jungueira dkk, 1998).

Kerusakan hati dapat disebabkan oleh mikroorganisme maupun senyawa kimia (obat-obatan). Kasus kerusakan hati yang disebabkan oleh obat hanya kurang lebih 2% dari seluruh kasus penyakit hati. Meskipun angka tersebut relatif kecil, tapi angka kefatalannya cukup tinggi, yakni sekitar 10-15 %. Artinya keparahan penyakit ini memiliki dampak besar bagi berbagai fungsi hati, sehingga memungkinkan berkembangnya komplikasi penyakit serta kesulitan penanganan suatu penyakit. Sampai saat ini penanggulangan penyakit hati diantaranya hepatitis akut dan kronis, baik yang disebabkan oleh virus maupun hepatotoksin lain, masih merupakan masalah kesehatan yang besar. Sehingga belum ada obat yang spesifik untuk mengatasi hepatitis. Kelangkaan obat hepatitis tersebut mungkin terkait dengan kerumitan sasaran terapi maupun syarat obat idealnya (Donatus , 1992).

Obat ideal yang diharapkan harus mampu memperlihatkan sikap kuratif dan preventif, yaitu penghilangan faktor penyebab (virus atau hepatotoksin), perangsangan regenerasi sel, penanggulangan radang, pencegahan komplikasi dan kekambuhan serta perlindungan sel hati terhadap aneka hepatotoksin, atau paling tidak mampu merangsang regenerasi, menanggulangi radang, dan melindungi sel hati (Donatus,1992).

Hepatotoksin dapat menimbulkan kerusakan hati akut, subkronik, maupun kronik. Kerusakan hati akut dibedakan menjadi 3 macam yakni : (1) Sitotoksik

(hepatoseluler) yang berhubungan dengan kerusakan parenkim sel hati, dimana luka ini berupa steatosis (degenerasi melemak) atau nekrosis sel-sel hati ; (2) Kolestatik berupa hambatan aliran empedu dengan sedikit atau tanpa kerusakan sel-sel hati ; (3) Campuran berupa kombinasi dari kedua macam kerusakan sitotoksik dan kolestatik (Zimmerman, 1978).

Kerusakan hati kronis ada beberapa jenis, yaitu sirosis, steatosis, neoplasma, dan trombosis vena hepatic. Lebih jauh sirosis sendiri ada beberapa macam, yaitu makronoduler, mikronoduler, dan kongestif. Gambaran histopatologis dari sirosis adalah nekrosis yang diikuti oleh adanya fibrosis maupun kolagenasi jaringan. Jenis makronoduler terjadi pada seluruh jaringan hati (massif), sedangkan mikronoduler meliputi jaringan yang lebih kecil. Kerusakan neoplasma meliputi kerusakan molekul informasi (DNA, RNA) oleh senyawa hepatokarsinogen (Zimmerman, 1978).

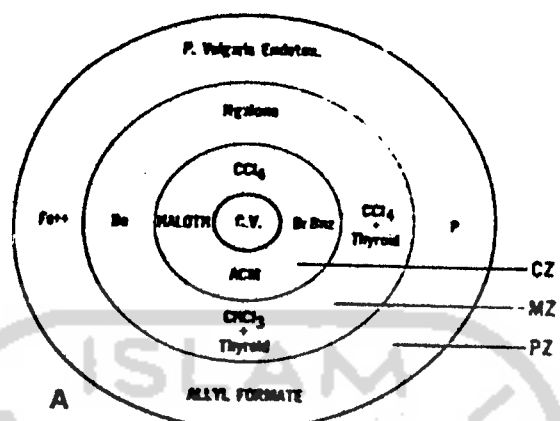
Steatosis atau degenerasi melemak adalah penimbunan atau akumulasi lemak dalam sel-sel yang biasanya memetabolisir lemak. Sel-sel yang mengalami degenerasi melemak, perubahannya bersifat terbalikkan (Cheville, 1976). Akumulasi lemak dan sel-sel hati dapat dibedakan menjadi degenerasi melemak mikrovesikuler dan degenerasi melemak makrovesikuler. Degenerasi melemak mikrovesikuler terjadi apabila sel-sel hati terisi dengan banyak butiran lemak yang sangat kecil, namun tidak sampai mendesak inti sel. Pada degenerasi melemak makrovesikuler, hampir seluruh sel hati terisi butiran lemak berukuran besar sehingga inti sel terdesak ke daerah perifer. Steatosis terjadi karena terhambatnya

transfer lipid keluar dari hati, yang biasanya ditandai dengan akumulasi lemak dalam hati (Zimmerman, 1978).

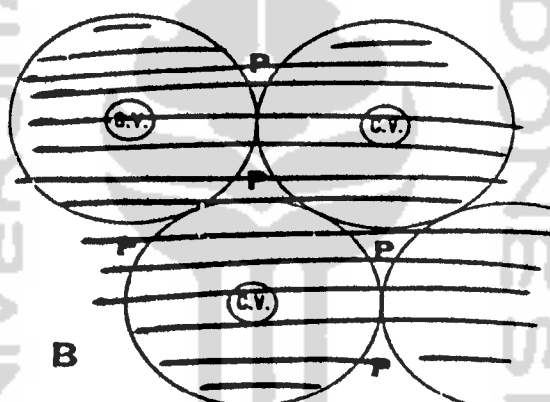
Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan dalam tubuh yang masih hidup. Berbeda dengan degenerasi melemak yang sifatnya terbalikkan, nekrosis dapat terjadi karena proses perusakan sel yang sudah melanjut sehingga melewati kemampuan keterbalikkan suatu sel dengan demikian jaringan nekrotik bersifat tak terbalikkan (Cheville, 1976).

Nekrosis sel hati dapat mengakibatkan gangguan metabolisme bilirubin dalam hati berupa kegagalan hati untuk mengekskresi bilirubin yang dibentuknya ke dalam empedu. Dalam keadaan ini, bilirubin tertimbun dalam darah, dan bila mencapai konsentrasi tertentu akan merembes ke dalam jaringan yang kemudian menjadi kuning. Keadaan tersebut lazim dinamakan penyakit kuning atau ikterus, yang dapat disebabkan oleh pemberian CCl_4 (Harper dkk, 1979 ; Donatus dkk, 1983) atau parasetamol (Rosnalini, 1995).

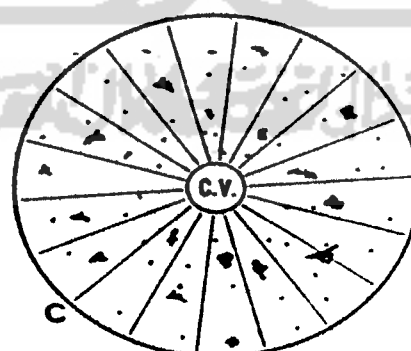
Berdasarkan lokasi dan luasnya, nekrosis dapat dibagi menjadi nekrosis fokal atau difus, nekrosis zonal, dan nekrosis massif. Nekrosis fokal atau difus adalah nekrosis yang terjadi pada sekelompok kecil sel parenkim hati. Nekrosis zonal adalah nekrosis yang terjadi pada sekelompok sel dalam zona sentrolobuler, midzonal, atau periportal. Nekrosis massif adalah nekrosis yang terjadi pada seluruh sel didalam lobulus hati (Darmawan, 1983).



ZONAL NECROSIS



MASSIVE NECROSIS



FOCAL OR DIFFUSE NECROSIS (DRUGS, GALN)

Gambar 3. tipe – tipe nekrosis hati (Zimmerman, 1978)

4. Bugenvil

Uraian tanaman :

a. Nama

Nama ilmiah : *Bougainvillea glabra*, Choisy
 Nama daerah : Kembang kertas (melayu), Bugenvil (Jawa)
 Nama asing : Bougainfill flower (Inggris); Ye zi hua (Cina)
 (Hariana, 2004)

b. Morfologi tumbuhan

Habitus; bugenvil adalah tanaman perdu, menahun, tinggi 5-15 m. Batang; tegak atau sedikit memanjat, bersegi, percabangan simpodial, berduri yang berbentuk kait bila masih muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna hitam. Daun; tunggal, berhadapan, lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 4-10 cm, lebar 2-6 cm, pertulangan menyirip, hijau. Bunga; majemuk, bentuk malai, berkelompok tiga, diketiak daun, bentuk seperti terompet, putih, memiliki daun pelindung tiga helai, merah keunguan. Buah; bentuk gada, kecil, masih muda hijau setelah tua coklat. Biji; bulat, kecil, hitam. Akar; tunggang, putih kecoklatan.

(Anonim, 2003b)

c. Sistematika Tumbuhan

Regnum : *Plantae*
Divicio : *Spermatophyta*
Sub Divicio : *Angiospermae*
Class : *Dicotyledonae*

<i>Ordo</i>	:	<i>Caryophyllales</i>
<i>Familia</i>	:	<i>Nyctaginaceae</i>
<i>Tribus</i>	:	<i>Bougainvilleae</i>
<i>Genus</i>	:	<i>Bougainvillea</i>
<i>Species</i>	:	<i>Bougainvillea glabra</i> , Choisy

(Anonim,2003b)

d. Kandungan kimia

Daun, bunga, akar dan kulit batang *Bougainvillea glabra*, Choisy mengandung saponin dan polifenol (Anonim,2003b). Beberapa bahan kimia terkandung didalamnya, antara lain; *betanidin*, *isobetanidin*, *6-0-β-saphoroside*, dan *6-0-rhamnosysophoroside* (Hariana, 2004).

e. Khasiat

Bunga sebagai penyegar badan, obat bisul, biang keringat, haid tidak teratur, keputihan, sakit waktu haid dan terlambat haid. (Hariana, 2004). Rebusan batang berkhasiat sebagai obat hepatitis (Dalimartha, 1999; Hariana, 2004).

f. Cara pemakaian

Bunga digunakan 9-15 gram untuk penyegar badan, obat bisul, biang keringat, haid tidak teratur, keputihan, sakit waktu haid dan terlambat haid dapat dikombinasi dengan tanaman-tanaman lain misal; sirih, rumput teki, bunga mawar, dengan perbandingan yang sesuai (Hariana, 2004).

Batang bugenvil yang telah dikeringkan sebanyak 9-15 gram dipotong tipis-tipis, masukan dalam panci email. Tambahkan 3 gelas air bersih. Lalu rebus sampai airnya tersisa 1 gelas. Setelah dingin disaring, untuk 2 kali minum pagi dan sore hari (Dalimartha, 1999; Haryana, 2004).



B. Landasan Teori

Sebagian besar tanaman obat tradisional yang telah diuji dan berkhasiat sebagai hepatoprotektif terhadap hewan coba seperti tikus atau mencit adalah tanaman – tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan. Telah diketahui bahwa bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) mengandung senyawa polifenol yang berkhasiat sebagai antioksidan. Secara empirik rebusan batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) diketahui berkhasiat sebagai obat penyakit hepatitis.

Berdasarkan kedua aspek diatas (kandungan senyawa polifenol dan bukti empiris) penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dapat berkhasiat sebagai hepatoprotektif terhadap tikus jantan yang terinduksi parasetamol. Dan untuk mendapatkan kisaran dosis infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) yang dapat bersifat sebagai hepatoprotektif.

C. Hipotesis

Berdasarkan pada pemeriksaan GPT-serum dan pemeriksaan histologi sel hati tikus, infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus yang terinduksi parasetamol.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan uji dalam penelitian ini digunakan infusa batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) yang didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat, Tawangmangu, Surakarta. Sebagai hepatotoksin digunakan Paracetamol derajat farmasetis (Sigma chemical USA). Bahan-bahan berderajat teknis : Alkohol, formalin, GPT-ALAT (Diasys), Xilol, lilin cetak, zat warna hematoksin-eosin, dan Aquadest. Subjek uji digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur wistar, bobot badan seragam. Lebih kurang 100-150 gram, umur 6-8 minggu. Hewan uji diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) unit IV Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta

2. Alat

Alat untuk perlakuan terhadap hewan uji digunakan : Jarum tuberculin dan spuit oral volum 2,5 ml (Terumo). Penetapan aktivitas GPT digunakan Vitalab micro (E merck, Darmstadt, Germany), sentrifuge (STAT S-280 R), magnetic strirer, vortex. Pengambilan hati digunakan alat scalpel, seperangkat alat bedah yang diperoleh dari laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan UGM. Pemeriksaan preparat digunakan mikrotom, mikroskop, kamera dan alat-alat gelas lainnya yang tersedia di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan UGM

B. Cara Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Identifikasi dan determinasi tanaman bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Surakarta. dengan berpedoman pada buku Flora of Java (Backer and Bakhuizen fan den Brink, 1968). Proses determinasi ini penulis dibantu oleh bapak Drs.Katno selaku kepala Instalasi Simplisia, Herbaria dan koleksi Balai Penelitian Tanaman Obat. Hasil determinasi yang didapatkan adalah sebagai berikut :

1b_3a _____Bougainvillea
1b _____Bougainvillea glabra Choisy.

2. Pengumpulan Bahan

Tanaman bugenvil yang masih segar diperoleh dari daerah Tawang mangu, Surakarta. Pengambilan dan pengeringan dilakukan bulan februari 2005.

3. Pembuatan Infusa Batang Bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy)

Batang dibersihkan, dipisahkan dari daun dan bunga, dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan. Batang dikeringkan kemudian dipotong tipis, diserbuk dengan derajat halus tertentu. Proses penyerbukan ini kami lakukan di laboratorium Biologi farmasi, prodi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia dengan menggunakan glinder dan dibantu oleh bapak Ariyanto selaku laboran. Kemudian batang bugenvil kering yang sudah berbentuk serbuk itu Ditimbang sebanyak 18,9 gram untuk pembuatan stock larutan uji. Setelah ditimbang, serbuk kemudian dicampur

dengan air dalam panci infusa, dipanaskan selama 15 menit terhitung suhu 90° C sambil sekali-kali diaduk. Serkai dengan kain flannel selagi panas dan tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume 100 ml. Larutan stock yang dibuat adalah larutan yang memiliki kadar 18,9%.

4. Pembuatan larutan CMC 1% untuk mensuspensikan Parasetamol

Larutan CMC1% dibuat dengan melarutkan 1 gram CMC yang telah ditimbang seksama kedalam air panas dan diaduk sampai larut dan ditambah air hingga volume akhir 100,0 ml. Pembuatan larutan CMC ini dikerjakan di laboratorium Biologi Farmasi, Prodi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

5. Pembuatan suspensi Parasetamol dan penetapan dosis toksik

Parasetamol diberikan secara peroral dalam bentuk suspensi dalam CMC 1%. Dosis parasetamol ditetapkan berdasarkan dosis toksik terhadap tikus yaitu 2,5 g/kg BB (Donatus,1983). Suspensi parasetamol dibuat dengan cara menimbang seksama paracetamol serbuk berderajat farmasetis sebanyak 50 gram dan larutkan dalam CMC 1% sehingga didapat konsentrasi 0,5 gram/ml. Pembuatan larutan suspensi ini, dikerjakan di Laboratorium Biologi farmasi, prodi farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

6. Penetapan dosis sediaan uji infusa batang *Bougainvillea glabra*, Choisy

Dosis yang digunakan adalah 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3.78 g/ kgBB. Penetapan dosis dilakukan berdasarkan penggunaan empiris dimasyarakat dan setelah dilakukan orientasi, peringkat dosis tersebut sudah

menunjukkan efeknya yaitu dapat menurunkan aktivitas SGPT serum. Volume infusa yang diberikan adalah 2 ml, termasuk range setengah volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji (5,00 ml/kg).

7. Penetapan tolok ukur kerusakan sel hati

Metode yang dilakukan adalah menurut rancangan acak lengkap pola satu arah dengan perlakuan sebagai berikut : Sejumlah 36 ekor tikus dibagi dalam 6 kelompok, dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus, dipelihara dalam kondisi sama, diambil darahnya sebelum perlakuan dan kemudian tiap kelompok diberi perlakuan sebagai berikut :

Kelompok I sebagai kontrol diberi aquades 2 ml (peroral).

Kelompok II sebagai kontrol negatif diberi perlakuan dengan Parasetamol dosis toksik 2,5 g/kg BB (peroral).

Kelompok III-VI berturut-turut diberi perlakuan sediaan uji (infusa batang bugenvil) peroral dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3.78 g/ kgBB, selama 6 hari berturut – turut. Hewan uji diambil darahnya untuk menetapkan aktifitas SGPT serum sebelum pemberian hepatotoksin. Delapan jam kemudian hewan uji diberi Parasetamol dosis toksik 2,5 g/kgBB. 48 jam setelah pemberian parasetamol, segera dilakukan pengambilan darah hewan uji guna menentukan aktifitas enzim serum. Sesaat setelah pengambilan darah hewan uji dikorbankan untuk diambil hatinya dan dimasukkan dalam formalin 10% untuk dibuat preparat histopatologi. Proses ini kami lakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) unit IV Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta dibantu oleh beberapa staf pekerja yang cukup berkompeten dibidang ini.

8. Penyiapan serum

Hewan uji diambil darahnya melalui mata. Darah yang keluar ditampung dalam tabung eppendrof sebanyak 1 ml, diamkan selama 15 menit kemudian dipusingkan dengan sentrifuge kecepatan 3500 rpm selama 10 menit kemudian ambil supernatannya. Proses ini kami lakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah mada, Jogjakarta dibantu oleh seorang analis kesehatan dan seorang laboran.

9. Analisis aktifitas SGPT

Untuk analisis fotometri aktifitas enzim GPT-serum dilakukan berdasarkan metode Modified IFCC U.V. Kinetic. Yaitu suatu metode dengan serangkaian reaksi sebagai berikut. Serum (100 μ l) ditambah larutan reagen R1 (1000 μ l) setelah dicampur diamkan selama 5 menit kemudian tambahkan larutan reagen R2 (250 μ l) campur, inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit dan baca penurunan resapan setiap 1 menit selama 3 menit pada panjang gelombang 340 nm. hasil yang diperoleh dikalikan dengan factor 1746. SGPT dinyatakan dalam IU/L. proses pemeriksaan ini dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah mada, Jogjakarta dibantu oleh seorang analis kesehatan dan seorang laboran.

10. Pemeriksaan histologis sel-sel hati

a. Pembuatan preparat histologis sel-sel hati

Hati tikus dipotong kecil-kecil dengan mikrotom setebal 3 mm, kemudian difiksasi. Preparat dimasukkan kedalam larutan etanol secara bertingkat berturut-turut etanol 50% selama 30 menit, etanol 90% selama 30 menit, etanol mutlak

selama 30 menit, masing-masing dua kali perlakuan. Selanjutnya preparat dimasukkan dalam xilol-parafin. Masukkan kedalam oven selama satu jam dalam blok preparat. Setelah dicetak, preparat dipotong setebal 5 mikron, masukkan kedalam xilol murni 5-10 menit. Ambil preparat dan masukkan ke dalam larutan etanol bergantian berturut-turut, etanol 96%, 90%, 70%, dan 50%, masing-masing selama 5-10 menit, cuci dengan air, baru kemudian dimasukkan kedalam larutan eosin-alkohol selama 1-2 menit. Akhirnya preparat dikeringkan dalam suhu kamar dan ditutup dengan kanada balsem serta obyek gelas. Pembuatan preparat histologi sel hati dilakukan oleh Balai Besar Veteriner, Wates.

b. Pemeriksaan histopatologi.

Preparat sel-sel hati yang telah di cat dengan hematoksilin-eosin. Selanjutnya diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 40X dan 100X. Hasil pemeriksaan dibuat foto mikroskopik sebagai data kualitatif. Analisis histologi sel hati dilakukan Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Analisis dilakukan oleh Prof. Dr. drh. Soesanto Mangkoewidjojo, M.Sc, Ph. D.

B. Analisis dan evaluasi hasil

Analisis kuantitatif dilakukan terhadap aktivitas enzim GPT-serum. Data aktivitas enzim GPT-serum masing-masing dosis uji di analisis dengan anova pola searah diteruskan dengan uji Tuckey dengan taraf kepercayaan 95%. Untuk mengetahui apakah data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen maka sebelumnya dilakukan uji kolmogorov smirnov. Data hasil pemeriksaan histopatologi dianalisis secara kualitatif.

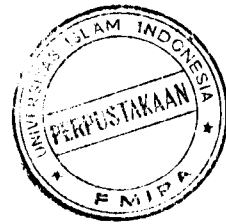
Berdasarkan data aktivitas enzim SGPT tersebut maka dihitung daya hepatoprotektif dengan persamaan sebagai berikut :

$$\text{Daya hepatoprotektif} = \frac{\text{AGPT P}_{st} - \text{AGPTD}}{\text{AGPT P}_{st} - \text{AGPTK}_t} \times 100\%$$

Keterangan : AGPT P_{st} = Purata Aktifitas GPT-serum Kontrol Parasetamol.

AGPT D = Purata Aktifitas GPT-serum masing-masing dosis uji setelah perlakuan parasetamol dosis toksik.

AGPT K_t = Purata Aktifitas GPT-serum kontrol Aquadest.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan selama kurang lebih satu bulan. Dimulai dari persiapan alat dan bahan serta orientasi yang dilakukan untuk menguji coba apakah dosis atau perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian ini dapat menghasilkan hasil yang optimal. Disamping itu juga, penelitian ini merujuk kepada penelitian-penelitian terdahulu. Data-data dari peneliti terdahulu juga ditampilkan.

Determinasi tanaman dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Surakarta. dengan berpedoman pada buku Flora of Java (Backer and Bakhuizen van den Brink, 1968). Proses determinasi ini penulis dibantu oleh bapak Drs.Katno selaku kepala Instalasi Simplisia, Herbaria dan koleksi Balai Penelitian Tanaman Obat. Hasil determinasi yang didapatkan adalah sebagai berikut :

1b_3a _____ Bougainvillea
1b _____ Bougainvillea glabra Choisy.

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman obat yang digunakan dalam penelitian ini benar-benar bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) sebagaimana yang tertera pada lampiran 1.

Pembuatan infus dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi, Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, UII. Bahan uji yang sudah diserbuk, ditimbang sebanyak 18,9 gram untuk pembuatan stok larutan uji. Setelah ditimbang, serbuk kemudian dicampur dengan air dalam panci infusa, dipanaskan selama 15 menit

terhitung suhu 90° C sambil sekali-kali diaduk. Serkai dengan kain flannel selagi panas dan tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume 100 ml. Larutan stock yang dibuat adalah larutan yang memiliki kadar 18,9%. Infus yang didapatkan berupa larutan berwarna kuning kecoklatan memiliki konsistensi yang cukup encer, tidak kental dan memiliki bau khas batang bugenvil. Standarisasi infus belum dilakukan karena senyawa aktif yang berperan sebagai hepatoprotektif belum diketahui.

Pengujian efek hepatoprotektif berdasarkan tolok ukur enzim serum dilakukan dengan pengukuran aktifitas enzim GPT-serum 36 ekor tikus putih betina galur wistar yang dibagi 6 kelompok perlakuan. Aktifitas enzim GPT-serum dinyatakan dalam mean $\pm$ SE (U/L) dan diukur aktifitas enzim GPT-serum sebelum pemberian parasetamol dosis toksik dan 48 jam setelah pemberian parasetamol dosis toksik. Daya hepatoprotektif dihitung dari perbandingan antara selisih aktifitas GPT-serum hepatotoksin dan dosis uji dengan selisih aktifitas GPT-serum hepatotoksin dan kontrol larutan dalam hal ini aquadest. Daya hepatoprotektif disajikan dalam bentuk persen.

Analisis histologi sel hati dilakukan untuk mengetahui gambaran mikroskopik histologi kerusakan sel hati yang ditimbulkan oleh hepatotoksin parasetamol, adanya perbaikan histologi sel hati akibat praperlakuan sediaan uji dapat dijadikan petunjuk sejauh mana daya hepatoprotektifnya. Hasil analisis histologi sel hati disajikan dalam bentuk foto mikroskopis.

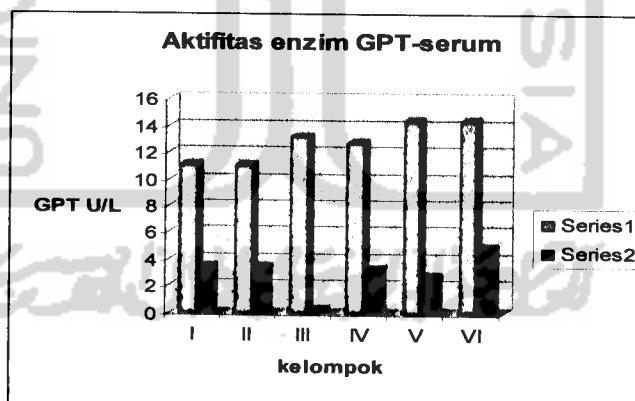
1. Pengukuran aktifitas GPT-serum hari ke-0 sebagai kontrol normal.

Setelah melewati masa adaptasi selama lebih kurang 5 hari, Sebelum diberikan perlakuan apapun, tikus diambil darahnya dan diperiksa aktifitas GPT-serumnya.

Tabel 1. Aktifitas GPT-serum hewan uji sebelum perlakuan (kontrol normal)

Kelompok	I	II	III	IV	V	VI
SGPT (Unit/Liter)	13,23	13,23	13,23	13,23	19,85	13,23
	6,65	13,23	12,65	16,47	13,23	13,23
	13,23	6,65	13,23	13,23	13,23	13,23
	6,65	13,23	13,23	13,23	13,23	19,85
	13,23	6,65	13,23	13,23	13,23	6,65
	13,23	13,23	13,23	6,65	13,23	19,85
Mean±SD	11,055±3,4	11,04±3,4	13,13±0,24	12,67±3,2	14,33±2,7	14,34±4,9

Keterangan : Kelompok I : Kontrol Aquadest
 Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol
 Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB
 Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB
 Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB
 Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB



Gambar 4. Aktifitas GPT-serum hewan uji sebelum perlakuan (kontrol normal)

Keterangan : Kelompok I : Kontrol Aquadest
 Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol
 Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB
 Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB
 Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB
 Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB
 Series 1 : Purata aktifitas enzim, Series 2 : Standar deviasi

Hasil pemeriksaan menunjukan bahwa seluruh hewan uji dalam hal ini tikus memiliki aktifitas GPT-serum yang kurang lebih sama. Ditunjukan dengan analisis data yang dilakukan menunjukan tingkat signifikansi ($p>0,05$) hal ini menunjukan bahwa hewan uji berada dalam kondisi yang kurang lebih seragam dan kondisi hati yang normal karena Aktifitas GPT- serumnya kurang dari 30,2 IU/L (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

2. Penentuan Waktu Kehepatotoksikan Parasetamol Mencapai Maksimal.

Berikut adalah data dari penelitian-penelitian sebelumnya dimana telah dioptimasi waktu pemberian hepatotoksin parasetamol untuk mencapai derajat kerusakan yang tertinggi. Sebagaimana ditampilkan pada tabel 3 dan 4 berikut.

Tabel 2. Aktifitas enzim GPT-serum pada pemberian parasetamol dosis toksik 2,5 g/kgBB (Rosnalini, 1995)

Jam ke -	Aktifitas Enzim GPT-serum (U/L)	Tipe Nekrosis
0	30	-
24	1340	Tipe zonal (+)
48	2380	Tipe zonal (+)
72	1120	Tipe zonal (+)
96	269	-
120	155	-

Tabel 3. Aktifitas enzim GPT-serum pada pemberian parasetamol dosis toksik 2,5 g/kgBB (Yuningsih, 2003)

Jam ke-	Aktifitas GPT-serum (U/L)	
	Tikus I	Tikus II
24	405	791
48	1230	1605
72	213	954

Penetapan aktifitas enzim GPT-serum pada jam ke-48 setelah pemberian parasetamol dosis toksik memberikan nilai aktifitas enzim tertinggi dibandingkan

jam yang lainnya. Oleh sebab itu jam ke-48 digunakan sebagai waktu hepatotoksik parasetamol dosis 2,5 kg/BB yang maksimal.

3. Kisaran dosis hepatoprotektif

Penetapan kisaran dosis hepatoprotektif infus bugenvil dilakukan dengan pemberian sediaan uji 6 hari berturut-turut sebelum pemberian hepatotoksin parasetamol. Dosis sediaan uji yang diberikan adalah 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB. Setelah pemberian hepatotoksin parasetamol pada jam ke-48 dilakukan pengukuran aktifitas enzim GPT-serum. Penetapan kisaran dosis hepatoprotektif didasarkan atas; 1) daya hambat infus bugenvil terhadap hepatotoksin parasetamol yang dinyatakan dalam persen. 2) daya hepatoprotektif, dan 3) analisis histologi sel-sel hati.

Tabel 4. Data Aktifitas enzim GPT-serum 48 jam setelah pemberian hepatotoksin parasetamol

Kelompok	I	II	III	IV	V	VI
SGPT (Unit/Liter)	13,23	79,69	70,65	46,32	44,32	26,23
	6,65	92,94	72,94	46,32	40,71	20,85
	6,65	89,71	70,85	46,32	40,69	29,65
	6,65	86,05	70,65	43,04	39,85	29,65
	13,23	89,71	69,05	44,32	33,04	29,65
	6,65	79,42	75,42	44,32	39,85	19,85
Mean±SD	8,84±3,4	86,25±5,6	71,59±2,3	45,11±1,4	39,74±3,7	25,98±4,6

Keterangan :

- Kelompok I : Kontrol Aquadest
- Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol
- Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB
- Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB
- Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB
- Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB

Tabel 5. Tabel perbedaan terhadap kontrol parasetamol dan kontrol aqua

Kelompok	Aktifitas enzim GPT-serum (U/L) (Mean $\pm$ SE)	% Perbedaan terhadap kelompok	
		Kontrol Aqua	Kontrol parasetamol
I	8,84 $\pm$ 1,39	-	(-) 89,75*
II	86,25 $\pm$ 2,29	(+) 857,68*	-
III	71,59 $\pm$ 0,92	(+) 709,84*	(-) 16,99*
IV	45,11 $\pm$ 1,41	(+) 410,29*	(-) 47,69*
V	39,74 $\pm$ 1,50	(+) 349,55*	(-) 53,92*
VI	25,98 $\pm$ 1,87	(+) 193,89*	(-) 69,88*

Keterangan : (+) Kenaikan aktifitas enzim GPT-serum

(-) Penurunan aktifitas enzim GPT-serum

Kelompok I : Kontrol Aquadest

Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol

Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB

Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB

Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB

Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB

* berbeda bermakna

Persen perbedaan sediaan uji terhadap kontrol parasetamol menunjukkan perbedaan yang bermakna untuk semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Perbedaan yang bermakna menyatakan bahwa kerusakan hati karena hepatotoksin parasetamol tanpa praperlakuan dengan infus bugenvil menunjukkan kondisi paling buruk didukung dengan nilai aktifitas enzim GPT-serum tertinggi. Besarnya nilai persen perbedaan menunjukkan daya hambat terhadap kehepatotoksikan parasetamol. Besarnya daya hambat untuk dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB adalah berturut-turut 16,69%; 47,69%; 53,92%; dan 69,88%. Perbedaan yang bermakna secara statistika menunjukkan praperlakuan sediaan uji pada dosis tersebut mampu menurunkan aktifitas enzim GPT-serum tikus terinduksi parasetamol. Nilai hambat tertinggi

dicapai pada dosis 3.78 g/ kgBB. Temuan ini membuktikan bahwa sediaan uji dapat menghambat hepatotoksin parasetamol.

Aktifitas enzim GPT-serum setiap kelompok dosis uji jika dibandingkan dengan kontrol aquadest secara statistik menunjukkan hasil yang berbeda bermakna ($p < 0,05$). Perbedaan yang bermakna menunjukkan bahwa sediaan uji belum mampu menurunkan aktifitas enzim GPT-serum benar-benar mendekati nilai normalnya yaitu dalam hal ini belum dapat menurunkan aktifitas GPT-serum hingga sama dengan aktifitas enzim GPT-serum tikus normal sebagaimana yang ditunjukkan oleh kontrol Aquadest.

Tabel 6. Tabel persen daya hepatoprotektif sediaan dosis uji infus bugenvil

Kelompok	% Daya hepatoprotektif
III (dosis 0,4725 g/KgBB)	18,93 %
IV (dosis 0,945 g/ kgBB)	53,14 %
V (dosis 1,89 g/ kgBB)	60,08 %
VI (dosis 3,78 g/ kgBB)	77,86 %

Keterangan :

Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB
 Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB
 Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB
 Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB

Daya hepatoprotektif pada sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB adalah berturut-turut 18,93%; 53,14%; 60,08%; dan 77,86%. Daya hepatoprotektif tertinggi dicapai pada dosis 3.78 g/ kgBB sesuai dengan persen perbedaan terbesar terhadap kontrol paracetamol, dan persen perbedaan terkecil terhadap kontrol Aquadest.

Tabel 7. Tabel hasil analisis aktifitas GPT-serum tikus setelah praperlakuan infus batang bugenvil terinduksi parasetamol dengan uji tuckey

Kelompok yang dibandingkan	Harga p	kesimpulan
I-II	0,000	Berbeda bermakna
I-III	0,000	Berbeda bermakna
I-IV	0,000	Berbeda bermakna
I-V	0,000	Berbeda bermakna
I-VI	0,000	Berbeda bermakna
II-III	0,000	Berbeda bermakna
II-IV	0,000	Berbeda bermakna
II-V	0,000	Berbeda bermakna
II-VI	0,000	Berbeda bermakna
III-IV	0,000	Berbeda bermakna
III-V	0,000	Berbeda bermakna
III-VI	0,000	Berbeda bermakna
IV-V	0,165	Tidak berberda bermakna
IV-VI	0,000	Berbeda bermakna
V-VI	0,000	Berbeda bermakna

Hasil uji Tuckey pada kelompok III terhadap kelompok IV, V, VI menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada kelompok III dosis 0,4725 g/ kgBB menunjukkan penurunan aktifitas enzim GPT-serum terendah terhadap kelompok II kontrol parasetamol dibandingkan dosis IV, V, dan VI. Kelompok IV yaitu sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB memberikan perbedaan yang bermakna terhadap kelompok III dan VI akan tetapi tidak berbeda bermakna dengan kelompok V. ini menandakan bahwa penurunan aktifitas enzim GPT-serum antara kelompok IV dosis 0,945 g/ kgBB dan V dosis 1,89 g/ kgBB menunjukkan hasil yang hampir sama. Kelompok V dosis 0,945 g/ kgBB memberikan hasil yang berbeda bermakna terhadap kelompok III, dan VI akan tetapi tidak berbeda bermakna dengan kelompok IV. Kelompok VI 3.78 g/ kgBB menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok III, IV, dan V. Kelompok VI dosis

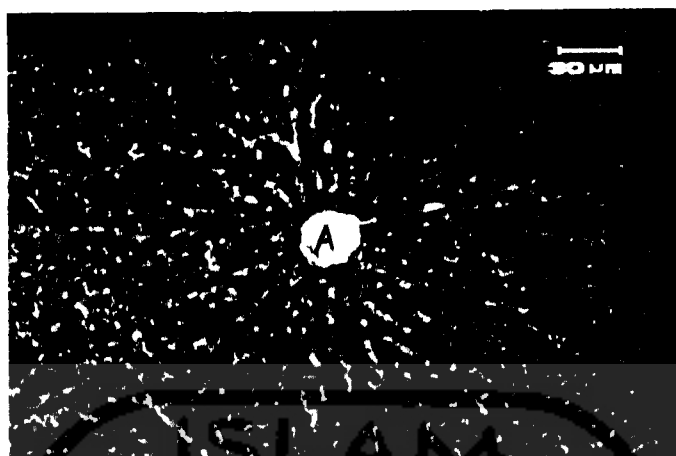
uji 3,78 g/ kgBB menunjukkan persen perbedaan tertinggi terhadap kontrol parasetamol.

4. Hasil pemeriksaan histopatologi sel-sel hati

Analisis histologi sel-sel hati dilakukan untuk mengetahui keadaan mikroskopis sel hati setelah pemberian parasetamol dosis toksik dan pengaruh praperlakuan dengan infus batang bugenvil . Gambaran histologi sel-sel hati dapat dijadikan petunjuk daya hepatoprotektif infus batang bugenvil untuk memperkuat analisis dengan aktifitas enzim GPT-serum. Kenaikan aktifitas enzim GPT-serum dapat diakibatkan oleh perubahan permeabilitas membran sel yang disebabkan oleh Anoksia, sehingga dengan pemeriksaan mikroskopis sel-sel hati dapat diketahui penyebab kenaikan aktifitas enzim GPT-serum.

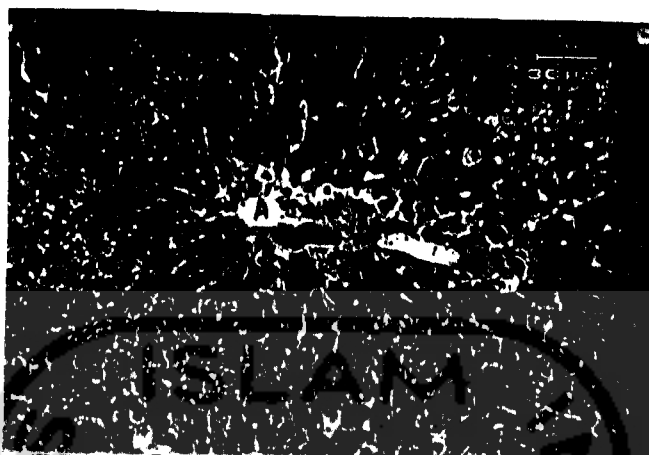
Tabel 8. Tabel hasil analisis histologi sel-sel hati tikus 48 jam setelah pemberian hepatotoksin parasetamol.

Kelompok	Hasil Pengamatan
Kelompok I (kontrol Aqua)	Tidak ada perubahan, Sel hati tampak normal, hepatosit tampak baik. Tampak sel hati yang terdiri dari lobulus yang letaknya tersusun radier. Terdapat sedikit infiltrasi mononuklear di daerah periportal.
Kelompok II (kontrol Parasetamol)	Nekrosis sentrolobular tipe zonal + 3. Terjadi pembengkakan hepatosit disertai penyempitan sinusoid, infiltrasi sel mononuklear di jaringan interlobular terutama di daerah periportal. Hepatosit tidak tersusun radier. Di daerah periportal terdapat nekrosis disertai hemoragi.
Kelompok III (praperlakuan bugenvil dosis 0,4725 g/ kgBB)	Nekrosis sentrolobular tipe zonal + 3. Terdapat infiltrasi sel mononuclear, nekrosis individual hepatosit di beberapa tempat, terdapat degenerasi melemak.



Gambar 6. Gambaran Histologi sel hati tikus normal (aquadest) perbesaran 10x10 (HE)
A. Vena sentralis, B. Intisel, C. Sinusoid

Sel hati terdiri atas lobulus yang letaknya tersusun radier mengelilingi vena sentralis. Tampak inti sel hati atau hepatosit dalam keadaan baik. Sinusoid masih terlihat normal yaitu tidak tampak adanya penyempitan atau pelebaran. Pelebaran dan penyempitan sinusoid dapat terjadi apabila terdapat pembengkakan sel hepatosit. Sel hepatosit akan mengalami tiga fase perubahan sebelum dapat dikatakan nekrosis. Ketiga fase tersebut adalah; piknosis atau pengerutan inti sel; reksis atau pecahnya inti sel; dan lisis dimana inti sel sudah tidak eksis lagi atau dengan kata lain inti sel sudah hilang. Pada kelompok kontrol aquadest ini nekrosis sentrolobuler memiliki skor 0 atau tidak ditemukan nekrosis. Hanya terdapat sedikit infiltrasi mononuclear di daerah periportal. Pemeriksaan ini dapat mendukung pemeriksaan enzim GPT-serum. Dimana kelompok ini menunjukkan data GPT-serum yang paling rendah yaitu $8,84 \pm 3,4$ U/L.



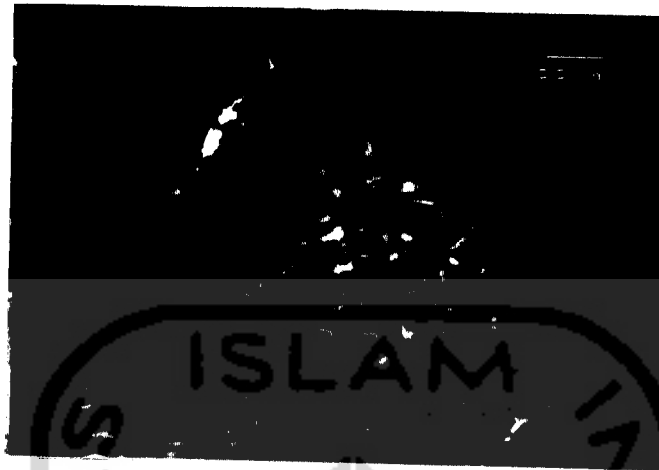
Gambar 8. Gambaran Histologi sel hati tikus pra perlakuan infus dosis 0,4725 g/KgBB + dosis toksik parasetamol 2,5 g/KgBB perbesaran 10x10 (HE) . A. Vena sentralis, B. Nekrosis sentrolobuler, C. Degenerasi lemak

Berdasarkan pemeriksaan histologi, praperlakuan infus dosis 0,4725 g/KgBB belum dapat menurunkan tingkat kerusakan sel hati. Nekrosis yang terjadi memiliki derajat atau skor yang sama dengan kerusakan yang terdapat pada tikus kelompok kontrol parasetamol yaitu +3. Diperifer tampak infiltrasi lemak. Dari data aktifitas GPT-serum kelompok ini memberikan nilai aktifitas yang hampir sama dengan kontrol parasetamol yaitu $71,59 \pm 2,3$ U/L dan memiliki daya hepatoprotektif yang hanya 18,93 %. Kelompok dosis ini belum dapat menurunkan tingkat kerusakan sel hati sehingga belum dapat dikatakan berfungsi sebagai sebagai hepatoprotektor. Setidaknya untuk dapat dinyatakan sebagai hepatoprotektor harus dapat menghasilkan daya hepatoprotektif $\leq 20\%$ (Yuningsih, 2003).



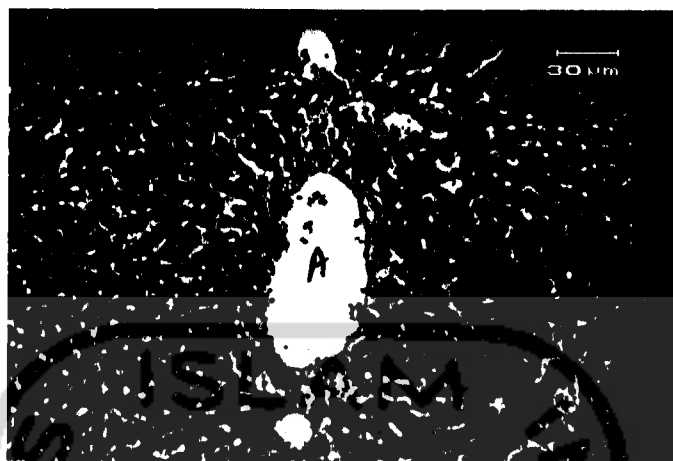
Gambar 9. Gambaran Histologi sel hati tikus pra perlakuan infus dosis 0,945 g/KgBB + dosis toksik parasetamol 2,5 g/KgBB perbesaran 10x10 (HE). A. Vena sentralis, B. Nekrosis sentrolobuler

Berdasarkan data histologi, kelompok perlakuan dosis 0,945 g/KgBB dapat menurunkan kerusakan sel hati. Derajat kerusakannya +2 (40-60 %) ditandai dengan infiltrasi sel mononuclear dan polinuklear disekitar vena sentralis. Hepatosit juga mengalami individual nekrosis dibeberapa tempat. Penurunan kerusakan sel hati ini dapat menegaskan data aktifitas enzim GPT-serumnya yaitu sebesar $45,11 \pm 1,4$ U/L. Kelompok perlakuan infus dosis 0,945 g/KgBB memberikan daya hepatoprotektif sebesar 53,14 %. Kelompok perlakuan dosis 0,945 g/KgBB dapat menurunkan kerusakan sel hati. Dan dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor.



Gambar 10. Gambaran Histologi sel hati tikus pra perlakuan infus dosis 1,89 g/KgBB + dosis toksik parasetamol 2,5 g/KgBB perbesaran 10x10 (HE). A. Vena sentralis, B. Nekrosis sentrolobular.

Perlakuan infus dosis 1,89 g/KgBB Berdasarkan data histologi dapat menurunkan kerusakan sel hati. Derajat kerusakannya +2 ditandai dengan infiltrasi mononuclear disekitar vena sentralis. Dan individual nekrosis hepatosit. Penurunan kerusakan sel hati ini dapat menegaskan data aktifitas enzim GPT-serumnya yaitu sebesar $45,11 \pm 1,4$ U/L. Dengan daya hepatoprotektif 60,08 %. Kelompok perlakuan dosis 1,89 g /KgBB dapat menurunkan kerusakan sel hati. Dan dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor.



Gambar 11. Gambaran Histologi sel hati tikus pra perlakuan infus dosis 3,78 KgBB + dosis toksik parasetamol 2,5 g/KgBB perbesaran 10x10 (HE). A. Vena sentralis, B. Nekrosis sentrolobular.

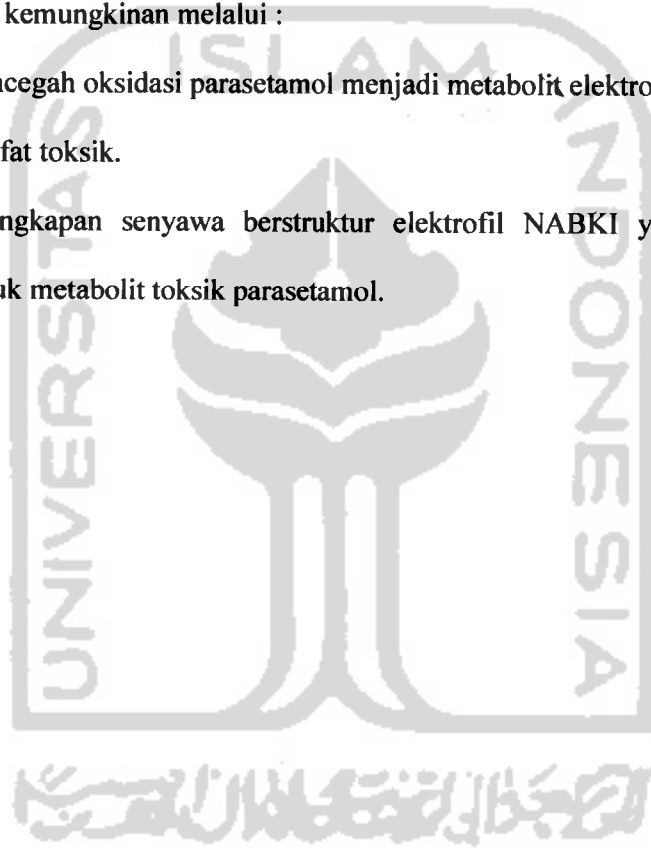
Perlakuan infus dosis 3,78 g/KgBB Berdasarkan data histologi dapat menurunkan kerusakan sel hati. Derajat kerusakannya +1 (20-40%) ditandai dengan infiltrasi mononuclear disekitar vena sentralis yang ringan. Dan focal nekrosis kecil disertai infiltrasi mononuclear. Penurunan kerusakan sel hati ini dapat menegaskan data aktifitas enzim GPT-serumnya yaitu sebesar $25,98 \pm 4,6 \text{ U/L}$. Kelompok perlakuan infus dosis 3,78 g/KgBB memberikan daya hepatoprotektif sebesar 77,86 %. Kelompok perlakuan dosis 3,78 g/KgBB dapat menurunkan kerusakan sel hati. Dan dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor.

Pada pengukuran aktifitas enzim GPT-serum menunjukkan korelasi antara penurunan aktifitas enzim GPT-serum dengan kenaikan dosis uji. Tingkat penurunan aktifitas enzim GPT-serum berkaitan dengan besarnya daya hepatoprotektif. Daya hepatoprotektif tertinggi dicapai dosis 3,78 g/KgBB. Hasil analisis enzim GPT-serum juga berkorelasi dengan hasil histologi sel-sel hati.

Dari hasil histologi sel hati diketahui bahwa dengan kenaikan dosis terjadi penurunan tingkat nekrosis sel hati . dari hasil analisis aktifitas enzim GPT-serum dan histologi sel hati maka kisaran dosis hepatoprotektif adalah 0,945 g/ kgBB - 3,78 g/ kgBB.

Peranan infus sebagai agen hepatoprotektif terhadap kehepatotoksikan parasetamol kemungkinan melalui :

1. Mencegah oksidasi parasetamol menjadi metabolit elektrofil NABKI yang bersifat toksik.
2. Penangkapan senyawa berstruktur elektrofil NABKI yang merupakan bentuk metabolit toksik parasetamol.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

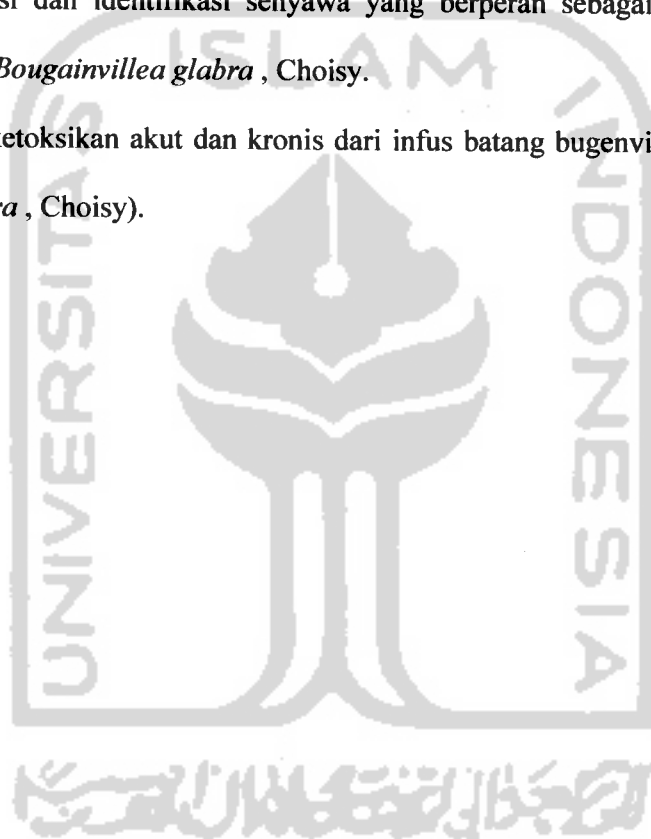
Berdasarkan hasil analisis aktifitas enzim GPT-serum dan pemeriksaan histologi sel hati maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Purata Aktifitas GPT- serum dari tikus yang diberikan praperlakuan infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB berturut-turut adalah sebagai berikut 71, 59 U/L; 45,11 U/L; 39,74 U/L; 25,98 U/L.
2. Hasil pemeriksaan histologi hati tikus yang diberikan praperlakuan infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB berturut-turut adalah sebagai berikut nekrosis sentrolobular +3; nekrosis sentrolobular +2; nekrosis sentrolobular +2; nekrosis sentrolobular +1.
3. Berdasarkan aktifitas GPT-serum dan pemeriksaan histologi hati, persen daya hepatoprotektif kelompok praperlakuan infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) dosis 0,4725 g/ kgBB; 0,945 g/ kgBB; 1,89 g/ kgBB; 3,78 g/ kgBB berturut-turut adalah sebagai berikut 18,93 %; 53,14 %; 60,08 %; 77,86 %.
4. Infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy) memiliki aktifitas sebagai hepatoprotektif dan kisaran dosis efektifnya adalah 0,945 g/ kgBB- 3,78 g/ kgBB.

B. Saran

Untuk menyempurnakan hasil penelitian ini hendaknya dilakukan :

1. Peranan infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra* , Choisy) sebagai hepatoprotektif dengan menggunakan hepatotoksin lain, missal CCl₄, galaktosamin, dll.
2. Isolasi dan identifikasi senyawa yang berperan sebagai hepatoprotektif dari *Bougainvillea glabra* , Choisy.
3. Uji ketoksikan akut dan kronis dari infus batang bugenvil (*Bougainvillea glabra* , Choisy).



- Donatus, I.A., Sutjipto, N.S, Wahyono, D, 1983, Pengaruh Cairan Yang Keluar Dari Batang Bambusa vulgaris (Schard), Terhadap Regenerasi Sel-Sel Hepar Tikus Putih Jantan, *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta, 105
- Donatus, I. A., 1992, Peran Fitofarmaka Dalam Upaya Pengobatan Hepatitis, *Kumpulan Naskah Lengkap Simposium Nasional Hepatitis*, Yogyakarta.
- Donatus, I.A., 1994, Antaraksi Kurkumin dan Paracetamol Kajian Terhadap Aspek Farmakologi Dan toksikologi Perubahan Hayati Parasetamol, *Disertasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Dorothea, K.Y., 1987, Pengaruh Infusa Akar Ceplukan (*Physalis Angulata*, L) Terhadap efek Hepatotoksik CCl₄ Pada Tikus Putih Jantan, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada.
- Hariana, A., 2004, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, seri 1, Penebar Swadaya, Jakarta 53-55.
- Junguiera, L. C., Carnerro, J., Kelley, R.O., 1998, *Histologi Dasar*, Alih Bahasa Jon Tambayong, Ed. 8, EGC Penerbit buku Kedokteran, Jakarta, 317-35.
- Khomsan, A., 2002, *Cegah Penyakit Degeneratif dengan Catechin*, available at <http://www.kompas.com/kompascetak/0307/30/inspirasi/459797.htm>(diakses 08 januari 2005)
- Lu, F.C., 1995, *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*, terjemahan Edi Nugroho, Edisi ke II, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 206-208.
- Niesink, R. J. M., 1996, *Toxicology Principles and Application*, CRC Press, Inc., Nedherland; 2, 707.
- Noer, H. S., 1987, *Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimia Hati dalam Ilmu Penyakit Dalam*, jilid 1, Edisi II, Balai Penerbit FK UI, Jakarta, 541-46.
- Plaa, G. I., 1975, *Toxicology of the Liver*, M Cassaret, L. J., and Doull, J., *Toxicology the Basic Science of poison*, Macmillan Publishing Co, Inc., New York, 171-79.
- Rosnalini, 1995, Efek hepatoprotektif seduhan serbuk rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*, Berg) yang diperdagangkan pada tikus putih terangsang galaktosamin, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.

- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S., 1998, *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah tropis*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta , 38-45.
- Sulistyawati, R., 2002, Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol (*Kaempferia rotunda*, L) pada tikus jantan galur wistar terangsang paracetamol, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Jogjakarta.
- Sutriyani, S., 2005, PEngaruh Pemberian Ekstrak Akar Sangitan (*sambucus Javanica*, Reinw, Exbr.) Terhadap Berat Badan, Aktifitas Enzim ALT Serum Darah Tikus (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberi Karbon Tetra Klorida, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Jogjakarta.
- Yuningsih, Y., 2003, Efek Hepatoprotektif Infus Daun The (*Camellia sinensis*, L) pada tikus putih jantan galur wistar terangsang paracetamol, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Darma.
- Zimmerman,H.J, 1978, *Hepatotoxicity the Adverse Effect of Drugs and Other Chemical on the Liver*, Appleton Century forts, New York, 46-51, 95-101, 225-227

Lampiran 1 : Surat keterangan melakukan Determinasi



DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
PUSLITBANG FARMASI DAN OBAT TRADISIONAL
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT
TAWANGMANGU, SURAKARTA TELP. (0271) 697010 FAX. 697451



Nomor : KES/01/01/11/098

Lampiran :

Pernyataan : Surat Keterangan Melakukan
Menentukan Determinasi

Kepada Yth :
Saudara Dekan
Fakultas Farmasi
Universitas Islam Indonesia
Jl. Pahlawan Jaya No.
100400-100

Menyatakan Surat Saudara Nomor : 001/001/7/24/1997, tertanggal 15
Februari 2005 perihal permohonan izin penelitian.

Sehubungan dengan permohonan hasil penelitian dari saudara tersebut

No. Nama/NIK Nama/NIK Nama/NIK

1. Endang Dwi Setiati NIK 196501011990010001
2. Nur Permana NIK 196501011990010001
3. Alimatussalam Med. Haniyati NIK 196501011990010001

Berikutnya, jika penelitian tersebut selesai, maka akan dipaparkan
dalam bentuk



BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT
PUSLITBANG FARMASI DAN OBAT TRADISIONAL
DEPARTEMEN KESEHATAN RI

TAWANGMANGU, SURAKARTA
15 FEBRUARI 2005

Mengetahui, Kepala Yth :

Isi (001/001/7/24/1997)

Lampiran 2 : Surat keterangan determinasi

SURAT KETERANGAN DETERMINASI

Nama : *Bougainvillea glabra* Chois.

Suku : Nyctaginaceae

Hasil determinasi menurut C. A. Backer (1968):

1b_3a Bougainvillea

1b Bougainvillea glabra Chois.

Deskripsi tanaman:

Habitus; perdu, menahun, tinggi 5-15 m. Batang; tegak atau sedikit memanjat, bersegi, percabangan simpodial, berduri yang berbentuk kait, masih muda hijau setelah tua hitam. Daun; tunggal, berhadapan, lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 4-10 cm, lebar 2-6 cm, pertulangan menyirip, hijau. Bunga; majemuk, bentuk malai, berkelopak tiga, diketiak daun, bentuk seperti terompet, putih, memiliki daun pelindung tiga helai, merah keunguan. Buah; bentuk gada, kecil, masih muda hijau setelah tua coklat. Biji; bulat, kecil, hitam. Akar; tunggang, putih kecoklatan.

Tawangmangu, April 2005
Kepala Instalasi
Simplisia, Herbaria dan Koleksi


Drs. Katno
NIP. 140 168 949

Lamipran 3 : Gambar Tanaman Bugenvil (*Bougainvillea glabra*, Choisy)



Lampiran 4 : Surat keterangan keaslian hewan



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
(LPPT – UGM)
 Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan
 Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM
 Telp. (0274) 7497705, FAX (0274) 546868, e-mail: lppt_info@mail.ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
NO : 005/LP3HP/VIII/2005

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dra. Mulyati S, M.Si.
 NIP : 131453920
 Jabatan : Kabid LP3HP/ UPHP

Menerangkan bahwa :

Nama : Neneng Nur Indah dkk 3 orang
 No Mhs : -
 Instansi : Fak. MIPA Universitas Islam Indonesia YK.

Membeli Tikus sejumlah 100 ekor Galur Wistar dari LP3HP – LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Demikian surat keterangan ini di buat, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya. Dan atas kerjasama yang baik dalam hal ini di ucapkan terima kasih.

Yogyakarta, 23 Maret 2005

 Dra. Mulyati S, M.Si.
 NIP : 131453920

Lampiran 5 : Perhitungan Dosis

1. Dosis Infusa batang Bugenvil

Penggunaan secara empiris = 15 gram perhari per 50 KgBB

$$= 70/50 \times 15 \text{ gram} = 21 \text{ gram per 70 KgBB}$$

Untuk tikus 200 gram = $21 \text{ gram} \times 0,018 = 0,378 \text{ gram}$

Dosis yang digunakan = $0,378 \text{ g}/200 \text{ g tikus} = 1,89 \text{ g/kgBB}$

Dari dosis ini diturunkan menjadi 2 kali dan 4 kalinya, serta dinaikan 2 kalinya untuk membuat seri dosis yaitu $0,4725 \text{ g/KgBB}$; $0,945 \text{ g/KgBB}$; $1,89 \text{ g/KgBB}$; dan $3,78 \text{ g/KgBB}$.

Untuk itu dibuat stock dengan kadar $0,378 \text{ g}/2\text{ml} = 0,189 \text{ g/ml} = 18,9 \text{ g}/100 \text{ ml} = 18,9 \%$.

2. Dosis Hepatotoksin Parasetamol

Parasetamol dosis toksik = $2,5 \text{ g/KgBB} = 0,5 \text{ g}/200 \text{ gram tikus}$.

Untuk membuat larutan parasetamol dosis $0,5 \text{ g}/200 \text{ gBB}$, kadar $0,5 \text{ g/ml}$

Ditimbang dengan seksama 50 gram parasetamol kemudian disuspensikan dengan 1 gram CMC kemudian ditambah aquadest hingga 100 ml.

Didapatkan larutan parasetamol 50 % dalam larutan CMC 1%.

Lampiran 6 : Tabel Konversi Perhitungan Dosis Antar Hewan Uji

TABEL KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS ANTAR HEWAN UJI

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	2,4	4,5	14,2
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,16	0,32	1,0

(Laurence and Bacharach, 1964 *cit* Sutriyani, 2005)

Lampiran 7 : Perhitungan volum pemejanan infus

$$\text{Rumus} = \frac{\text{BB tikus (kg)} \times \text{dosis g/Kg}}{\text{Stock (g/ml)}}$$

I. Dosis 0,4725 g/kgBB

1. 134,5 gram =	$0,1345 \text{ kg} \times 0,4725 \text{ g/kg}$	= 0,34 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	
2. 111,2 gram =	$0,1112 \text{ kg} \times 0,4725 \text{ g/kg}$	= 0,28 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	
3. 135,6 gram =	$0,1356 \text{ kg} \times 0,4725 \text{ g/kg}$	= 0,34 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	
4. 116,9 gram =	$0,1169 \text{ kg} \times 0,4725 \text{ g/kg}$	= 0,29 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	
5. 106,7 gram =	$0,1067 \text{ kg} \times 0,4725 \text{ g/kg}$	= 0,27 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	
6. 132,2 gram =	$0,1322 \text{ kg} \times 0,4725 \text{ g/kg}$	= 0,23 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	

II. Dosis 0,945 g/kgBB

1. 122,8 gram =	$0,1228 \text{ kg} \times 0,945 \text{ g/kg}$	= 0,61 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	
2. 119,7 gram =	$0,1197 \text{ kg} \times 0,945 \text{ g/kg}$	= 0,59 ml
	<hr/> 0,189 g/ml	

$$3. 125,4 \text{ gram} = \frac{0,1254 \text{ kg} \times 0,945 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 0,63 \text{ ml}$$

$$4. 128,9 \text{ gram} = \frac{0,1289 \text{ kg} \times 0,945 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 0,64 \text{ ml}$$

$$5. 122,6 \text{ gram} = \frac{0,1226 \text{ kg} \times 0,945 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 0,61 \text{ ml}$$

$$6. 115,2 \text{ gram} = \frac{0,1152 \text{ kg} \times 0,945 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 0,58 \text{ ml}$$

III. Dosis 1,89 g/kgBB

$$1. 116,5 \text{ gram} = \frac{0,1165 \text{ kg} \times 1,89 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 1,17 \text{ ml}$$

$$2. 122,2 \text{ gram} = \frac{0,1222 \text{ kg} \times 1,89 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 1,22 \text{ ml}$$

$$3. 130,2 \text{ gram} = \frac{0,1302 \text{ kg} \times 1,89 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 1,30 \text{ ml}$$

$$4. 110,8 \text{ gram} = \frac{0,1108 \text{ kg} \times 1,89 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 1,11 \text{ ml}$$

$$5. 129,4 \text{ gram} = \frac{0,1294 \text{ kg} \times 1,89 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 1,29 \text{ ml}$$

$$6. 138,7 \text{ gram} = \frac{0,1387 \text{ kg} \times 1,89 \text{ g/kg}}{0,189 \text{ g/ml}} = 1,39 \text{ ml}$$

IV. Dosis 3,78 g/kgBB

1. 116,5 gram = $0,1165 \text{ kg} \times 3,78 \text{ g/kg}$ = 2,33 ml
 $\frac{0,189 \text{ g/ml}}$
2. 122,2 gram = $0,1222 \text{ kg} \times 3,78 \text{ g/kg}$ = 2,44 ml
 $\frac{0,189 \text{ g/ml}}$
3. 130,2 gram = $0,1302 \text{ kg} \times 3,78 \text{ g/kg}$ = 2,60 ml
 $\frac{0,189 \text{ g/ml}}$
4. 110,8 gram = $0,1108 \text{ kg} \times 3,78 \text{ g/kg}$ = 2,22 ml
 $\frac{0,189 \text{ g/ml}}$
5. 129,4 gram = $0,1294 \text{ kg} \times 3,78 \text{ g/kg}$ = 2,59 ml
 $\frac{0,189 \text{ g/ml}}$
6. 138,8 gram = $0,1388 \text{ kg} \times 3,78 \text{ g/kg}$ = 2,78 ml
 $\frac{0,189 \text{ g/ml}}$

Lampiran 8 : Perhitungan volum pemejanaan parasetamol hepatotoksin

$$\text{Rumus} = \frac{\text{BB tikus (kg)} \times \text{dosis g/Kg}}{\text{Stock (g/ml)}}$$

I. kelompok II (kontrol Parasetamol)

$$\begin{array}{lcl} 1. 117,2 \text{ gram} = & 0,1172 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,59 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \\ 2. 105,4 \text{ gram} = & 0,1054 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,53 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \\ 3. 135,3 \text{ gram} = & 0,1353 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,68 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \\ 4. 121,5 \text{ gram} = & 0,1215 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,61 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \\ 5. 116,1 \text{ gram} = & 0,1161 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,58 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \\ 6. 120,3 \text{ gram} = & 0,1203 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,60 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \end{array}$$

II. kelompok III (Dosis 0,4725 g/kgBB)

$$\begin{array}{lcl} 1. 135,5 \text{ gram} = & 0,1355 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,68 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \\ 2. 112,2 \text{ gram} = & 0,1122 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg} & = 0,56 \text{ ml} \\ & \frac{0,5 \text{ g/ml}}{0,5 \text{ g/ml}} & \end{array}$$

$$3. 134,6 \text{ gram} = \frac{0,1346 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,67 \text{ ml}$$

$$4. 115,5 \text{ gram} = \frac{0,1155 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,57 \text{ ml}$$

$$5. 104,7 \text{ gram} = \frac{0,1047 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,52 \text{ ml}$$

$$6. 134,2 \text{ gram} = \frac{0,1342 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,67 \text{ ml}$$

III. kelompok IV (Dosis 0,945 g/kgBB)

$$1. 120,5 \text{ gram} = \frac{0,1205 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,60 \text{ ml}$$

$$2. 115,6 \text{ gram} = \frac{0,1156 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,57 \text{ ml}$$

$$3. 123,5 \text{ gram} = \frac{0,1235 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,62 \text{ ml}$$

$$4. 128,7 \text{ gram} = \frac{0,1287 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,64 \text{ ml}$$

$$5. 122,3 \text{ gram} = \frac{0,1223 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,61 \text{ ml}$$

$$6. 113,2 \text{ gram} = \frac{0,1132 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,56 \text{ ml}$$

IV. kelompok V (Dosis 1,89 g/kgBB)

$$1. 117,5 \text{ gram} = \frac{0,1175 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,58 \text{ ml}$$

$$2. 118,2 \text{ gram} = \frac{0,1182 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,59 \text{ ml}$$

$$3. 121,2 \text{ gram} = \frac{0,1212 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,61 \text{ ml}$$

$$4. 113,8 \text{ gram} = \frac{0,1138 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,57 \text{ ml}$$

$$5. 124,5 \text{ gram} = \frac{0,1245 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,62 \text{ ml}$$

$$6. 131,7 \text{ gram} = \frac{0,1317 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,66 \text{ ml}$$

V. kelompok VI (Dosis 3,78 g/kgBB)

$$1. 120,5 \text{ gram} = \frac{0,1205 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,60 \text{ ml}$$

$$2. 123,2 \text{ gram} = \frac{0,1232 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,62 \text{ ml}$$

$$3. 130,2 \text{ gram} = \frac{0,1302 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,65 \text{ ml}$$

$$4. 108,8 \text{ gram} = \frac{0,1088 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,54 \text{ ml}$$

$$5. 119,4 \text{ gram} = \frac{0,1194 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,59 \text{ ml}$$

$$6. 123,8 \text{ gram} = \frac{0,1238 \text{ kg} \times 2,5 \text{ g/kg}}{0,5 \text{ g/ml}} = 0,62 \text{ ml}$$



Lampiran 9 : Surat Keterangan Melakukan pemeriksaan kadar aktifitas enzim dan pembacaan Histologi.

**BAGIAN PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA**

Alamat : Jl. Olahraga, Karangmalang, Sleman, Yogyakarta, 55281 Telp 563083, 7480307

Nomor : 064 /PK/ VII/05
Lamp : -
Hal : Keterangan Bebas Tanggungan Laboratorium

Kepada Yth.
Sdr. Erlin Dwi Safitri
Jurusan Farmasi Fakultas MIPA
Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta

Dengan hormat,

Dengan ini kami memberitahukan bahwa Saudara telah menyelesaikan segala tanggungan yang berkaitan dengan kegiatan penelitian Saudara di Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan, berdasarkan surat Permohonan Ijin Menggunakan Laboratorium Nomor 283/Dek/70/Bag.ASS/11/2005.

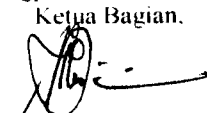
Demikian kiranya menjadikan periksa.
Atas perhatiannya diucapkan terimakasih.

Keterangan :

Pemeriksaan yang telah dilakukan meliputi :

- Kadar SGPT tikus
- Histopatologik organ hepar tikus

Yogyakarta, 20 Juli 2005
Ketua Bagian,


drh. Bambang Hariono, Ph.D
NIP. 130 530 570

Lampiran 10 : Data Aktifitas enzim GPT-serum sebelum perlakuan

Data Aktifitas enzim GPT-serum

Sebelum perlakuan (hari ke 0)

Kelompok	I	II	III	IV	V	VI
SGPT (Unit/Liter)	13,23	13,23	13,23	13,23	19,85	13,23
	6,65	13,23	12,65	16,47	13,23	13,23
	13,23	6,65	13,23	13,23	13,23	13,23
	6,65	13,23	13,23	13,23	13,23	19,85
	13,23	6,65	13,23	13,23	13,23	6,65
	13,23	13,23	13,23	6,65	13,23	19,85
Mean±SD	11,045±3,4	11,04±3,4	13,13±0,24	12,67±3,2	14,33±2,7	14,34±4,9

Keterangan :

Kelompok I : Kontrol Aquadest

Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol

Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB

Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB

Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB

Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB

Lampiran 11 : Data Aktifitas enzim GPT-serum setelah perlakuan dosis uji 6 hari berturut-turut

**Data Aktifitas enzim GPT-serum
setelah perlakuan dosis uji 6 hari berturut-turut**

Kelompok	I	II	III	IV	V	VI
SGPT (Unit/Liter)	13,23	13,23	13,23	16,65	16,65	16,65
	6,65	13,23	13,23	13,23	13,23	13,23
	6,65	6,65	13,23	13,23	13,23	16,65
	6,65	13,23	16,65	16,65	13,23	13,23
	6,65	6,65	16,65	16,65	13,23	13,23
	6,65	13,23	13,23	1,65	13,23	13,23
Mean±SD	7,75±2,7	11,04±3,4	14,37±1,8	15,51±1,8	13,8±1,4	14,37±1,8

Keterangan :

Kelompok I : Kontrol Aquadest

Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol

Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB

Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB

Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB

Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB

Lampiran 12 : Data Aktifitas enzim GPT-serum 48 jam setelah pemberian
hepatotoksin parasetamol

**Data Aktifitas enzim GPT-serum
48 jam setelah pemberian hepatotoksin parasetamol**

Kelompok	I	II	III	IV	V	VI
SGPT (Unit/Liter)	13,23	79,69	70,65	46,32	44,32	26,23
	6,65	92,94	72,94	46,32	40,71	20,85
	6,65	89,71	70,85	46,32	40,69	29,65
	6,65	86,05	70,65	43,04	39,85	29,65
	13,23	89,71	69,05	44,32	33,04	29,65
	6,65	79,42	75,42	44,32	39,85	19,85
Mean±SD	8,84±3,4	86,25±5,6	71,59±2,3	45,11±1,4	39,74±3,7	25,98±4,6

Keterangan :

Kelompok I : Kontrol Aquadest

Kelompok II : Kontrol Hepatotoksin parasetamol

Kelompok III : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,4725 g/ kgBB

Kelompok IV : Praperlakuan sediaan uji dosis 0,945 g/ kgBB

Kelompok V : Praperlakuan sediaan uji dosis 1,89 g/ kgBB

Kelompok VI : Praperlakuan sediaan uji dosis 3,78 g/ kgBB

Lampiran 14 : Perhitungan Daya Hepatoprotektif

Rumus :

$$\text{Daya hepatoprotektif} = \frac{\text{AGPT Pst} - \text{AGPTD}}{\text{AGPT Pst} - \text{AGPTKt}} \times 100\%$$

Keterangan : AGPT Pst = Purata Aktifitas GPT-serum Kontrol Parasetamol.
 AGPT D = Purata Aktifitas GPT-serum masing-masing dosis uji setelah perlakuan parasetamol dosis toksik.
 AGPT Kt = Purata Aktifitas GPT-serum kontrol Aquadest.

Kelompok III dosis 0,4725 g/kgBB

$$\text{Daya hepatoprotektif} = \frac{86,25-71,59}{86,25-8,84} \times 100\% = 18,95 \%$$

Kelompok IV dosis 0,945 g/kgBB

$$\text{Daya hepatoprotektif} = \frac{86,25-45,11}{86,25-8,84} \times 100\% = 53,14 \%$$

Kelompok V dosis 1,89 g/kgBB

$$\text{Daya hepatoprotektif} = \frac{86,25-39,77}{86,25-8,84} \times 100\% = 60,08 \%$$

Kelompok IV dosis 3,78 g/kgBB

$$\text{Daya hepatoprotektif} = \frac{86,25-45,11}{86,25-8,84} \times 100\% = 77,68 \%$$

Lampiran 15 : Perhitungan Prosentase Perbedaan dosis uji terhadap kontrol Parasetamol dan Kontrol Aquadest.

Rumus :

Perbandingan dengan kontrol Aquades :

$$\% \text{ beda} = \frac{\text{Purata kelompok dosis} - \text{Purata kelompok Kontrol Aquades}}{\text{Purata kelompok Kontrol Aquadest}} \times 100 \%$$

Dengan Kelompok II

$$\% \text{ Beda} = \frac{86,25 - 8,84}{8,84} \times 100\% = (+) 857,68 \%$$

Dengan Kelompok III

$$\% \text{ Beda} = \frac{71,59 - 8,84}{8,84} \times 100\% = (+) 709,84 \%$$

Dengan Kelompok IV

$$\% \text{ Beda} = \frac{45,11 - 8,84}{8,84} \times 100\% = (+) 410,29 \%$$

Dengan Kelompok V

$$\% \text{ Beda} = \frac{39,74 - 8,84}{8,84} \times 100\% = (+) 349,55 \%$$

Dengan Kelompok VI

$$\% \text{ Beda} = \frac{25,98 - 8,84}{8,84} \times 100\% = (+) 193,89 \%$$

Rumus :

Perbandingan dengan kontrol Parasetamol

$$\% \text{ beda} = \frac{\text{Purata kelompok dosis} - \text{Purata klpk kontrol Parasetamol}}{\text{Purata kelompok Kontrol Parasetamol}} \times 100 \%$$

Dengan Kelompok I

$$\% \text{ Beda} = \frac{8,84 - 86,25}{86,25} \times 100\% = (-) 89,75 \%$$

Dengan Kelompok III

$$\% \text{ Beda} = \frac{71,59 - 86,25}{86,25} \times 100\% = (-) 16,99 \%$$

Dengan Kelompok IV

$$\% \text{ Beda} = \frac{45,11 - 86,25}{86,25} \times 100\% = (-) 47,69 \%$$

Dengan Kelompok V

$$\% \text{ Beda} = \frac{39,74 - 86,25}{86,25} \times 100\% = (-) 53,92 \%$$

Dengan Kelompok VI

$$\% \text{ Beda} = \frac{25,98 - 86,25}{86,25} \times 100\% = (-) 69,88 \%$$

Lampiran 16 : Output Analisis Statistik

Test kolmogorof Smirnov

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		KELOMPOK	PRLAKUAN
N		36	36
Normal Parameters(a,b)	Mean	3.5000	46.2533
	Std. Deviation	1.73205	26.72687
Most Extreme Differences	Absolute	.140	.166
	Positive	.140	.166
	Negative	-.140	-.136
Kolmogorov-Smirnov Z		.841	.994
Asymp. Sig. (2-tailed)		.480	.276

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Out put One way Anova

Descriptives

SGPT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	% Confidence Interval		Minimum	Maximum
					Mean	Mean		
kontrol Aquadeg	6	8.8433	3.39790	.38719	5.2775	12.4092	6.65	13.23
Kontrol Parasetamol	6	6.2533	5.62889	.29798	80.3462	92.1605	79.42	92.94
0.4725	6	1.5933	2.24756	.91756	69.2347	73.9520	69.05	75.42
0.945	6	5.1067	1.40892	.57519	43.6281	46.5852	43.04	46.32
1.89	6	9.7433	3.68060	.50260	35.8808	43.6059	33.04	44.32
3.78	6	5.9800	4.56865	.86515	21.1855	30.7745	19.85	29.65
Total	36	6.2533	26.72687	.45448	37.2103	55.2964	6.65	92.94

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.640	5	30	.043

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24577.960	5	4915.592	348.269	.000
Within Groups	423.430	30	14.114		
Total	25001.390	35			

Robust Tests of Equality of Means

SGPT

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	321.548	5	13.414	.000

a. Asymptotically F distributed.

Uji Tuckey

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SGPT
Tukey HSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol Aquadest	Kontrol Parasetamol	-77.4100*	2.16905	.000	-84.0074	-70.8126
	0.4725	-62.7500*	2.16905	.000	-69.3474	-56.1526
	0.945	-36.2633*	2.16905	.000	-42.8607	-29.6660
	1.89	-30.9000*	2.16905	.000	-37.4974	-24.3026
	3.78	-17.1367*	2.16905	.000	-23.7340	-10.5393
Kontrol Parasetamol	kontrol Aquadest	77.4100*	2.16905	.000	70.8126	84.0074
	0.4725	14.6600*	2.16905	.000	8.0626	21.2574
	0.945	41.1467*	2.16905	.000	34.5493	47.7440
	1.89	46.5100*	2.16905	.000	39.9126	53.1074
	3.78	60.2733*	2.16905	.000	53.6760	66.8707
0.4725	kontrol Aquadest	62.7500*	2.16905	.000	56.1526	69.3474
	Kontrol Parasetamol	-14.6600*	2.16905	.000	-21.2574	-8.0626
	0.945	26.4867*	2.16905	.000	19.8893	33.0840
	1.89	31.8500*	2.16905	.000	25.2526	38.4474
0.945	3.78	45.6133*	2.16905	.000	39.0160	52.2107
	kontrol Aquadest	36.2633*	2.16905	.000	29.6660	42.8607
	Kontrol Parasetamol	-41.1467*	2.16905	.000	-47.7440	-34.5493
	0.4725	-26.4867*	2.16905	.000	-33.0840	-19.8893
1.89	1.89	5.3633	2.16905	.165	-1.2340	11.9607
	3.78	19.1267*	2.16905	.000	12.5293	25.7240
3.78	kontrol Aquadest	30.9000*	2.16905	.000	24.3026	37.4974
	Kontrol Parasetamol	-46.5100*	2.16905	.000	-53.1074	-39.9126
	0.4725	-31.8500*	2.16905	.000	-38.4474	-25.2526
	0.945	-5.3633	2.16905	.165	-11.9607	1.2340
	3.78	13.7633*	2.16905	.000	7.1660	20.3607
	kontrol Aquadest	17.1367*	2.16905	.000	10.5393	23.7340
	Kontrol Parasetamol	-60.2733*	2.16905	.000	-66.8707	-53.6760
	0.4725	-45.6133*	2.16905	.000	-52.2107	-39.0160
	0.945	-19.1267*	2.16905	.000	-25.7240	-12.5293
	1.89	-13.7633*	2.16905	.000	-20.3607	-7.1660

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

Homogeneous Subsets

SGPT

Tukey HSD ^a

KELOMPOK	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
kontrol Aquadest	6	8.8433				
3.78	6		25.9800			
1.89	6			39.7433		
0.945	6			45.1067		
0.4725	6				71.5933	
Kontrol Parasetamol	6					86.2533
Sig.		1.000	1.000	.165	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



Lampiran 17 :Isi Reagen Pemeriksaan SGPT

Pengukuran SGPT *Method Modified IFCC (U.V. Kinetic)*

Reagensia :	R1	Larutan TRIS ph 7,5	100 mmol/ L
		LDH (Laktat Dehidrogenase)	> 1200µ/ L
		L-Alanin	500 mmol/ L
	R2	2-oksoglutarat	15 mmol/ L
		NADH	0,18 mmol/ L
Panjang Gelombang	:	340 nm	
Operating Time	:	1 menit	
Waktu pengukuran	:	Penurunan Aktifitas selama 1 menit.	
Faktor perkalian	:	1746	



Lampiran 18 : Cara kerja pemeriksaan enzim GPT-serum

ALAT (GPT) FS* (IFCC mod.)

with / without pyridoxal-5-phosphate

Diagnostic reagent for quantitative in vitro determination of ALAT (GPT) in serum or plasma on photometric systems**Order Information**

Cat.-no.	Kit size				
10 270 021	R1	5 x	20 ml + R2	1 x	25 ml
10 270 022	R1	5 x	80 ml + R2	1 x	100 ml
10 270 023	R1	1 x	800 ml + R2	1 x	200 ml
10 270 704	R1	8 x	50 ml + R2	8 x	12.5 ml
10 270 717	R1	5 x	80 ml + R2	5 x	20 ml
1 2701 99 10 917	R1	8 x	60 ml + R2	8 x	15 ml
For determination with pyridoxal-5-phosphate activation					
additionally required:					
10 501 030		6 x	3 ml		

Summary [1,2]

Alanine Aminotransferase (ALAT/ALT), formerly called Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) and Aspartate Aminotransferase (ASAT/AST), formerly called Glutamic Oxalacetic Transaminase (GOT) are the most important representatives of a group of enzymes, the aminotransferases or transaminases, which catalyze the conversion of α -keto acids into amino acids by transfer of amino groups.

As a liver specific enzyme ALAT is only significantly elevated in hepatobiliary diseases. Increased ASAT levels, however, can occur in connection with damages of heart or skeletal muscle as well as of liver parenchyma. Parallel measurement of ALAT and ASAT is therefore applied to distinguish liver from heart or skeletal muscle diseases. The ASAT/ALAT ratio is used for differential diagnosis in liver diseases. While ratios < 1 indicate mild liver damage, ratios > 1 are associated with severe, often chronic liver diseases.

Method

Optimized UV-test according to IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

Principle

L-Alanine + 2-Oxoglutarate $\xrightarrow{\text{ALAT}}$ L-Glutamate + Pyruvate

Pyruvate + NADH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ D-Lactate + NAD⁺

Addition of pyridoxal-5-phosphate (P-5-P) stabilizes the transaminases and avoids falsely low values in samples containing insufficient endogenous P-5-P, e.g. from patients with myocardial infarction, liver disease and intensive care patients [1].

Reagents**Components and Concentrations**

N.B: Concentrations are those in the final test mixture.

R1:	TRIS	pH 7.15	100 mmol/l
	L-Alanine		500 mmol/l
	LDH (lactate dehydrogenase)		≥ 1700 U/l
R2:	2-Oxoglutarate		15 mmol/l
	NADH		0.18 mmol/l

Pyridoxal-5-Phosphate FS

Good's buffer	pH 9.6	0.7 mmol/l
Pyridoxal-5-phosphate		0.09 mmol/l

Storage Instructions and Reagent Stability

The reagents are stable up to the end of the indicated month of expiry, if stored at 2 - 8 °C, protected from light and contamination is avoided. Do not freeze the reagents!

Warnings and Precautions

- The reagents contain sodium azide (0.95 g/l) as preservative. Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes.
- Take the necessary precautions for the use of laboratory reagents.

Waste Management

Please refer to local legal requirements.

Reagent Preparation**Substrate Start**

The reagents are ready-to-use.

For the determination with pyridoxal-5-phosphate (P-5-P)

mix 1 part of P-5-P with 100 parts of reagent 1,

e.g. 100 μ l P-5-P + 10 ml R1

Stability after mixing: 6 days at 2 - 8 °C
24 hours at 15 - 25 °C

Sample Start

(without pyridoxal-5-phosphate)

Mix 4 parts of R1 + 1 part of R2

(e.g. 20 ml R1 + 5 ml R2) = monoreagent

Stability: 4 weeks at 2 - 8 °C

5 days at 15 - 25 °C

The monoreagent must be protected from light!

Materials required but not provided

DiaSys Pyridoxal-5-Phosphate FS in case of determination

with P-5-P activation (Cat.No. 10 501 030)

NaCl solution 9 g/l.

General laboratory equipment

Specimen

Serum, heparin plasma or EDTA plasma.

Loss of activity within 3 days

at 2 - 8 °C < 10 %

at 15 - 25 °C < 17 %

Stability at -20 °C at least 3 months

Discard contaminated specimens.

Assay Procedure

Application sheets for automated systems are available on request.

Wavelength 340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm

Optical path 1 cm

Temperature 37 °C

Measurement Against air

Substrate Start

Sample	100 μ l
Reagent 1	1000 μ l
Mix, incubate for 5 min., then add:	
Reagent 2	250 μ l
Mix, read absorbance after 1 min. and start stopwatch.	
Read absorbance again 1, 2 and 3 min thereafter.	

Sample Start

Don't use sample start with pyridoxal-5-phosphate!

Sample	100 μ l
Monoreagent	1000 μ l
Mix, read absorbance after 1 min. and start stopwatch.	
Read absorbance again 1, 2 and 3 min thereafter.	



Calculation

From absorbance readings calculate $\Delta A/\text{min}$ and multiply by the corresponding factor from table below.

$$\Delta A/\text{min} \times \text{factor} = \text{ALAT activity [U/l]}$$

	Substrate Start	Sample Start
340 nm	2145	1745
334 nm	2184	1780
365 nm	3271	3235

Controls

For internal quality control DiaSys TruLab N and P controls should be assayed with each batch of samples.

	Cat. No.	Kit size
TruLab N	5.9000.99.10.062	20 x 5 ml
	5.9000.99.10.061	6 x 5 ml
TruLab P	5.9050.99.10.062	20 x 5 ml
	5.9050.99.10.061	6 x 5 ml

Performance Characteristics

Measuring range

The test has been developed to determine ALAT activities which correspond to a maximal $\Delta A/\text{min}$ of 0.16 at 340 and 334 nm or 0.08 at 365 nm.

If such value is exceeded the sample should be diluted 1 + 9 with NaCl solution (9 g/l) and results multiplied by 10.

Specificity / Interferences

No interference was observed by ascorbic acid up to 30 mg/dl, bilirubin up to 40 mg/dl, hemoglobin up to 400 mg/dl and lipemia up to 2,000 mg/dl triglycerides.

Sensitivity / Limit of Detection

The lower limit of detection is 4 U/l.

Precision

Without P-5-P

Intra-assay precision n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
Sample 1	22.2	1.38	6.22
Sample 2	44.8	1.17	2.62
Sample 3	101	1.02	1.00

Inter-assay precision n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
Sample 1	22.8	0.70	3.08
Sample 2	42.6	0.68	1.60
Sample 3	99.3	0.92	0.92

With P-5-P

Intra-assay precision n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
Sample 1	33.8	1.25	3.71
Sample 2	72.0	2.01	2.83
Sample 3	129	2.77	2.16

Inter-assay precision n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
Sample 1	33.3	0.99	2.96
Sample 2	72.1	1.06	1.48
Sample 3	133	1.76	1.32

Method Comparison

With P-5-P

A comparison between DiaSys ALAT (GPT) FS with P-5-P (y) and the IFCC reference reagent (x) using 51 samples gave following results:

$$y = 1.000 x + 0.200 \text{ U/l}; r = 0.999.$$

A comparison between DiaSys ALAT (GPT) FS with P-5-P (y) and a commercially available test (x) using 51 samples gave following results:

$$y = 0.970 x + 0.531 \text{ U/l}; r = 1.000.$$

Without P-5-P

A comparison between DiaSys ALAT (GPT) FS without P-5-P (y) and a commercially available test (x) using 51 samples gave following results:

$$y = 0.971 x + 0.047 \text{ U/l}; r = 1.000.$$

Reference Range

With pyridoxal-5-phosphate activation

Women [3]	< 34 U/l
Men [3]	< 45 U/l
Children [1]	1 - 30 days < 25 U/l
	2 - 12 months < 35 U/l
	1 - 3 years < 30 U/l
	4 - 6 years < 25 U/l
	7 - 9 years < 25 U/l
	10 - 18 years < 30 U/l

Without pyridoxal-5-phosphate activation

Women	< 31 U/l
Men	< 41 U/l

Literature

1. Thomas L. Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate aminotransferase (AST). In: Thomas L., editor. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998, p. 55-65.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999, p. 617-721.
3. Schumann G, Bonora R, Cerotti F, Ferlat G et al. IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 5: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alanine aminotransferase. Clin Chem Lab Med 2002;40:718-24.

Manufacturer

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 · 65556 Niebheim · Germany