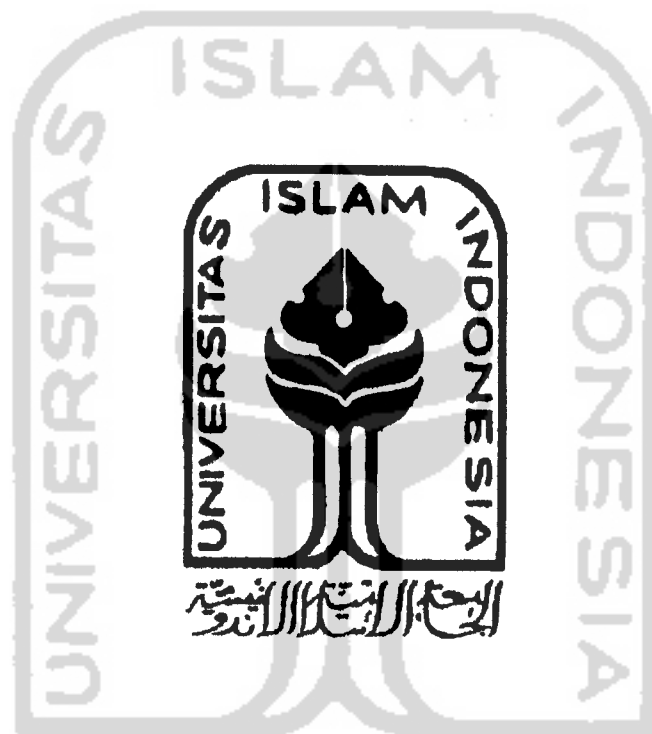


**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF INFUS HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica*, (L.) Urb.) PADA TIKUS PUTIH
GALUR WISTAR YANG TERINDUKSI PARASETAMOL**

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

**Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia**



Oleh :

ISLAMMIYAH NEDA RAHAYU

01 613 222

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

JOGJAKARTA

2005

SKRIPSI

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF INFUS HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica*, (L.) Urb.) PADA TIKUS PUTIH
GALUR WISTAR YANG TERINDUKSI PARASETAMOL**



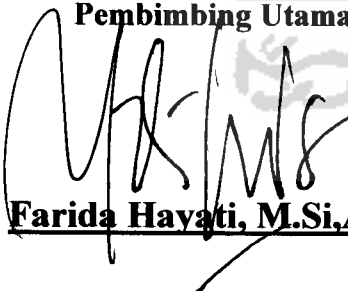
Yang diajukan oleh :

ISLAMMIYAH NEDA RAHAYU

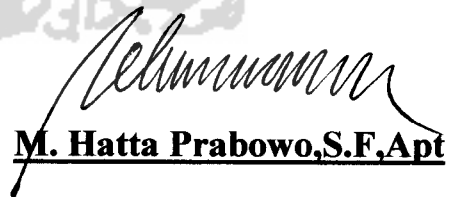
01 613 222

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama


Farida Hayati, M.Si,Apt

Pembimbing Pendamping


M. Hatta Prabowo,S.F,Apt

SKRIPSI

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF INFUS HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica*, (L.) Urb.) PADA TIKUS PUTIH
GALUR WISTAR YANG TERINDUKSI PARASETAMOL**

Oleh :

**ISLAMMIYAH NEDA RAHAYU
01 613 222**

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

Tanggal: 19 Agustus 2005

Ketua Penguji,


Farida Hayati, M.Si,Apt

Anggota penguji,


M. Hatta Prabowo, S.F,Apt

Anggota penguji,

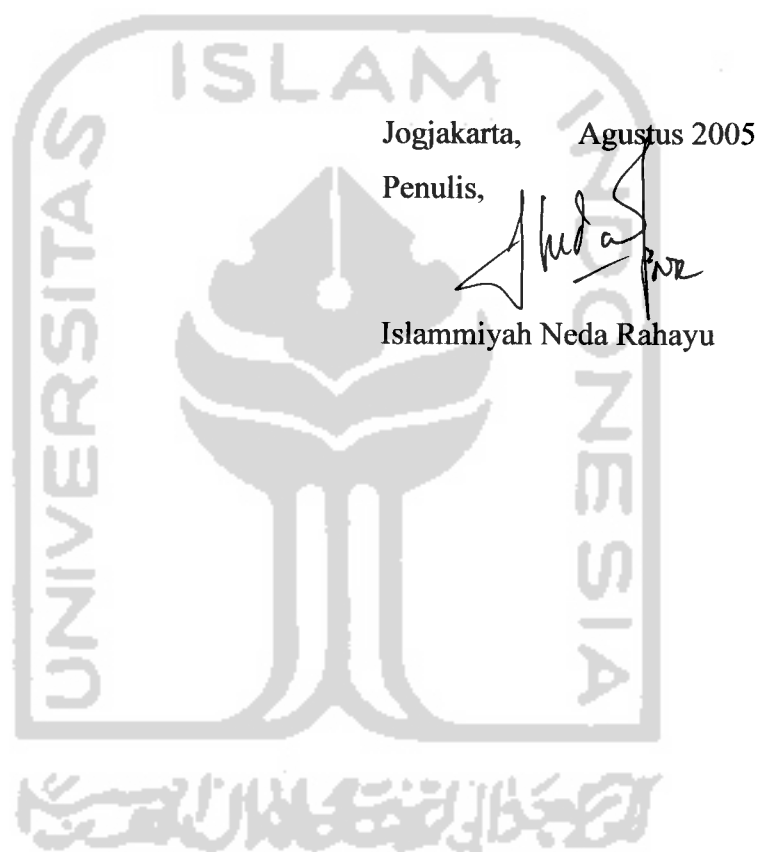

drh. Retno Murwanti, M.P.

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 di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



PERSEMBAHAN

“... Sungguh bersama kesukaran pasti ada kemudahan. Dan bersama kesukaran pasti ada kemudahan. Karena itu bila selesai suatu tugas, mulailah tugas yang lain dengan sungguh-sungguh. Hanya kepada Tuhanmu hendaknya kamu berharap...”

(QS. Al-Insyirah: 1-3)

“Dan orang-orang yang mendapat petunjuk, Allah menambah petunjuk kepada mereka dan memberikan kepada mereka (balasan) kelakwaannya”.

(QS. Muhammad: 17).

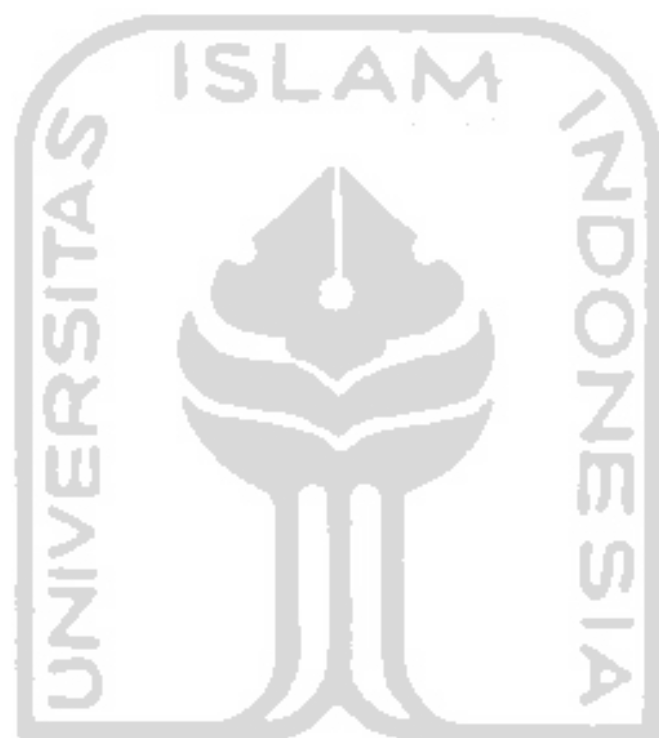
Dari Abu Durratun r.a. Bahwasanya Rasulullah S.A.W bersabda: “Barang siapa menempuh jalan untuk menuntut ilmu, maka Allah memudahkan bagi orang itu karena ilmu tersebut jalan menuju surga

(I.B. Muslim)

“Tujuan adalah sesuatu yang ditentukan di awal, diwujudkan di akhir, lempat memulai pemikiran dan akhir dari sebuah perjalanan”

(Ibnu Qoyyim Al-Jauziyyah)

Sesungguhnya hari kemaren adalah impian yang lelah berakhir dan berlalu. Talu hari esok adalah cila-cila yang indah, sedangkan hari ini adalah kenyaalaan yang harus dihadapi.



جامعة الإسلام في إندونيسيا

Kupersembahkan

Sujudku ya Allah...

*Syukurku sepanjang waktu...
Setiap nafasku seluruh hidupku
Semoga diberkahimu ya... Allah
Sang Rabbul Izzati*

Untuk Ibu

Ibunda tercinta "H. M. Mardiana".

*Yang selalu membahagiakan yang tiada terbalaskan,
setiap arahan dan nasehat dalam do'a dan sujudmu.*

*Yang telah mendidiknya dengan keteguhan Abu Bakar, dengan kekuatan Umar,
dengan keluasan ilmu Ali, dengan besarnya rasa malu yang dimiliki oleh
Ustman, dengan keberanian Khalid bin Walid, dengan kedermawanan
Abdurraliman bin A'uf, dengan kesetiaan Khadijah.*

Do'a dan restumu ku damba selalu.

Ayahanda tercinta "H. M. Rahmadi"

*Untuk setiap tetes keringat yang telah keluar, peluk kasih sayangmu, semangat,
dan nasihatnya selalu, malam-malam panjang dalam rangkaian do'a selalu
teruntuk anakmu*

adikku tersayang....

"Dewi dan Ade"

*Love to you akan support, semangat, dorongan dan do'a.
Chayo!!! kalian pasti bisa meraih impian dan cita.*

*Kekasih sejatiku kelak..
dunia dan akhirat.*

*Terimakasih teruntuk "my comp" disetiap ketikan kata dan kalimat.
Saksi mata disetiap langkah dan perjuanganku... AB 4382 PZ.*



UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

Adalah kesyukuran yang sangat besar ketika akhirnya Ayu bisa menyelesaikan amanah ini. Jazakumullah khairan katsira kepada semua yang telah memberikan support, taujih, semangat, curahan jiwa, do'a, ukhuwah dan semua pembangkit semangat penggugah jiwa akan selesainya harap dan amanah ini.

My best friends

"Erlin Dwi Safitri n Neneng Nur Indah"

Najichah, Dwi (shinichi kudo), Dewi (dip), Rani
Luv' u all 'tuk indahnya dalam kebersamaan.

Jalan dakwahku...

Tugas yang amat mulia, warisan para nabi dan rasul-Nya.

Murobbiku...

"Mb' Indah, Mb' Erni, Mb' Erika"

Yang telah membawaku menikmati indahnya islam dan manisnya ukhuwah dalam keluarga seindah pelangi.

Saudaraku...

"Talm (gemout), Ike (conding), Laila, ... (chiabi)"
jadikan kebersamaan ini tetap terjaga... ..ungan Illahi.

Savanna es, Butyo, ... Thaliban es
Mb' Met, Mb' ... Luni, Mb' Juni,
Mb' ... (smpinya ☺), Diah,
... Ida, Fitri, Cecep
... Reni, Virgin,
... Septin, Melky.

Temen-temen farmasi '01

Eka K, U., Uchi, Rima, K' Icha, Eka N., Bim-Bim, Tari, Aya, santi, Ninit,
Lucky, Niken, Loli, Amir, Mb' Emy, n semuanya yang tidak dapat disebutkan.

Temen-temen KK' Angkatan 30

Nana, Nanda, Rini, Nisa, Dene, Hafid, ... Ihsa, Sigit, Dekky, Siddiq, defi

Almamaterku... Universitas Islam Indonesia.



KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, dan syukur Alhamdulillah, atas segala rahmat dan anugerah-Nya yang telah memberi ilmu, kekuatan dan kesempatan sehingga pada akhirnya Penulis dapat menyelesaikan Skripsi II “Uji Efek Hepatoprotektif Infus Herba Pegagan (*Centella asiatica*, (L.) Urb) Pada Tikus Putih Galur Wistar Yang Terinduksi Parasetamol”, sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana (S1) di Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

Dalam pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Farida Hayati, M.Si. Apt, selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan ide-ide dasar, bimbingan, saran, dan masukan hingga selesainya skripsi ini, dan selaku Ketua Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
2. M. Hatta Prabowo, S.F. Apt., selaku Pembimbing pendamping yang telah membimbing dan mengarahkan penulis pada penyusunan skripsi ini.
3. drh. Retno Murwanti M. P. selaku penguji.

4. Jaka Nugraha, M.Si, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.
5. Kepala Bagian LPPT (Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu) yang telah memberikan izin untuk menggunakan fasilitas laboratorium.
5. Pimpinan dan karyawan di Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu yang telah mengizinkan Penulis memperoleh simplisia dan melakukan determinasi tanaman.
6. Prof. Dr. Drh. Soesanto Mangkoewidjojo, M.Sc., dan drh Henry TS, M.P., yang telah membantu dalam pembuatan preparat dan pembacaan hispatologi.
7. drh. Christin Marganingsih Santosa, M.Si. yang telah mengizinkan Penulis melakukan penelitian di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada.
8. Segenap Laboran yang ada di Laboratorium Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia Jogjakarta (Pak Soemarna, Pak Riyanto, Mas Hartanto, Pak Eko, Mbak Diah, Mbak Nora).
9. Kedua orang tua, adik-adikku dan keluarga tercinta atas segala pengorbanan, dukungan dan do'anya.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

Penulis sadar bahwa Skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, koreksi dan saran yang membangun diharapkan pula dari semua pihak.

Akhirnya semoga Skripsi ini dapat dimanfaatkan dan dipergunakan oleh berbagai pihak yang berkepentingan serta dapat memberikan sumbangan bagi kemajuan keilmuan Farmasi. Amien.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Jogjakarta, Agustus 2005


Islammiyah Neda Rahayu

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
INTISARI	xvi
ABSTRAKSI	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
BAB II STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka.....	6
1. Hati.....	6
a. Fisiologi hati	6
b. Hapatotoksin.....	12
c. Tolak ukur kehepatotoksikan	13
2. Parasetamol.....	18
a. Aspek hayati parasetamol	18
b. Toksikologi parasetamol	19
3. Herba pegagan (<i>Centella asiatica</i> , L)	21
a. Deskripsi tanaman	21
b. Klasifikasi	22
c. Nama umum	22

	d. Nama daerah	22
	e. Nama asing.....	23
	f. Nama kimia	23
	e. Khasiat	23
	4. Infusa	24
	B. Landasan Teori.....	24
	C. Hipotesis.....	25
BAB III	METODE PENELITIAN	
	A. Bahan dan Alat.....	26
	B. Cara Penelitian.....	27
	1. Koleksi dan Determinasi Tanaman	27
	2. Penentuan Dosis Infus Herba Pegagan.....	27
	3. Pembuatan Infusa.....	27
	4. Pembuatan Larutan CMC 1%.....	28
	5. Penentuan dosis parasetamol	28
	6. Pembuatan Suspensi Paracetamol.....	28
	7. Penetapan Tolok Ukur Kerusakan Hati.....	28
	8. Pengambilan Serum.....	29
	9. Analisis Aktifitas SGPT.....	30
	10. Pemeriksaan Histologi Sel- Sel hati.....	31
	C. Analisis Dan Evaluasi Hasil.....	31
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
	A. Hasil Determinasi Tanaman	32
	B. Pembuatan Infus Herba Pegagan	33
	C. Penetapan Aktivitas Enzim GPT –serum	33
	D. Hasil Aktivitas GPT-serum	36
	E. Hasil Pemeriksaan Histologi Sel Hati Tikus	45
	F. Evaluasi Efek Hepatoprotektif	51
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	
	A. Kesimpulan	52
	B. Saran	52

DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	58



DAFTAR TABEL

TABEL	HALAMAN
I . Analisis aktivitas GPT-serum	29
II. Aktivitas GPT-serum akibat pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB	34
III. Data aktivitas GPT-serum tikus 8 jam sebelum pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB.....	36
IV. Data aktivitas GPT-serum tikus putih terangsang parasetamol setelah praperlakuan infus herba pegagan	37
V. Pengaruh perlakuan infus herba pegagan sekali sehari selama 6 hari terhadap kehepatotoksikan parasetamol dosis 2,5 g/kg BB, yang diukur pada saat kehepatotoksikan mencapai maksimal (48 jam setelah pemberian parasetamol) pada tikus betina	39
VI. Rangkuman hasil analisis GPT-serum tikus putih setelah perlakuan infus herba pegagan terinduksi parasetamol dengan Uji	40
VII. Daya hepatoprotektif infus herba pegagan pada tikus terangsang parasetamol	42
VIII. Hasil pengamatan mikroskopis sel hati tikus yang diberi praperlakuan infus herba pegagan	46

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	HALAMAN
1. Tipe nekrosis	11
2. Struktur kimia perubahan piruvat menjadi laktat	17
3. Sistem biotransformasi parasetamol di dalam hati	20
4. Diagram aktivitas GPT-serum setelah pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB pada tikus putih pada jam ke-24, 48 dan 72	35
5. Diagram aktivitas GPT-serum tikus 8 jam sebelum pemberian hepatotoksin	36
6. Diagram aktivitas GPT-serum tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan	38
7. Fotomikroskopi sel hati tikus yang diberi aquadest sebagai kontrol aquades	47
8. Fotomikroskopi sel hati tikus setelah pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB	48
9. Fotomikroskopi sel hati tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB	49
10. Fotomikroskopi sel hati tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB	49
11. Fotomikroskopi sel hati tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB	50
12. Fotomikroskopi sel hati tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB	50

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	HALAMAN
1. Foto tanaman herba pegagan (<i>Centella asiatica</i> , (L.) Urb).....	58
2. Surat keterangan determinasi tanaman herba pegagan (<i>Centella asiatica</i> , (L.) Urb)	59
3. Surat keterangan selesai melakukan determinasi	60
4. Surat keterangan keaslian hewan uji tikus putih galur Wistar	61
5. Perhitungan dosis dan stok infus herba pegagan	62
6. Analisis aktivitas GPT-serum berdasarkan metode IFCC	63
7. Surat keterangan pembacaan histologi sel-sel hati.....	64
8. Hasil analisis statistik praperlakuan infus herba pegagan pada tikus putih 8 jam sebelum pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB	65
9. Hasil analisis statistik praperlakuan infus herba pegagan pada tikus putih yang terinduksi parasetamol	68
10. Rangkuman hasil analisis skoring dengan uji tukey	71
11. Perhitungan daya hepatoproteltif infus herba pegagan dari tabel .	72
12. Perhitungan %beda tiap kelompok terhadap kelompok I dan II dari tabel IV	73
13. Tabel Konversi Perhitungan dosis antar hewan uji	75
14. Analisis aktivitas GPT-serum menurut Metode Internasional Federation of Clinical Chemistry (IFCC)	76

**UJI EFEK HEPATOPROTEKTIF INFUS HERBA PEGAGAN
(*Centella asiatica*, (L.) Urb) PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR
YANG TERINDUKSI PARASETAMOL**

INTISARI

Parasetamol merupakan obat analgetik-antipiretik, namun pemakaian parasetamol dalam dosis berlebih dapat menyebabkan kerusakan hati. Herba pegagan (*Centella asiatica*, L) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat dapat melindungi hati dari berbagai kerusakan akibat obat. Penelitian tentang efek hepatoprotektif infus herba pegagan pada tikus putih terinduksi parasetamol telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengungkapkan sejauh mana herba pegagan dapat melindungi hati dari kerusakan akibat parasetamol, dan mendapatkan kisaran data dosis efek hepatoprotektif herba pegagan dalam bentuk infusa, melalui pemeriksaan enzim SGPT dan pemeriksaan hispatologi sel hati. Penelitian ini mengikuti rancangan acak lengkap pola searah menggunakan hewan uji tikus putih galur wistar, berat 200 g \pm 10 %, umur 5-8 minggu. Cara percobaan: 36 ekor tikus dibagi dalam 6 kelompok, masing-masing kelompok 6 ekor tikus. Untuk perlakuan, Kelompok I, diberi kontrol aquades. Kelompok II, diberi suspensi parasetamol dosis 2,5 g/ kg BB. Kelompok III-VI, diberi infus herba pegagan berturut-turut dosis 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/ kg BB satu kali sehari selama 1 minggu dan 8 jam setelah pemberian pada hari ke-7 diberi suspensi parasetamol dosis 2,5 g/ kg BB. Pengambilan darah dilakukan melalui *sinus orbitalis* saat sebelum perlakuan, 8 jam setelah perlakuan hari ke-7 dan 24 jam setelah pemberian parasetamol. Data SGPT diuji dengan uji statistik ANAVA, apabila terdapat perbedaan yang bermakna dilanjutkan dengan uji Tuckey dengan taraf kepercayaan 95%. Setelah itu dilakukan pemeriksaan histopatologi sel hati tikus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infus herba pegagan dosis ,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/ kg BB mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus putih terinduksi parasetamol berturut-turut sebesar 34,19%; 62, 52%; 78,62%; 85,69%. Dan hasil analisis kualitatif dengan pemeriksaan histologi menunjukkan herba pegagan mempunyai efek hepatoprotektif

Kata kunci: Hepatoprotektif, Herba Pegagan, Parasetamol

**THE EFFECT TEST OF INFUSION HEPATOPROTECTIVE OF
PEGAGAN HERB (*CENTELLA ASIATICA*, (L), URB) ON
ACETAMINOPHEN INDUCED WISTAR STRAIN WHITE RAT**

ABSTRACT

Acetaminophen is a kind of analgetic-antipyretic drug which the usage in excessive dose will cause the liver damage. Pegagan herb (*Centella asiatica*, L) is one of plant which use to protect the liver from various damage of drug. The research about infussion hepatoprotective of pegagan herb's effect on acetaminophen induced wistar strain white rat had been conducted. This research was aimed to find how excellent pegagan herb protects the liver from the damages caused by acetaminophen and find the data of hepatoprotective of pegagan herb's dose effect span in infussion form through the SGPT enzym and hyspatology of liver cell analysis. This research used the completed random of unidirectional pattern method, using wistar strain white rat as the tested animals, weight $200 \text{ g} \pm 10\%$, age 5-8 weeks. The way of attempt: 36 rat were divided into 6 groups were each groups had 6 rat. For the treatment, Group I was controlled by aquadest. Group II was given acetaminophen suspension dose $2,5 \text{ g/kg BB}$. Group III-IV was given pegagan herb infussion $0,027$; $0,054$; $0,0108$; $0,216 \text{ g/kg BB}$ once in a day for a week and 8 hours after that, on the seventh day was given acetaminophen suspension dose $2,5 \text{ g/kg BB}$. Blood taking was conducted by orbitalis sinus before th treatment, 8 hours after the seventh day treatment and 24 hours after acetaminophen was given. SGPT data was analysed by ANOVA statistical test, where if found the significant difference, it would continue by Tuckey Test with 95% as significant standar. Then continued by hyspatology test on liver cell of rat. The result of this research showed that pegagan herb infussion dose $0,027$; $0,054$; $0,108$; $0,216 \text{ g/kg BB}$ had a hepatoprotective effect on acetaminophen induced white rat successively 34,19%; 62,52%; 78,62%; 85,69%. And the result of qualitative analysis by histology analysis showed that pegagan herb had hepatoprotective effect.

Keyword: Hepatoprotective, Pegagan Herb, Acetaminophen.

BAB I

PENDAHULUAN



A. Latar Belakang Masalah

Hati merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia. Di dalam hati terjadi proses-proses penting bagi kehidupan kita, yaitu proses penyimpanan energi, pembentukan protein dan asam empedu, pengaturan metabolisme kolesterol, dan penetralan racun/ obat yang masuk dalam tubuh kita. Sehingga dapat kita bayangkan akibat yang akan timbul apabila terjadi kerusakan pada hati (Anonim, 2004b).

Hati 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).

Invasi penyebab sakit pada hati menimbulkan gejala yang bervariasi, dari infeksi tersamar tanpa gejala sampai penyakit akut yang melemahkan (hepatitis ikterus akut), sampai pada beberapa bentuk hepatitis menahun, dan bentuk yang jarang sampai nekrosis hepatic fulminan, submasif sampai massif. Terdapat suatu keadaan penularan yang dapat timbul mengikuti gejala ini, tetapi kadang-kadang ditemukan individu yang tidak mempunyai riwayat infeksi virus pada jaringan hatinya (Robbins dan Kumar, 1995).

Parasetamol (Acetaminophen), sebagai derivat asetanilid merupakan metabolit fenasetin dengan efek analgetik dan antipiretik dan telah digunakan sejak tahun 1893 (Anonim, 1995a). Parasetamol adalah obat yang sangat aman, tetapi bukan berarti tidak berbahaya. Pada penggunaan kronis dari 3-4 g sehari dapat terjadi kerusakan hati, pada dosis di atas 6 g mengakibatkan nekrosis hati yang irreversibel (Tjay dan Rahardja, 2002).

Keracunan serius bisa terjadi dengan sedikitnya 12-20 tablet parasetamol @ 500 mg sekali telan, tergantung dari kapasitas individual setiap orang. Waktu paruh parasetamol dalam darah (normal 2 jam) dapat memanjang (lebih dari 4 jam), sehingga dapat dipakai sebagai ukuran untuk menilai derajat keseriusan keracunan (Darmansjah, 2004).

Transaminase merupakan sekelompok enzim. Adapun enzim yang sering digunakan untuk menilai penyakit hati adalah GPT karena merupakan indikator yang peka terhadap kerusakan sel-sel hati. Enzim ini terdapat dalam jaringan tubuh tetapi yang terbanyak dan sebagai sumber utamanya adalah sel-sel hati. Enzim GPT ini sebagian besar terikat dalam sitoplasma hati. Bila terjadi kerusakan pada membran sel hati oleh suatu sebab misalnya karena alkohol, obat-obatan, infeksi virus dan sebagainya, maka enzim GPT akan terlepas dan masuk ke dalam peredaran darah sehingga kadarnya di dalam serum meningkat (Duncan dan Carlyle, 1983).

Kecenderungan kembali ke alam atau *back to nature* sudah berkembang luas di dunia Barat sejak sekitar tiga dasawarsa yang lalu. *Back to nature* di

bidang pengobatan berarti kembali ke obat-obatan alami, yakni yang berasal dari tanam-tanaman (Winarto dan Surbakti, 2003).

Alam Indonesia dikenal juga sebagai penghasil tanaman obat. Kini, selain pengobatan medis kedokteran, tidak sedikit dokter yang menyarankan pengobatan herbal (Anonim, 2004a). Secara empiris penggunaan tanaman obat telah dilakukan secara turun-temurun. Tanaman obat ternyata mampu menyembuhkan berbagai penyakit serta dapat memelihara kesehatan pemakainya (Yogha, 2004). Salah satu tanaman obat yang dikenal luas di seluruh dunia sebagai obat dan sangat aman digunakan adalah pegagan (*Centella asiatica* L. (Urban)).

Pegagan dikenal dengan nama latin *Centella asiatica* atau *Hydrocotyle asiatica*, dan juga dikenal dengan nama Asiatic pennywort dan Indian pennywort. Sebagai tanaman berkhasiat obat, pegagan telah dimanfaatkan terutama oleh masyarakat India, Pakistan, Malaysia, dan sebagian Eropa Timur sejak ribuan tahun lalu. Di China, tumbuhan ini digunakan sebagai tonikum dan pengobatan lepra. Dengan karakternya yang dingin, tumbuhan ini juga digunakan sebagai antiinfeksi, antitoksik, antipiretik dan diuretik. Dalam sistem pengobatan Ayurveda di India, dibuat dalam bentuk sirup tanpa alkohol untuk pengobatan epilepsi. Di Thailand digunakan sebagai tonikum dan antidiare. Di Srilanka, dimanfaatkan untuk meningkatkan pengeluaran air susu, sedangkan di Vietnam digunakan untuk mengatasi lemah badan karena usia lanjut. Di Indonesia sendiri, tumbuhan ini digunakan untuk menyembuhkan luka, sakit perut, obat cacing, kencing batu, obat demam, pembersih darah, hemoroid, batuk kering, penyakit anak-anak hidung bardarah, obat kusta dan sipilis (Handra, 2004).

Sejalan dengan mekanisme kerja pegagan pada tubuh, tumbuhan ini juga terbukti secara klinik mampu mengobati luka bakar, sirosis hati, keloid scleroderma, dan gangguan pembuluh vena, mengatasi kepikunan dan meningkatkan kecerdasan (Handra, 2004). Umumnya oleh orang Asia, termasuk Indonesia, bisa dikonsumsi dalam bentuk segar, dimasak menjadi sayuran atau dibuat jus sebagai minuman (Anonim, 2004d).

Menurut keterangan dari badan POM Depkes kandungan kimia dalam pegagan di antaranya *alkaloid hidrokotilina, glikosid asiaticosid, saponin asatikosid* dan senyawaan sejenis anti lepra, minyak lemak, minyak atsiri. Zat pahit dan zat samak, bersifat melindungi sel hati dari berbagai kerusakan akibat racun maupun zat berbahaya, maka dapat juga untuk mengobati liver, radang hati, dan pembengkakan hati (Manan, 2003).

Untuk mengatasi masalah kerusakan hati, diupayakan penelitian untuk mendapatkan alternatif obat baru yang berkhasiat untuk mencegah maupun mengobati, yaitu dengan mencari obat-obat dari alam yang telah digunakan secara tradisional. Salah satunya yaitu tanaman obat herba pegagan (*Centella asiatica*, Urb). Diharapkan hasil dari penelitian ini akan memperkaya daftar tanaman obat yang berkhasiat sebagai hepatoprotektif terhadap parasetamol.

Telah juga dilakukan penelitian oleh David (2004) dengan judul Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Pada Mencit Jantan Terinduksi Parasetamol. Sedangkan penelitian ini berjudul Uji Efek Hepatoprotektif Infus Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Pada Tikus Putih Yang Terinduksi Parasetamol. Penegasan kembali penelitian ini

menggunakan infus herba pegagan, dikarenakan penggunaan pengobatan pada masyarakat yang secara tradisional lebih mudah pembuatan dalam bentuk infusa dari pada pembuatan dalam bentuk ekstrak etanol.

Telah diketahui juga LD₅₀ pada tikus bernilai 60,885 mg/ kg (oral). Harga ini termasuk nilai *Practically Non Toxic* (PNT) artinya praktis tidak toksik, sehingga herba pegagan dapat dijamin keamanannya dalam penelitian ini.

B. Perumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian: apakah infus herba pegagan (*Centella asiatica*, Urb) mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus putih jantan yang diinduksi parasetamol dan berapakah data kisaran dosis efek hepatoprotektif herba pegagan (*Centella asiatica*, Urb) dalam bentuk infusa?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mendapat kisaran data dosis efek hepatoprotektif *Centella asiatica*, Urb dalam bentuk infusa, melalui pemeriksaan enzim GPT-serum dan pemeriksaan histologi sel-sel hati.

BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Hati

a. Fisiologi hati

Hati merupakan kelenjar tubuh yang terbesar dengan berat sekitar 1/36 berat badan orang dewasa, yaitu berkisar 1.200-1.600 g. Ukuran hati kira-kira 7-10 cm, terletak dari bawah rusuk kanan hingga ke bagian epigastrium. Hati merupakan pusat metabolisme yang mempunyai banyak fungsi dan penting untuk mempertahankan hidup (Dalimartha, 1999).

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 ekskresi oleh ginjal. Untuk itu, maka sistem enzim dalam mikrosom hati akan melakukan biotransformasi sedemikian rupa sehingga terbentuk metabolit yang lebih mudah larut dalam air dan dapat diekskresikan melalui urin atau empedu. Dengan faal yang demikian, maka hati mempunyai kemungkinan yang sangat besar untuk dirusak oleh obat (Setiabudi, 1979).

Efek toksik pada jaringan hati pada pemeriksaan histologi tampak berupa degenerasi sel bersama-sama dengan pembentukan vakuola besar, penimbunan lemak, dan nekrosis. Kerja toksik ini tidak mengubah fungsi sel (misalnya kandungan glikogen atau konsentrasi berbagai enzim), tetapi struktur sel langsung

dirusak segera setelah senyawa toksik mencapai konsentrasi yang tinggi dalam organ (Ariens, 1993).

Menurut Dalimartha (1999), fungsi hati ada 4 macam, yakni :

1. Fungsi pembentukan dan eksresi empedu

Empedu dibentuk oleh hati melalui saluran empedu interlobular yang terdapat di dalam hati, empedu yang dihasilkan dialirkan ke kandung empedu untuk disimpan. Dalam sehari, sekitar 1 liter empedu di eksresikan oleh hati. Bilirubin atau pigmen empedu yang dapat menyebabkan warna kuning pada jaringan dan cairan tubuh sangat penting sebagai indikator penyakit hati dan saluran empedu.

2. Fungsi Metabolik.

Disamping menghasilkan energi dan tenaga, hati mempunyai peranan penting pada metabolisme karbohidrat, protein, lemak dan vitamin.

3. Fungsi pertahanan tubuh.

Hati juga berperan dalam pertahanan tubuh, baik berupa detoksifikasi maupun fungsi perlindungan. Detoksifikasi dilakukan dengan berbagai proses yang dilakukan oleh enzim-enzim hati terhadap zat-zat beracun, baik yang masuk dari luar maupun yang dihasilkan oleh tubuh sendiri. Dengan proses detoksifikasi, zat berbahaya akan diubah menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif. Fungsi perlindungan dilakukan oleh sel kupffer yang berada pada dinding sinusoid hati. Dengan cara fagositosis, sel kupffer dapat membersihkan sebagian besar kuman yang masuk ke dalam hati melalui vena

porta sehingga tidak menyebar keseluruh tubuh. Sel kupffer juga menghasilkan imunoglobulin yang merupakan kekebalan humoral.

4. Fungsi vaskuler.

Pada orang dewasa, jumlah aliran darah ke hati diperkirakan sekitar 1200-1500 cc per menit. Darah tersebut berasal dari vena porta sekitar 1200 cc dan dari arteri hepatica sekitar 350 cc. Bila terjadi kelemahan fungsi jantung kanan dalam memompa darah (payah jantung kanan) maka darah dari hati yang dialirkan ke jantung, melalui vena hepatica dan selanjutnya masuk ke dalam vena kava inferior akan terhambat. Akibatnya terjadi pembesaran hati karena bendungan pasif oleh darah yang jumlahnya sangat besar.

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).

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 kejadian hepatotoksisitas karena obat relatif rendah, tetapi angka kefatalannya cukup tinggi, berkisar antara 10-50%, Artinya keparahan penyakit ini akan memiliki dampak yang besar bagi berbagai fungsi hati, sehingga memungkinkan

berkembangnya komplikasi penyakit serta kesulitan penanganannya (Donatus, 1995).

Sampai saat ini diagnosis kerusakan hati sulit ditegakkan, demikian pula belum ada obat yang spesifik untuk mengatasinya (Donatus 1995). Kelangkaan obat ini 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 hepatotoksik), 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 digolongkan menjadi 3 macam yakni : (1) sitotoksik (hepatoseluler) yang berkaitan dengan kerusakan parenkim sel hati. Luka jenis ini dapat berupa nekrosis atau steatosis; (2) kolestatik berupa penahanan aliran empedu dengan sedikit atau tanpa kerusakan sel-sel hati ; (3) campuran yaitu kombinasi dari kedua macam kerusakan sitotoksik dan kolestatik (Zimmerman, 1978).

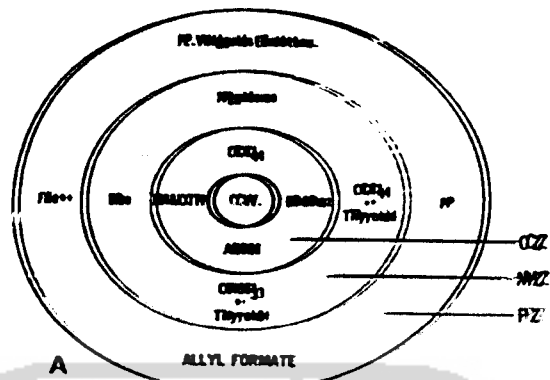
Kerusakan hati kronis meliputi sirosis, steatosis, neoplasma, dan trombosis vena hepatic. Jenis sirosis sendiri ada beberapa macam, yaitu makronoduler, mikronoduler, dan kongestif. Gambaran histopatologis dari sirosis adalah nekrosis yang diikuti oleh adanya fibrosis maupun kolagenasi jaringan. Jenis 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. Steatosis terjadi karena terhambatnya transfer lipid keluar dari hati, yang biasanya ditandai dengan akumulasi lemak dalam hati (Zimmerman, 1978).

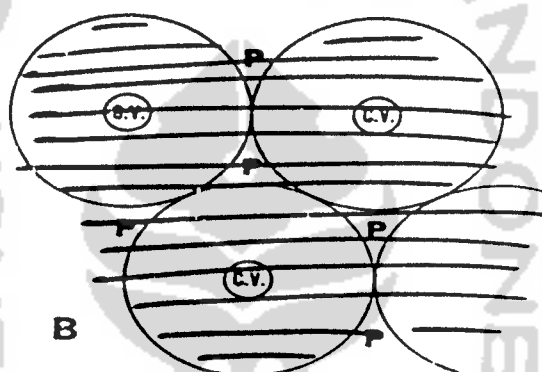
Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan dalam tubuh yang masih hidup. Berbeda dengan degenerasi melemak yang sifatnya terbalikkan, nekrosis dapat terjadi karena proses perusakan sel yang sudah melanjut sehingga melampaui kemampuan keterbalikkan suatu sel dengan demikian jaringan nekrotik bersifat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

Berdasarkan lokasi dan luasnya, nekrosis dapat dibagi menjadi nekrosis fokal (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).

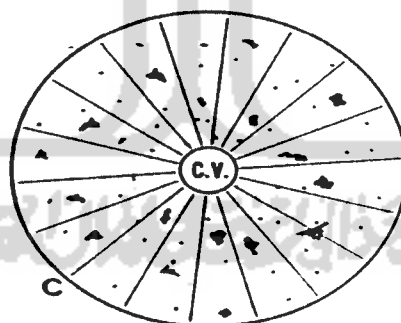
Nekrosis sel hati dapat mengakibatkan gangguan metabolisme bilirubin dalam hati berupa kegagalan hati untuk mengeksresi bilirubin yang dibentuknya ke dalam empedu. Dalam keadaan ini, bilirubin tertimbun dalam darah, dan bila mencapai konsentrasi tertentu akan merembes kedalam jaringan yang kemudian menjadi 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).



ZONAL NECROSIS



MASSIVE NECROSIS



FOCAL OR DIFFUSE NECROSIS (DRUGS, GALN)

Gambar 1. Tipe nekrosis (A) nekrosis zonal, (B) nekrosis massif, (C) nekrosis multifokal/ diffus.

b. Hepatotoksin

Hepatotoksin didefinisikan 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).

Besar kemungkinan rusaknya hati oleh hepatotoksin muncul akibat konsekuensi logis peran utama hati dalam proses metabolisme dan disposisi substansi asing. Konsentrasi hepatotoksin dalam hati, konversi-konversi metabolis yang terjadi dalam hepatosit, dan sekresi substansi asing ataupun metabolitnya ke dalam empedu, semuanya berperan dalam proses kerusakan hati akibat hepatotoksin. Faktor yang terpenting adalah bahwa hati berperan dalam biotransformasi substansi asing. Faktor lain menjadi hal yang patut dipertimbangkan juga (Zimmerman, 1978).

Obat bentuk utuh atau metabolit dapat menimbulkan kerusakan hati melalui mekanisme toksisitas-intrinsik (dapat diperkirakan, bergantung dosis, secara langsung atau tak langsung) atau idiosinkrasi (tak dapat diperkirakan, tak tergantung dosis, secara reaksi hipersensitivitas atau keabnormalan metabolik) (Donatus, 1995).

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; Parasetamol, Metotreksat, Tetrasiklin, Siklofosfamid, kontrasepsi oral. Parasetamol menyebabkan nekrosis hati yang dapat diprediksi pada pemberian overdosis (Anonim, 2003).

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, Halotan, Isoniazid, Sulfonamid, Nitrofurantoin (Anonim, 2003).

c. Tolak ukur kehepatotoksikan.

Studi tentang senyawa-senyawa yang toksik terhadap hati dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo*. Metode *in vitro* dapat dipakai untuk menjelaskan aspek-aspek khusus mekanisme kerusakan sel yang terjadi. Metode *in vivo* dapat menunjukkan kerugian yang ditimbulkan oleh senyawa eksogen pada hati berdasarkan tanda-tanda fisiologi yang terjadi. Pada metode *in vivo* digunakan hewan uji tikus, mencit, marmut, anjing dan lain-lain. Parameter yang diukur dalam metode ini yaitu perubahan kimiawi yang terjadi dalam hati, misalnya sekresi bilirubin, ekskresi zat warna tertentu, aktivitas enzim serum. Pemeriksaan

histopatologi digunakan dengan menggunakan mikroskop konvensional (Zimmerman, 1978)

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 enterohepatic. 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 kenaikan 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 relatif (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).

Tes fungsi hati yang umum adalah AST (*aspartate transaminase*), juga disebut sebagai SGOT (*serum glutamic-oxaloacetic transaminase*), dan ALT

(*alanine transaminase*) yang juga disebut sebagai SGPT (*serum glutamic-pyruvic transaminase*). GOT dan GPT akan menunjukkan jika terjadi kerusakan atau radang pada jaringan hati. GPT lebih spesifik terhadap kerusakan hati dibanding GOT (Anonim, 2004 g). Enzim GPT hampir sebagian besar ditemukan dihati, sehingga GPT merupakan petunjuk yang lebih spesifik terhadap adanya nekrosis hati daripada GOT (Zimmerman, 1978).

Pada nekrosis terjadi peningkatan 10-100 kali aktivitas GPT-serum dari normal. Kenaikan aktifitas GPT-serum 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 (Zimmerman, 1978).

Jadi dalam 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).

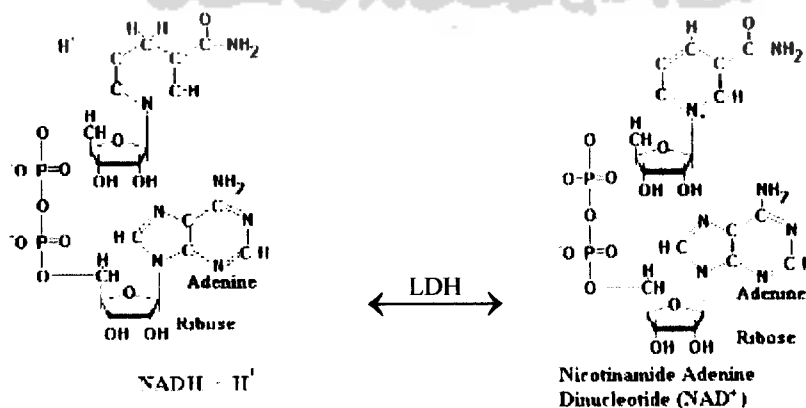
Serum *glutamic-pyruvic transaminase* mempunyai waktu paruh \pm 2-4 hari, artinya jika terjadi kerusakan hati, maka nilai enzim menjadi 50 % dari hari ke-0. jika nilai tidak turun 50 % setiap 2-4 hari maka merupakan tanda penyakit hati masih berlangsung (Mitruka dan Rawnsley, 1981). Pada awal infeksi kadar aktivitas GPT cepat meningkat dan kembali normal pada akhir kesembuhan.

Serum GPT kurang stabil terhadap penyimpanan, pada suhu 0-4°C aktivitas enzim ini menurun sampai 78%. Pada suhu kamar menurun hingga 75% dan bila dibekukan hanya tinggal 31% (Kramer, 1989). Hepatitis yang terjadi karena efek toksik dari parasetamol, nilai GPT-serumnya sangat tinggi yaitu lebih dari 3500 IU/L (Anonim, 2005).

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 kepiruvat 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 :



Gambar 2. Struktur kimia 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, 2004f).

2. 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 hepatic 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 sistem 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 diekskresikan 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 makromelekul protein sel hati. Akibatnya terjadi kematian sel hati atau nekrosis. 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 melebihi nilai normalnya (Donatus, 1994). Metabolisme parasetamol dipengaruhi oleh : usia, jenis makhluk hidup dan galur untuk hewan uji (Donatus, 1994) juga oleh penyakit, dosis, dan antaraktan penghambat atau pemicu enzim.

b. Toksikologi parasetamol.

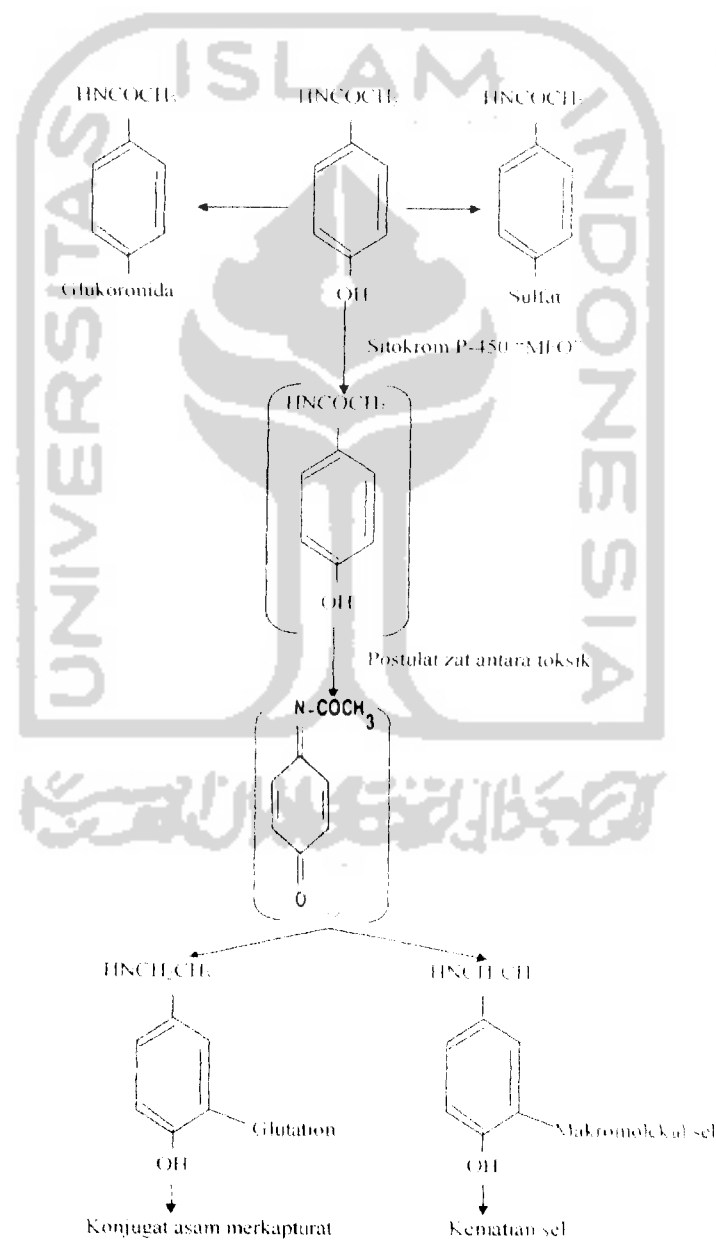
Wujud dan ciri : dengan pemeriksaan histopatologi ditemukan kerusakan sel yang utamanya bertempat di daerah sentrilobular, ditandai oleh degenerasi sel eosinofil bersama-sama dengan piknosis bahan inti sel. Metabolit toksik N-asetil-p-benzokuinonimina (NABKI) dapat berikatan secara langsung melalui reaksi ikatan kovalen atau nirkovalen dengan makromolekul sel hati, menuju ke nekrosis sentrolobuler. Nekrosis sentrolobuler-parasetamol hanya terjadi setelah kapasitas glutathion hati terkuras habis (Donatus, 1995).

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 Stabilisasi membran dengan antiradikal bebas (Prescott, 1971 *cit* Donatus, 1994).



Gambar 3. Sistem biotransformasi parasetamol di dalam hati (Zimmerman, 1978)

3. Herba Pegagan

a. Deskripsi tanaman

Pegagan tumbuh merayap menutupi tanah, tidak berbatang, tinggi tanaman antara 10-50 cm, memiliki daun satu helaian yang tersusun dalam roset akar dan terdiri dari 2-10 helai daun. Daun berwarna hijau; berbentuk seperti kipas, buah pinggang, atau ginjal; permukaan dan punggungnya licin; tepinya agak melengkung ke atas, bergerigi, dan kadang-kadang berambut; tulangnya berpusat di pangkal dan tersebar ke ujung; serta berdiameter 1-7 cm.

Tangkai daun berbentuk seperti pelepah, agak panjang, berukuran 5-15 cm tergantung dari kesuburan tempat tumbuhnya. Sepanjang tangkai daun beralur dan di pangkalnya terdapat daun sisik yang sangat pendek, licin, tidak berbulu, berpadu dengan pangkal tangkai daun.

Tangkai bunga pegagan sangat pendek, keluar dari ketiak daun, tersusun dalam karangan seperti payung, berwarna putih sampai merah muda atau agak kemerah-merahan. Jumlah tangkai bunga antara 1-5. Bentuk bunga bundar lonjong, cekung, dan runcing ke ujung dengan ukuran sangat kecil. Kelopak bunga tidak bercuping serta tajuk bunga berbentuk bulat telur dan meruncing ke bagian ujung.

Buah pegagan berukuran kecil, panjang 2-2,5 mm, lebar 7 mm, berbentuk lonjong atau pipih, menggantung, baunya wangi, rasanya pahit, berdinding agak tebal, kulitnya keras, berlekuk dua, berusuk jelas, dan berwarna kuning. Akarnya rimpang dengan banyak stolon, berkelompok dan lama

kelamaan meluas hingga menutupi tanah, merayap, dan berbuku-buku.
(Winarto dan Surbakti, 2003).

b. Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Apiales (Umbellales)

Suku : Apiaceae (Umbelliferae)

Marga : Centella

Jenis : *Centella asiatica* (L.) Urban (Backer, 1965,

Tjitrosoepomo, 1993).

c. Nama umum/ dagang

Daun pegagan

d. Nama daerah

Tanaman ini di Sumatera dikenal dengan nama pegaga, daun kaki kuda, daun penggaga, rumput kaki kuda, pegagan kaki kuda, pegago. Di Makasar dikenal dengan pugago. Di Jawa dikenal dengan cover gompeng, antanan bener, gagau-gagau, kerok batok, panegowang, rendeng, caling rambut, pacul gowang, panigowang. Di Madura dikenal dengan gangagan, sedangkan di Sunda dikenal sebagai antanan gede. Paiduh, panggaga dikenal untuk tanaman pada daerah Nusa Tenggara. Di daerah Maluku dikenal sebagai sarowati, sedangkan di Irian dikenal dengan nama dagauke, gogauke, sansanan (Anonim, 1986).

e. Nama asing

Ji xue cao (Cina); broken copper coin/ Button grass/ Small-leaved horsehoof grass Inggris) (Anonim h, 2004); gotu kola (Amerika); bevilaque (Prancis); wassernabel (Jerman); brahmi (India); karinga (Bombay); pegaga ular (Malaysia); buah bok (Thailand); mingkuabin (Birma) (Winarto dan Surbakti, 2003).

f. Nama kimia

Pegagan mengandung senyawa Asiaticoside, thankunside, isothankunside, madecassoside, brahmoside, brahminoside, brahmic acid, madasiatic acid, meso-inositol, centellose, carotenoid, garam-garam mineral seperti garam kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi, vellarin (campuran antara damar dan minyak terbang) dan zat samak dan tanin. Senyawa glikosida triterpenoida yang disebut asiaticoside dan senyawa sejenis, berkhasiat sebagai anti lepra, sebagai penyembuh luka, radang tenggorokan (Anonim f, 2004).

g. Khasiat

Herba pegagan berkhasiat untuk mengobati infeksi dan batu saluran kencing, asma, bronkitis, pleuritis, campak, eukore, hipertensi, wasir, cacangan, hepatitis, ikterik akut, pembengkakan hati, disentri, sirkulasi pembuluh darah yang buruk, keracunan makanan, keracunan bahan kimia (gelsemium, elegans arsen dan obat-obatan), lepra, juga untuk pengobatan TBC. (Dalimartha, 2000). Selain menambah nafsu makan, menyegarkan badan, berkhasiat juga sebagai hepatoprotektor (Dalimartha, 1999).

4. Infusa

Infus adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Kecuali dinyatakan lain infus yang mengandung bukan bahan berkhasiat keras, dibuat dengan menggunakan 10% simplisia. (Anonim,1995).

Cara pembuatan yaitu campur simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci dengan air secukupnya, panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90° sambil sekali-kali diaduk. Serkai selagi masih panas melalui kain flanel tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus yang dikehendaki (Anonim, 1995).

B. Landasan Teori

Parasetamol merupakan salah satu produk obat bebas yang paling sering digunakan di masyarakat untuk berbagai indikasi demam dan rasa sakit, akan tetapi banyak masyarakat yang tidak mengetahui bahwa pemakaian parasetamol dalam dosis berlebih dapat menyebabkan kerusakan hati.

Herba pegagan diketahui mengandung zat pahit dan zat samak yang bersifat antioksidan sehingga dapat melindungi hati dari berbagai kerusakan akibat racun maupun zat berbahaya. Telah diketahui LD₅₀ pada tikus bernilai 60,885 mg/ kg (oral), harga ini termasuk nilai *Practically Non Toxic* (PNT) sehingga pegagan aman untuk digunakan.

Penelitian sebelumnya juga telah dilakukan tentang efek hepatoprotektif ekstrak etanol herba pegagan (*Centella asiatica*, Urb) pada mencit jantan

terinduksi parasetamol. Ternyata ekstrak etanol herba pegagan dapat melindungi hati dari kerusakan akibat pemakaian parasetamol berlebih.

C. Hipotesis

Infus herba pegagan dapat berefek sebagai hepatoprotektor pada tikus putih yang terinduksi parasetamol berdasarkan pada pemeriksaan SGPT serum dan hispatologi sel hati tikus.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Subjek uji digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar, bobot badan seragam 200 gram \pm 10 %, umur 5-8 minggu. Hewan uji diperoleh dari Unit Pengadaan Hewan Percobaan (UPHP) UGM. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia herba pegagan *Centella asiatica*, Urb., paracetamol (Sigma chemical USA), Na-CMC, aqua destillata, alkohol, formalin, GPT-ALAT (Diasys), Xilol, lilin cetak, zat warna hematoksin-eosin.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk perlakuan terhadap hewan uji: 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 stirrer, vortex. Pengambilan hati digunakan alat scalpel, seperangkat alat bedah yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan UGM. Pemeriksaan preparat digunakan mikrotom, mikroskop dan kamera. Digunakan juga alat-alat seperti timbangan analitik (Chyo Jupiter C3 .100 MD), tabung reaksi dan alat-alat gelas lainnya yang tersedia di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan UGM.

B. Cara Penelitian

1. Koleksi dan determinasi tanaman

Simplisia herba pegagan berasal dari Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Determinasi tanaman juga dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Surakarta dengan berpedoman pada buku Flora of Java karangan Backer and Bakhuizen van den Brink (1968).

2. Penentuan dosis infus herba pegagan.

Dosis herba pegagan kering untuk manusia adalah 0,6 g (Anonim, 1998). Konversi dari dosis manusia 70 kg ke tikus 200 g adalah 0,018.

Dosis yang digunakan untuk tikus adalah infus herba pegagan:

$$\begin{aligned} 0,018 \times 0,6 \text{ g} &= 0,0108 \text{ g}/200 \text{ g} \\ &= 0,054 \text{ g}/\text{kg BB} \end{aligned}$$

Variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah infus herba pegagan:

$$\text{Dosis I} = 0,027 \text{ g}/\text{kg BB}$$

$$\text{Dosis II} = 0,054 \text{ g}/\text{kg BB}$$

$$\text{Dosis III} = 0,108 \text{ g}/\text{kg BB}$$

$$\text{Dosis IV} = 0,216 \text{ g}/\text{kg BB}$$

Volume infusa yang diberikan berdasarkan setengah dari volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji (5,00 ml/ kg) (Dorothea, 1987).

3. Pembuatan Infusa *Centella asiatica*, Urb

Simplisia dengan derajat halus tertentu, ditimbang 2,7 gram. Dicampur dengan air dalam panci infusa, panaskan di atas tangas air selama 15 menit

terhitung suhu 90° C sambil sekali-kali diaduk. Serkai dengan kain flannel selagi masih panas dan tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume 100 ml. (Anonim, 1995 b).

4. Pembuatan larutan CMC1% 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.

5. Penentuan dosis parasetamol.

Dosis parasetamol dipilih berdasarkan dosis hepatotoksiknya terhadap tikus putih yaitu: 2,5 g/kg BB (parasetamol dalam CMC 1%).

6. Pembuatan suspensi Parasetamol dan penetapan dosis toksik

Parasetamol diberikan secara peroral dalam bentuk suspensi (CMC 1%). Suspensi parasetamol dibuat dengan cara menimbang seksama dan larutkan dalam CMC 1% sehingga didapat konsentrasi 0,5 gram/ 2ml. Dosis parasetamol ditetapkan berdasarkan dosis toksik terhadap tikus yaitu 2,5 g/kg BB (Donatus, 1983).

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 (peroral).

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

Kelompok III-VI berturut-turut diberi perlakuan sediaan uji (infusa pegagan) (peroral) dosis 0,027 g/ kg BB; 0,054 g/kg BB; 0,108 g/ kg BB; 0,216 g/ kg BB dosis tunggal selama 6 hari berturut-turut, 8 jam setelah perlakuan pada hari keenam diambil darahnya, kemudian diberi Parasetamol dosis toksik 2,5 mg/kg BB. 48 jam setelah pemberian parasetamol dosis toksik, segera lakukan 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.

8. Pengambilan serum

Sebelum diambil darahnya tikus dipuasakan selama 16-18 jam, tetapi tetap diberi minum. Tikus diambil darahnya 1,5 ml melalui *sinus orbitalis*. Darah diinkubasi pada suhu tubuh selama 15 menit, disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Diambil bagian yang jernih yaitu serum.

9. Analisis aktifitas SGPT (*Deutsche gesselchraft fur klinische chemie (Modified IFCC (U.V. Kinetic)*)

Tabel I. Analisis aktivitas GPT-serum

Serum	100 μ L
Larutan reagen R ₁	1000 μ L
Campur, setelah 5 detik	
Larutan reagen R ₂	250 μ L
Campur dan baca penurunan serapan dalam 1 menit	

Aktivitas enzim dibaca pada panjang gelombang λ 340, suhu 37° dengan faktor 1746.

Untuk analisis fotometri aktifitas enzim SGPT, dilakukan serangkaian reaksi 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 dan baca penurunan resapan dalam 1 menit pada panjang gelombang 340 nm pada suhu 37° C. hasil yang diperoleh dikalikan dengan factor 1746. SGPT dinyatakan dalam U / L (Anonim f, 2004; Sulistyawati, 2002).

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 suhu 60°C. Pindahkan ke dalam parafin cair selama 30 menit 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 bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan, UGM, Yogyakarta.

b. Pemeriksaan histologi.

Preparat sel-sel hati yang telah di cat dengan hematoksilin-eosin. Selanjutnya diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40X dan 100X. Hasil pemeriksaan dibuat foto mikroskopik sebagai data kualitatif. Pemeriksaan histologi sel hati dilakukan di Laboratorium Patologi dan Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

C. Analisis dan evaluasi hasil

Analisis kuantitatif dilakukan terhadap hasil pemeriksaan aktivitas enzim SGPT serum. Berdasarkan data aktivitas enzim SGPT tersebut maka dihitung daya hepatoprotektif dengan persamaan sebagai berikut :

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

(Sulistyawati, 2002).

Dimana AGPT Pst : rata-rata aktifitas GPT-serum kontrol parasetamol (dosis toksik 2,5 g/kg BB); AGPT Kt (kontrol) : rata-rata aktifitas GPT serum setelah pemberian aquadest; AGPT D adalah rata-rata aktifitas GPT-serum dosis uji, setelah 48 jam pemberian dosis toksik 2,5 g/ kgBB. Kisaran dosis hepatoprotektif ditentukan dari nilai aktifitas enzin SGPT optimum. Analisis statistik menggunakan anava pola searah dan diteruskan uji tukey taraf kepercayaan 95%. Data hasil pemeriksaan histopatologi dianalisis secara kualitatif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dikerjakan untuk membuktikan efek hepatoprotektif infus herba pegagan pada tikus putih terangsang parasetamol. Tolok ukur dari efek hepatoprotektif infus herba pegagan dievaluasi berdasarkan uji enzim serum dan analisis histopatologi sel hati. Uji enzim serum dilakukan secara fotometri mengikuti metode GPT-ALAT dengan tolok ukur aktivitas GPT-serum dalam U/L, yang disajikan dalam bentuk Mean \pm SE. Analisis histopatologi sel hati disajikan dalam bentuk gambaran histologi kerusakan sel-sel hati. Efek hepatoprotektif dari infus herba pegagan dapat dilihat dari daya hepatoprotektif dan dari daya penghambatan terhadap kenaikan aktivitas GPT-serum dibandingkan dengan kontrol hepatotoksin yaitu parasetamol. Artinya, semakin besar penurunan aktivitas GPT-serum semakin baik efek hepatoprotektifnya.

A. Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian ini. Determinasi tanaman dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Obat Tawang mangu, Surakarta dengan berpedoman pada buku Flora of Java karangan Backer and Bakhuizen van den Brink (1968). Hasil determinasi tanaman *Centella asiatica*, Urb sebagai berikut:

1b_18b_19b_20b _____ Centella

1 _____ *Centella asiatica* Urb

Berdasarkan hasil determinasi tersebut dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman herba pegagan dengan nama ilmiah *Centella asiatica*, Urb. Surat keterangan determinasi dapat dilihat pada lampiran 2, sedangkan foto tanaman herba pegagan (*Centella asiatica*, Urb) tersaji pada lampiran 1.

B. Pembuatan Infus Herba Pagagan

Spesifikasi infus herba pegagan adalah berwarna coklat kekuningan konsistensi cair, bau khas. Standarisasi infus belum dilakukan karena senyawa aktif yang berperan sebagai hepatoprotektif belum diketahui.

C. Penetapan Aktivitas Enzim GPT serum

Pemeriksaan GPT-serum menggunakan metode IFCC (Internasional Federation of Clinical Chemistry (*modif*), dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada. Rangkaian analisis GPT-serum yaitu 100 μ l serum darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah 1000 μ l reagen kit. Setelah itu tabung reaksi dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 37° C selama 15 menit. Kemudian campuran serum dan reagen dipindahkan ke dalam kuvet yang berdiameter 1 cm dan diukur penurunan absorpsi setiap menit selama 3 menit dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm (Benjamin, 1978).

Rumus yang digunakan untuk menghitung aktivitas GPT adalah:

$$\text{Aktivitas GPT} = \Delta\Delta s \times F$$

$\Delta\Delta s$ = rerata penurunan absorpsi setiap menit

F = faktor untuk panjang gelombang 340 nm adalah 1746.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek hepatoprotektif infus herba pegagan. Pengujian efek hepatoprotektif berdasarkan tolok ukur enzim serum dilakukan dengan pengukuran aktivitas enzim GPT serum 36 ekor tikus putih yang dibagi pada 6 kelompok perlakuan. Aktivitas enzim GPT serum dinyatakan dalam Mean \pm SE (U/L) dan diukur aktivitas enzim GPT-serum 8 jam sebelum dan 48 jam setelah perlakuan dengan hepatotoksin parasetamol. Daya hepatoprotektif dihitung dari perbandingan selisih rata-rata aktivitas enzim GPT serum hepatotoksin terhadap dosis uji dan selisih rata-rata aktivitas enzim GPT serum hepatotoksin dan kontrol aqua. Daya hepatoprotektif disajikan dalam bentuk persen.

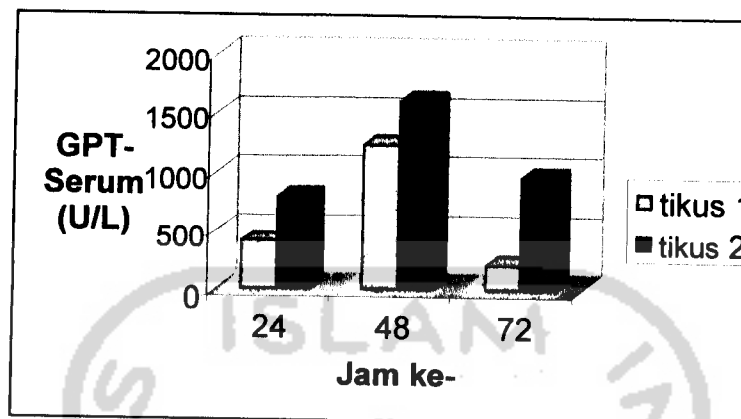
1. Optimasi waktu pemberian hepatotoksin.

Penentuan waktu kehepatotoksikan parasetamol mencapai maksimum bertujuan untuk mengetahui waktu di mana parasetamol dosis 2,5 g/kg BB menyebabkan derajat kerusakan hati yang tertinggi. Hal ini dapat ditunjukkan dengan kenaikan aktivitas GPT-serum yang maksimal dan terjadinya nekrosis hati pada gambaran histopatologi hati. Data waktu kehepatotoksikan parasetamol dan kenaikan aktivitas GPT-serum dapat dilihat pada tabel II. (Yuningsih, 2003)

Tabel II. Aktivitas GPT-serum akibat pemberian parasetamol dosis 2,5g/kg BB.

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

Data dari tabel II dapat diperjelas dengan diagram aktivitas GPT-serum akibat pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB yang tersaji pada gambar 4.



Gambar 4. Diagram aktivitas GPT-serum setelah pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB pada tikus putih pada jam ke-24, 48 dan 72

Pada tabel II dan gambar 4, terlihat adanya kenaikan aktivitas GPT-serum pada jam ke-48, yaitu 1605 U/L. artinya, terjadi kerusakan hati pada jam ke-48 setelah pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB. Oleh sebab itu, jam ke-48 digunakan sebagai waktu hepatotoksik parasetamol dosis 2,5 g/kg BB yang maksimal.

2. Kisaran dosis hepatoprotektif infus herba pegagan

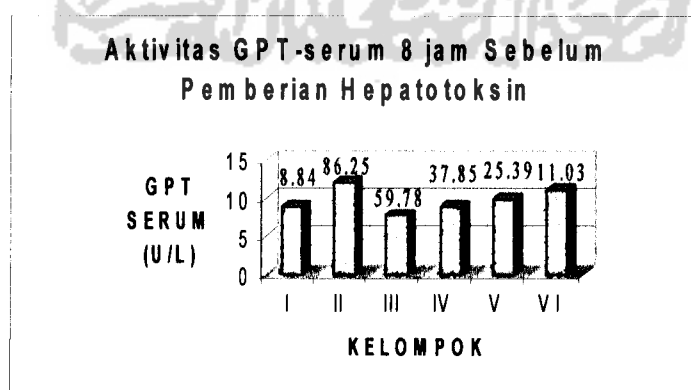
Penetapan kisaran dosis hepatoprotektif herba pegagan dilakukan untuk mencari kisaran dosis infus herba pegagan yang mampu memberikan penurunan aktivitas GPT-serum yang paling tinggi dibandingkan dengan aktivitas GPT-serum parasetamol. Kisaran dosis ini diperoleh dari dosis herba pegagan kering untuk manusia, yang kemudian dikonversi ke dalam dosis tikus dan dibuat dalam 4 peringkat dosis. Dosis sediaan uji yang diberikan yaitu 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/kg BB.

Penetapan kisaran dosis hepatoprotektif infus herba pegagan dilakukan dengan pemberian sediaan uji 8 jam sebelum pemberian hepatotoksin parasetamol dan pada jam ke-48 dilakukan pengukuran aktivitas enzim GPT-serum. Penetapan kisaran dosis hepatoprotektif didasarkan atas: (1) daya hambat infusa terhadap hepatotoksin parasetamol yang dinyatakan dalam persen, (2) daya hepatoprotektif, dan (3) analisis histologi sel-sel hati.

D. Hasil aktivitas GPT-serum

Tabel III. Data aktivitas GPT-serum tikus 8 jam sebelum pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB

No	Aktivitas GPT-serum (U/L)					
	Kontrol Aquadest	Kontrol Parasetamol	Pegagan 0,027 g/kg BB + Pct	Pegagan 0,054 g/kg BB + Pct	Pegagan 0,108 g/kg BB + Pct	Pegagan 0,216 g/kg BB + Pct
1	13,23	13,23	6,65	6,65	6,65	13,23
2	6,65	13,23	6,65	6,65	6,65	6,65
3	6,65	6,65	6,65	6,65	6,65	6,65
4	6,65	13,23	6,65	13,23	6,65	13,23
5	6,65	19,85	13,23	6,65	13,23	13,23
6	13,23	6,65	6,65	13,23	19,85	13,23
X±SE	8,84±3,39	12,14±4,96	7,74±2,68	8,84±3,39	9,94±5,51	11,03±9,75



Gambar 5. Diagram aktivitas GPT-serum tikus 8 jam sebelum pemberian hepatotoksin (Parasetamol dosis 2,5 g/kg BB)

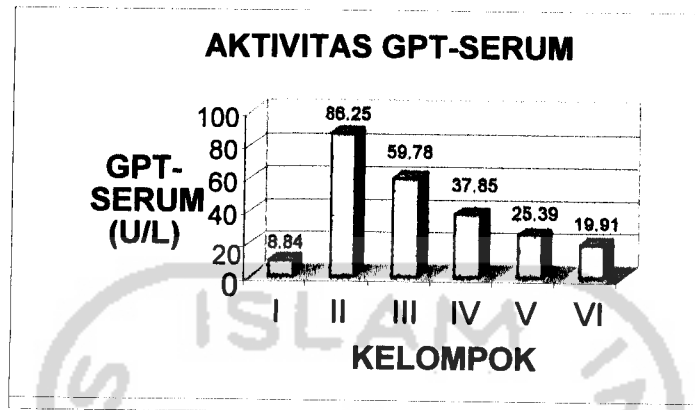
Hasil analisis aktivitas GPT-serum 8 jam sebelum pemberian parasetamol dosis toksik (2,5 g/kg BB) menunjukkan nilai yang hampir sama, baik antara kontrol aquades, kontrol parasetamol, maupun perlakuan infus herba pegagan (tabel III dan gambar 5). Ini dibuktikan dengan hasil analisis statistika ANAVA pola satu arah dan uji homogenitas varian (lampiran 8), diketahui bahwa aktivitas enzim GPT-serum pada keseluruhan kelompok pada kondisi normal (tanpa perlakuan hepatotoksin). Hasil uji Tukey menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$). Uji homogenitas menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p>0,05$), hal ini menunjukkan bahwa keseluruhan data aktivitas GPT-serum homogen dan terdistribusi normal.

Tabel IV. Data aktivitas GPT-serum tikus terangsang parasetamol setelah praperlakuan infus herba pegagan.

No	Aktivitas GPT-serum (U/L)					
	Kontrol Aquadest	Kontrol Parasetamol	Pegagan 0,027 g/kg BB + Pct	Pegagan 0,054 g/kg BB + Pct	Pegagan 0,108 g/kg BB + Pct	Pegagan 0,216 g/kg BB + Pct
1	13,23	79,69	69,65	42,76	29,80	13,23
2	6,65	92,94	46,65	40,08	26,47	23,23
3	6,65	89,71	72,80	33,85	23,23	19,85
4	6,65	86,05	54,32	33,85	23,23	23,23
5	13,23	89,71	68,65	33,85	29,80	19,85
6	6,65	79,42	46,65	42,76	19,85	16,67
X±SE	8,84±1,38	86,25±2,29	59,78±4,89	37,85±1,83	25,39±1,63	19,91±1,19

Rata-rata nilai aktivitas GPT-serum normal tikus (kelompok I) yang hanya diberi perlakuan aquades sebesar $8,84 \pm 1,38$ U/L. Smith (1988) menyebutkan bahwa nilai normal dari Alanin Transaminase (SGPT) tikus adalah tidak lebih dari 30,2 (U/L). Berarti nilai GPT-serum tikus kontrol aquades ini tidak melebihi

batas normal yang telah ditetapkan. Nilai GPT-serum untuk hepatoprotektif yang baik berkisar antara 20% sampai 80%.



Gambar 6. Diagram aktivitas GPT-serum tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan

Keterangan gambar:

- Kelompok 1 : kontrol aquadest
- Kelompok 2 : kontrol parasetamol dosis 2,5 g/kg BB
- Kelompok 3 : infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB
- Kelompok 4 : infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB
- Kelompok 5 : infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB
- Kelompok 6 : infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB

Kontrol parasetamol dosis 2,5 g/kg BB sebagai kontrol hepatotoksin. Pada tabel IV gambar 6, terlihat aktivitas GPT-serum tikus yang diberi senyawa hepatotoksin parasetamol dosis 2,5 g/kg BB, yaitu $86,25 \pm 2,29$ U/L. Berbeda dengan keadaan tersebut, kelompok I sebagai kontrol aquades aktivitas GPT-serumnya jauh lebih kecil, yaitu $8,84 \pm 1,38$ U/L. Hepatotoksin ini menunjukkan kondisi paling buruk dengan nilai aktivitas enzim GPT-serum tertinggi tanpa praperlakuan dengan infus herba pegagan.

Pemberian infus herba pegagan dengan dosis 0,027 g/kg BB nilai aktivitas GPT-serumnya $59,78 \pm 4,89$ hal ini jika dibandingkan dengan nilai GPT-serum

parasetamol terjadi penurunan aktivitas GPT-serum. Begitu juga, dengan seiring peningkatan dosis infus herba pegagan terhadap parasetamol terjadi penurunan nilai GPT-serum, di mana nilai penurunan aktivitas GPT-serum dosis 0,054; 0,0108; 0,216 g/kg BB berturut-turut sebesar $37,85 \pm 1,83$, $25,39 \pm 1,63$ dan $19,91 \pm 1,19$. Ini menjelaskan dengan pemberian infus herba pegagan terjadi penurunan nilai aktivitas GPT-serum, yang berarti infus herba pegagan dapat mengurangi terjadinya kerusakan hati.

Tabel V. Pengaruh perlakuan infus herba pegagan sekali sehari selama 6 hari terhadap kehepatotoksikan parasetamol dosis 2,5 g/kg BB, yang diukur pada saat kehepatotoksikan mencapai maksimal (48 jam setelah pemberian parasetamol) pada tikus.

Kelompok *	Perlakuan*	n	Kehepatotoksikan Parasetamol		
			Mean \pm SE (U/L)	% beda terhadap**	
				Kontrol Aquadest	Kontrol parasetamol
I	Kontrol Aquadest	6	$8,84 \pm 1,38$	-	(-)89,75% ^b
II	Parasetamol	6	$86,25 \pm 2,29$	(+)875,67% ^b	-
III	Pegagan- D=0,027+P	6	$59,78 \pm 4,89$	(+)576,24% ^b	(-)30,68% ^b
IV	Pegagan- D=0,054+P	6	$37,85 \pm 1,83$	(+)328,16% ^b	(-)56,11% ^b
V	Pegagan- D=0,108+P	6	$25,39 \pm 1,63$	(+)187,21% ^b	(-)70,56% ^b
VI	Pegagan- D=0,216+P	6	$19,91 \pm 1,19$	(+)125,22% ^b	(-)76,91% ^b

Keterangan:

* Kelompok I = diberi aquadest (kontrol aquadest),

Kelompok II = diberi perlakuan parasetamol dosis 2,5 g/kg BB,

Kelompok III-VI = diberi infus herba pegagan dosis berturut-turut 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/kg BB selama 6 hari berturut-turut, pada hari ke-7 diberi parasetamol, lalu 48 jam diambil darahnya.

** tb = berbeda tidak bermakna ($p > 0,05$);

b = berbeda bermakna ($p < 0,05$), perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel VI. Rangkuman hasil analisis GPT-serum tikus putih setelah perlakuan infus herba pegagan terinduksi parasetamol dengan uji tukey.

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	0,001	Berbeda bermakna
I-VI	0,045	Berbeda bermakna
II-III	0,000	Berbeda bermakna
II-IV	0,0000	Berbeda bermakna
II-V	0,0000	Berbeda bermakna
II-VI	0,0000	Berbeda bermakna
III-IV	0,0000	Berbeda bermakna
III-V	0,0000	Berbeda bermakna
III-VI	0,0000	Berbeda bermakna
IV-V	0,018	Berbeda bermakna
IV-VI	0,651	Tidak berbeda bermakna
V-VI	0,651	Tidak berbeda bermakna

Keterangan :

$p < 0,05$: berbeda bermakna

$p > 0,05$: tidak berbeda bermakna

I : Kontrol aquadest

II : Kontrol parasetamol dosis 2,5 g/kg BB

III : Infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB + parasetamol

IV : Infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB + parasetamol

V : Infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB + parasetamol

VI : Infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB + parasetamol

Persen perbedaan sediaan uji terhadap kontrol hepatotoksin menunjukkan perbedaan yang bermakna untuk semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Perbedaan yang bermakna menyatakan bahwa kerusakan hati karena hepatotoksin tanpa praperlakuan dengan infus herba pegagan menunjukkan kondisi paling buruk didukung dengan nilai aktivitas GPT-serum tertinggi. Besarnya nilai persen perbedaan menunjukkan daya hambat terhadap kehepatotoksikan parasetamol. Besarnya daya hambat untuk dosis 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/kg BB adalah 30,68%; 56,11%; 70,56%; 76,91% (Tabel V). Perbedaan terhadap kontrol aquadest dan kontrol parasetamol disajikan dalam Tabel V.

Daya hepatoprotektif pada dosis 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/kg BB adalah 34,19%; 62,52%; 78,62%; 85,69% (Tabel VII). Daya hepatoprotektif tertinggi dicapai pada dosis 0,216 g/kg BB.

Tabel VII. Daya hepatoprotektif infus herba pegagan pada tikus terangsang parasetamol

Dosis (g/kg BB)	Daya hepatoprotektif (%) \pm SD
0,027	34,19 % \pm 12,00
0,054	62,52 % \pm 4,49
0,108	78,62 % \pm 4,00
0,216	85,69 % \pm 2,93

Perbedaan yang bermakna menunjukkan bahwa praperlakuan sediaan uji pada dosis tersebut mampu menurunkan aktivitas enzim GPT-serum tikus terangsang parasetamol. Nilai daya hambat tertinggi dicapai pada dosis 0,216 g/kg BB. Temuan ini memperlihatkan bahwa sediaan uji mampu menghambat hepatotoksin parasetamol.

Pada tabel VI terlihat adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) secara keseluruhan antara kelompok I, III, IV, V, dan VI terhadap kelompok II, hal ini menunjukkan bahwa parasetamol menimbulkan kenaikan GPT-serum yang sangat tinggi dan menimbulkan gangguan fungsi hati bila dibandingkan dengan kelompok yang lain. Aktivitas GPT-serum kelompok I, III, IV, V, VI menunjukkan perbedaan yang cukup besar terhadap kelompok parasetamol. Artinya kelompok III, IV, V dan VI mampu menurunkan aktivitas GPT-serum yang terangsang parasetamol.

Kelompok III yang diberi infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB mampu menurunkan aktivitas GPT-serum menjadi lebih kecil dari kontrol hepatotoksin (parasetamol), turun menjadi $59,78 \pm 4,89$ U/L dengan efek hepatoprotektif sebesar 30,68%. Dari hasil uji tukey terlihat kelompok III menunjukkan penurunan yang bermakna terhadap kontrol hepatotoksin ($p < 0,05$). Terhadap kontrol aquadest terjadi peningkatan aktivitas GPT-serum yang bermakna ($p < 0,05$), seperti pada tabel VI. Ini berarti kelompok yang diberi infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB mampu mencegah dan menghambat peningkatan aktivitas GPT-serum.

Untuk kelompok IV, kelompok yang diberi perlakuan infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB mampu menurunkan aktivitas GPT-serum menjadi $37,85 \pm 1,83$ U/L dengan efek hepatoprotektif sebesar 56,11%. Hasil uji tukey kelompok IV menunjukkan bahwa infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB mampu menekan peningkatan aktivitas GPT-serum sehingga terjadi penurunan yang bermakna ($p < 0,05$) aktivitas GPT-serum terhadap kelompok parasetamol. Juga

terhadap kelompok kontrol aquadest menunjukkan peningkatan aktivitas GPT-serum yang bermakna (tabel VI).

Untuk kelompok V, aktivitas GPT-serum menjadi $25,39 \pm 1,63$ U/L setelah diberi perlakuan infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB dengan efek hepatoprotektif sebesar 70,56%. Hasil uji tukey kelompok V menunjukkan bahwa infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB mampu menekan peningkatan aktivitas GPT-serum sehingga terjadi penurunan yang bermakna ($p < 0,05$) aktivitas GPT-serum terhadap kelompok parasetamol. Terhadap kelompok kontrol aquadest terjadi peningkatan yang bermakna (tabel VI). Ini berarti infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB mampu mencegah dan menghambat peningkatan aktivitas GPT-serum.

Sedangkan untuk kelompok VI, terlihat sekali penurunan aktivitas GPT-serumnya menjadi $19,91 \pm 1,19$ U/L dengan efek hepatoprotektif sebesar 76,91% lebih kecil daripada aktivitas GPT-serum kontrol hepatotoksin, infus herba pegagan dosis 0,027; 0,054 dan 0,108 g/kg BB. Hasil uji tukey menunjukkan bahwa infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB mampu menekan peningkatan aktivitas GPT-serum sehingga terjadi penurunan yang bermakna ($p < 0,05$) aktivitas GPT-serum terhadap kelompok parasetamol. Terhadap kelompok kontrol aquadest menunjukkan peningkatan aktivitas GPT-serum yang bermakna (tabel VI). Ini berarti infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB mampu mencegah dan menghambat peningkatan aktivitas GPT-serum dibandingkan infus herba pegagan dosis 0,027; 0,054 dan 0,108 g/kg BB.

Jadi dapat disimpulkan bahwa infus herba pegagan dosis 0,027; 0,054 ; 0,108 dan 0,216 g/kg BB mampu menurunkan aktivitas GPT-serum. Artinya infus herba pegagan dosis 0,027; 0,054 ; 0,108 dan 0,216 g/kg BB mampu memberikan efek hepatoprotektif. Nilai Mean aktivitas GPT-serum infus herba pegagan dosis 0,027; 0,054 ; 0,108 dan 0,216 g/kg BB berturut- turut sebesar 59,78 U/L dengan daya hepatoprotektif 34,19%; 37,85 U/L dengan daya hepatoprotektif 62,52%; 25,39 U/L dengan daya hepatoprotektif 78,62%; 19,91 U/L dengan daya hepatoprotektif 85,69%. Untuk dosis 0,027 g/kg BB (kelompok III) aktivitas GPT-serumnya lebih tinggi dibandingkan dengan ke-3 dosis infus herba pegagan yang lain sedangkan pada infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB aktivitas GPT-serum lebih kecil hal ini kemungkinan disebabkan oleh jumlah antioksidan optimal sehingga aktivitas GPT-serum lebih kecil dibandingkan dosis lain.

E. Hasil pemeriksaan histologi sel-sel hati tikus.

Analisis histologi sel-sel hati dilakukan untuk mengetahui keadaan mikroskopi sel hati setelah pemberian hepatotoksin (parasetamol) dan pengaruh perlakuan dengan infus herba pegagan. Gambaran histologi sel-sel hati dapat dijadikan petunjuk sejauh mana daya hepatoprotektif infus herba pegagan untuk memperkuat analisis dengan aktivitas enzim GPT-serum. Kenaikan aktivitas enzim GPT-serum juga bisa diakibatkan oleh perubahan permeabilitas membran sel yang disebabkan oleh anoksia, sehingga dengan pemeriksaan mikroskopi sel-sel hati dapat diketahui penyebab kenaikan aktivitas enzim GPT-serum. Hasil analisis sel hati disajikan dalam bentuk foto mikroskopis.

Dari hasil analisis histologi sel-sel hati nampak bahwa praperlakuan infus herba pegagan mampu menurunkan tingkat nekrosis sel hati sesuai dengan kenaikan dosis. Nekrosis sel hati akibat hepatotoksin bersifat zonal karena kerusakan terjadi pada sebagian sel-sel hati

Pada keadaan normal (dosis terapi) parasetamol dimetabolisme dan membentuk konjugasi dengan asam sulfat dan glukoronida dan sisanya dimetabolisme menjadi metabolit toksik yang didetoksifikasi dengan cara konjugasi dengan glutathion. Jika jumlah glutathion berkurang atau jumlah parasetamol berlebih maka metabolit toksik akan berikatan dengan makromolekul sel hati dan menyebabkan nekrosis sentrolobular dengan sedikit degenerasi melemak dan peradangan dan ditandai secara biokimiawi dengan naiknya aktivitas enzim GPT-serum, karena permeabilitas membran sel berubah sehingga enzim dan sitosol bocor dan masuk ke aliran darah. Nekrosis sel hati pada daerah sentrolobular terjadi karena sitokrom P-450 dihasilkan oleh organella sitosom yang terdapat di daerah sentrolobular, selain itu pada daerah sentrolobular juga menerima sisa metabolisme dari daerah midzonal dan periportal.

Tabel VIII. Hasil pengamatan mikroskopis sel hati tikus yang diberi praperlakuan infus herba pegagan.

KELOMPOK	PERUBAHAN YANG TERJADI
Kontrol aquades	Tidak ada perubahan, Sel hati tampak normal, hepatosit tampak baik. Tampak sel hati yang tersusun dari lobulus yang letaknya tersusun radier. Terdapat sedikit infiltrasi mononuklear di daerah periportal.

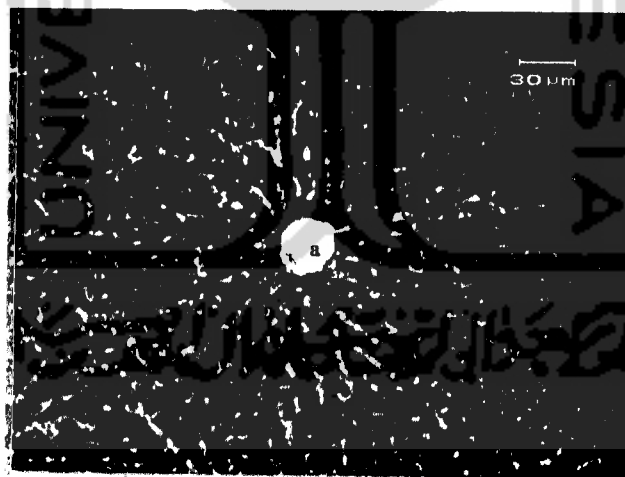
Tabel VIII. (lanjutan)	
Parasetamol dosis 2,5 g/kg BB	Nekrosis sentrolobular tipe zona +3. terjadi pembengkakan hepatosit disertai penyempitan sinusoid, infiltrasi sel mononuclear di jaringan interlobular terutama di daerah periportal. Hepatosit tidak tersusun radier. Di daerah periportal terdapat nekrosis disertai hemoragi
Infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB + Parasetamol	Nekrosis sentrolobular tipe zonal +2. Disertai infiltrasi sel mononuklear, pembengkakan hepatosit.
Infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB + Parasetamol	Nekrosis sentrolobular tipe zonal +2 Terdapat infiltrasi mononuklear
Infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB + Parasetamol	Nekrosis sentrolobular tipe zonal +1 Infiltrasi mononuclear di periportal, terdapat fokal nekrosis diperifer
Infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB + Parasetamol	Nekrosis sentrolobular tipe zonal +1 Infiltrasi ringan mononuklear di periportal

Keterangan:

Nekrosis sentrolobular (+++) = $60\% \leq x \leq 80\%$

Nekrosis sentrolobular (++) = $30\% \leq x \leq 60\%$

Nekrosis sentrolobular (+) = $10\% < x \leq 30\%$.



Gambar 7. Fotomikroskopi sel hati tikus yang diberi aquades sebagai kontrol aquades (HE,10x10) .

Keterangan: a. Vena sentralis b. Inti sel c. Sinusoid.

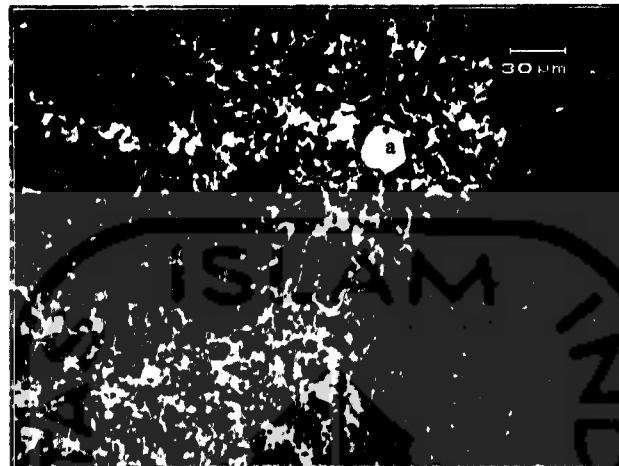
Pada gambar 7, terlihat bahwa kelompok I (kontrol aquades) mempunyai aktivitas GPT-serum dan derajat kerusakan sel hati yang normal, hepatosit tampak

Secara statistika kenaikan nilai enzim GPT-serum kontrol parasetamol (kelompok II) menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0.05$) seperti pada tabel VI. Begitu pula dengan gambar 6, kelompok II memiliki aktivitas GPT-serum yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok yang lain. Peningkatan aktivitas GPT-serum ini menunjukkan adanya gangguan fungsi hati akibat hepatotoksin parasetamol.

Kelompok III, IV, V, dan VI diberi infus herba pegagan dosis 0,027; 0,054; 0,108; 0,216 g/kg BB selama 6 hari berturut-turut dan hari ke-8 diberi parasetamol. Berdasarkan analisis statistika Anava pola satu arah dan uji homogenitas varian diketahui bahwa aktivitas enzim GPT-serum pada keseluruhan kelompok pada kondisi normal, menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Uji homogenitas menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa data aktivitas enzim GPT-serum terdistribusi normal namun tidak homogen sehingga dilakukan transformasi data Welch agar variansinya sama (lampiran 9). Nilai aktivitas enzim GPT-serum hewan uji pada kelompok normal yang memberikan nilai yang tidak homogen menunjukkan kondisi fisiologi hewan uji yang tidak seragam.

Data aktivitas enzim GPT-serum dihitung perbedaannya terhadap kontrol parasetamol dan kontrol aquadest. Perbedaannya dinyatakan dalam persen. Daya hepatoprotektif dosis uji dihitung dari perbandingan nilai selisih aktivitas enzim GPT-serum hepatotoksin dan dosis uji serta selisih nilai aktivitas enzim GPT-serum hepatotoksin dan kontrol aquadest. Daya hepatoprotektif dinyatakan dalam persen.

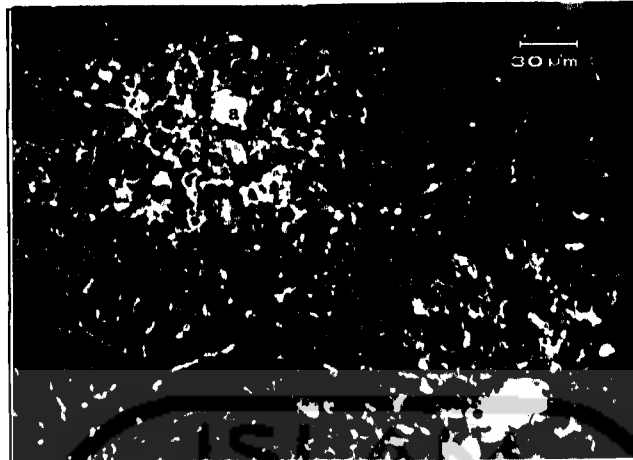
baik. Tampak sel hati yang tersusun dari lobulus yang letaknya tersusun radier. Terdapat sedikit infiltrasi mononuklear di daerah periportal.



Gambar 8. Fotomikroskopi sel hati tikus setelah pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB (HE,20x10)

Keterangan: a. Vena sentralis b. Nekrosis sentrolobular

Kelompok II (kontrol parasetamol) dari gambaran histopatologi hati tikus seperti terlihat pada gambar 8, menunjukkan adanya kerusakan sel hati berupa nekrosis sentrolobular tipe zonal, 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. Pemberian parasetamol dosis toksik menyebabkan nekrosis sentrolobular yang sangat parah sebesar 60%-80% dari luas permukaan dalam satu irisan sel hati.



Gambar 9. Fotomikroskopi sel hati tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB (HE,40x10)
Keterangan: a. Vena sentralis b. Nekrosis sentrolobular

Kelompok III (dosis 0,027 g/kg BB) dari gambaran histopatologi hati tikus seperti terlihat pada gambar 9 menunjukkan adanya nekrosis sentrolobular tipe zonal. Disertai infiltrasi sel mononuklear, pembengkakan hepatosit.



Gambar 10. Fotomikroskopi sel hati tikus terangsang parasetamol setelah perlakuan infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB (HE,20x10).
Keterangan: a. Vena sentralis b. Nekrosis sentrolobular

Kelompok IV (dosis 0,054 g/kg BB) dari gambaran histopatologi hati tikus seperti terlihat pada gambar 10, menunjukkan adanya nekrosis sentrolobular tipe zonal +2. Terdapat infiltrasi mononuklear.

4. Praperlakuan infusa *Centella asiatica*, Urb dengan pemberian dosis berulang untuk mengetahui nilai optimal kisaran dosis hepatoprotektif.
5. Perlakuan dengan infus *Centella asiatica*, Urb menggunakan dosis yang lebih besar dari 0,216 g/kg BB.
6. Pengembangan penelitian dengan menggunakan ekstraksi dari infusa herba pegagan yang telah dilakukan.



DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, M., 1975, Evaluasi Beberapa Pemeriksaan Laboratorium pada Penyakit Hati, *Simposium Mengenai Penyakit-Penyakit Hati*, Bagian Patologi Klinik, Bagian Penyakit Dalam, FK UNDIP, Rumah Sakit Dr. Kariadi, Semarang, 42-44.
- Anonim, 1986, *Index Tumbuh-tumbuhan Obat di Indonesia*, PT Eisai Indonesia, Jakarta, 236.
- Anonim, 1995 a, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Editor M Aslam, Chik Kaw Tan, Adji Prayitno, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 214.
- Anonim, 1995 b, *Ilmu Resep Teori Untuk Sekolah Menengah Farmasi*, Jilid II, Departemen Kesehatan Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan, Surabaya, 82-3.
- Anonim, 1998, *PDR for Herbal Medicines*, Edisi I, Medical Economics Company, Montvale, New Jersey, 729-30.
- Anonim, 2003, *Farmasi Klinis*, Universitas Surabaya, Surabaya, 155 – 61.
- Anonim, 2004 a, *Aneka Ramuan Pengusir Kanker*, 28 Juni 2004, <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/0704/01/cakrawala/lainnya03.htm>, (Diakses 16 Desember 2004).
- Anonim, 2004 b, *Berikan Perhatian pada Hati Anda*, <http://www.prodia.co.id/info/html> (diakses 14 Oktober 2004).
- Anonim, 2004 c, *GPT-ALAT*, <http://www.tulipgroup.com/Crest/profile.htm> available at <http://www.google.com>.
- Anonim, 2004 d, *Kesehatan - Pegagan Pengganti Ginko Biloba* <http://www.vision.net.id/detsil.php?id=2517>, 01 Jul 2004, (Diakses 16-12-2004).
- Anonim, 2004 e, *Khasiat Daun Pinduh/ Kaki Kuda (Centella asiatica)* http://www.iloveblue.com/bali_gaul_funky/artikel_bali/detail/203.htm. (diakses 14 Oktober 2004).
- Anonim, 2004 f, *Pegagan (Centella asiatica, Urban)* http://www.asiamaya.com/jamu/isi/pegagan_centellaasiatica.htm, (Diakses 14 Oktober 2004).

- Anonim, 2004 g, *Penjelasan Tes Fungsi Hati*, Artikel, Arsip Warta Aids, <http://www.google.com> (Diakses 28 Desember 2004).
- Anonim, 2005, <file:///D:/New%20Folder/NEJM%20--20Drug-Induced%20Hepatotoxicity.htm>.
- Ariens, E., J., Mutschler, E., Simonis, A.M., 1993, *Toksikologi Umum*, diterjemahkan oleh Yoke R.W., Mathilda B.W., Elin Yulinah S., editor Kosasih Padmawinata, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 134-5.
- Backer, C.A., and Van den Brink, R.C., 1965, *Flora of Java*, Volume II, N.V.P, Nordhoff, Groninger, Netherland, 171. 173.
- Benjamin, M. M., 1978, *Outline of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd edition. The Iowa State University Press. Ames. Iowa, USA. Pp. 243.
- Cheville, N.F, 1976, *Cell Pathology*, 1st ed, The Iowa State of University Press ames, Iowa, 15-17, 55-61.
- Dalimartha, S, 1999, *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Hepatitis*, 3, Penebar Swadaya, Jakarta, 1-3.
- Dalimartha, S, 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 2, 1, Trubus agriwidya, Jakarta, 149-55.
- Darmawan, S, 1983, *Hati dan Saluran Empedu dalam patologi*, penyunting Himawan, Bagian Patologi anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 226-31.
- Darmansjah, I., 2004, *Parasetamol dan nekrosis hati*, Medical article, <http://www.iwandarmansjah.web.id/> (Diakses 10 Desember).
- 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.

- Donatus, I.A., 1995, Hati, Dalam Suryawati, S., (Eds.) *Efek Samping Obat*, Edisi 2, Pusat Studi Farmakologi Klinik dan Kebijakan Obat Universitas Gajah Mada, 85-98.
- 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.
- Duncan, H. R., and Carlyle, J. T., 1983, *Veterinary Pathology*. 5th edition. Lea and Febiger, Philadelphia. Pp. 851-853.
- Handra. H, 2004, *Pegagan, Tumbuhan Terlupakan Kaya Manfaat Anti-"cellulite"* http://www.kompas.com/kompas_cetak/0404/02/ilpeng/948005.htm (Diakses 16 Desember 2004).
- Klatskin, G., 1975, Toxic and Induced Hepatitis in Schiff, L., (Ed), *Diseases of The Liver*, 4th ed, J.B. Lippincot Co., Philadelphia, 604-688.
- Kramer, J. W., 1989. *Clinical Enzymology in Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th edition. Academic Press Inc., California. P. 352.
- Laurence, D. R., and A. L. Bacharach., 1964. Evaluation of Drug Activities. Academic Press. London. P. 117.
- Lu, F.C, 1995, *Toksikologi Dasar, Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*, terjemahan Edi Nugroho, Edisi ke II, 206-8, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Manan, 2003, *pegagan, Obat Lepra dan Ginjal*, <http://www.suaramerdeka.com/ragam/html.at> <http://www.google.com>. (diakses 31 Desember 2004).
- Mitruka, B. M. and Rawsley, H. M., 1981. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental of Humans*. 2nd edition. Distributed by Year Book Medical Publishers Inc East Wacker Drive, Chicago. Pp. 226-8.
- Noer, H. S., 1987, Fisiologi dan Pemeriksaan Biokimia Hati, *Ilmu Penyakit Dalam*, Jilid 1, Edisi II, Balai Penerbit FK UI, Jakarta, 541-46.
- Plaa, G. L., 1975, Toxicology of the Liver, M Cassareh, L. J., and Doull, J., *Toxicology The Basic Science of Poison*, Macmillan Publishing Co, Inc., New York, 171-79.

- Robbins, S.L., dan Kuma, V., 1995, *Basic Pathology*, diterjemahkan oleh staf pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Ed 4, 299-350, Jakarta.
- 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, Jogjakarta.
- Setiabudiy, 1979, Hepatitis Karena Obat, *Cermin Dunia Kedokteran*, 15: 8-12.
- Smith., J.B. dan Mangkowidjojo, S., 1988, Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis, UI Press, 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.
- Tjay,T.H., 2000, *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek sampingnya*, Ed V, PT.Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta, 292-8.
- Tjitrosoepomo, G., 1993, Taksonomi Umum, Dasar-Dasar Taksonomi Tumbuhan, Universitas Gajah Mada, Jogjakarta, 44, 46-7.
- Winarto W.P. dan Surbakti M., 2003, *Khasiat dan Manfaat Pegagan, Tanaman Penambah Daya Ingat*, 1, P.T. AgroMedia Pustaka, Depok, v, 2-5.
- Yogha, 2004, *Efektifitas Tanaman Obat untuk Pencegahan dan Pengobatan Kanker Saluran Napas*, Sumber: Majalah Herba, <http://www.ixoranet.com/modules.php?op=modload&name=News&file=article&sid=11&POSTNUKESID=77f83d6d4c2b68d85c5e39f103b5d598>, (diakses 16 Desember 2004).
- Yuningsih,Y., 2003, Uji efek hepatoprotektif infus daun teh (*Camellia sinensis*, (L).O.K) pada tikus jantan terangsang parasetamol, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, Jogjakarta.
- Zimmerman,H.J, 1978, *Hepatotoxicity the Adverse Effect of Drugs and Other Chemical on the Liver*, Appleton Century forts, New York, 46-51, 93-101, 169-71, 178-79, 225-27, 236-37, 259,

Lampiran 1**Foto tanaman herba pegagan (*Centella asiatica*, Urb)**

Lampiran 2

**Surat keterangan determinasi tanaman herba pegagan
(*Centella asiatica*, Urb)**

SURAT KETERANGAN DETERMINASI

Nama : *Centella asiatica* Urb.

Suku : Umbelliferae

Hasil determinasi C. A. Backer (1968):

1b_18b_19b_20b _____ *Centella*

1 _____ *Centella asiatica* Urb.

Deskripsi tanaman :

Habitus: herba, tahunan, menjalar, panjang ± 10 m. Batang: tidak berbatang. Daun: tunggal, tersusun dalam roset akar, dua sampai sepuluh, bentuk ginjal, pangkal membulat, tepi beringgit, diameter 1-7 cm, pertulangan menyirip, tangkai 1-5 cm, hijau. Bunga: majemuk, bentuk payung, di ketiak daun, tangkai ± 3 cm, daun pelindung dua, bulat telur, panjang ± 2 mm, hijau kekuningan, mahkota bentuk terompet, panjang ± 1,5 cm, lebar ± 8 mm, biru muda. Buah: pipih, berlekuk dua, berusuk, ungu kecoklatan. Akar: tunggang, bulat, putih.

Tawangmangu, April 2005

Kepala Instalasi
Simplisia Herbaria dan Koleksi


Drs. Katno

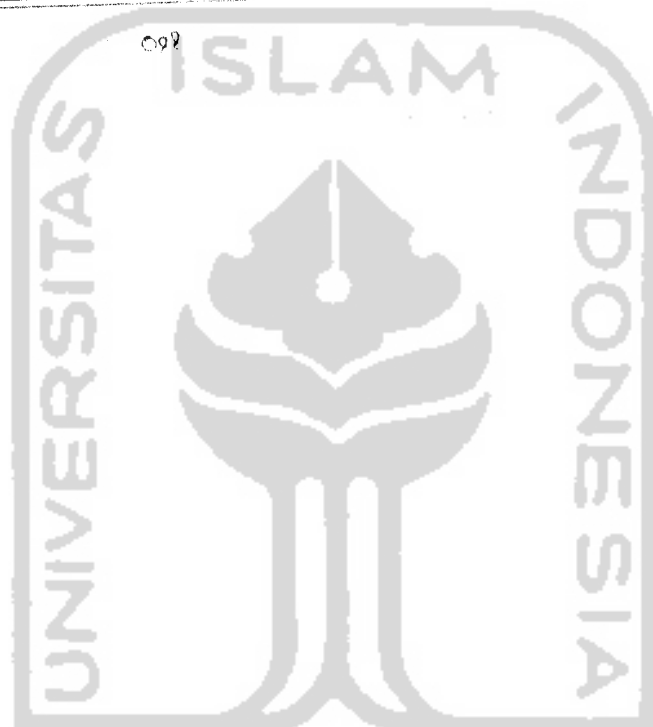
NIP. 140 168949

Lampiran 3

Surat Keterangan Selesai 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



[Handwritten signature]



Lampiran 4

Surat keterangan keaslian hewan uji tikus putih galur Wistar



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

Kabid LP3HP

Dra. Mulyati S, M.Si.

NIP : 131453920

Lampiran 5

Perhitungan Dosis dan Stock Infus Herba Pegagan

Dosis herba pegagan kering untuk manusia adalah 0,6 g

Konversi dari dosis manusia 70 kg ke tikus 200 g = 0,6 g x 0,018 g

$$= 0,0108 \text{ g}/200 \text{ g}$$

Dosis yang digunakan untuk tikus adalah infus herba pegagan = 0,0108 g/200 g

$$= 0,054 \text{ g}/\text{kg BB}$$

Variasi dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah infus herba pegagan:

Dosis I = 0,027 g/ kg BB

Dosis II = 0,054 g/kg BB

Dosis III = 0,108 g/ kg BB

Dosis IV = 0,216 g/ kg BB

Stok dosis infus herba pegagan yang dipakai = 0,054 g/kg BB

$$= 0,054 \text{ g}/ 2 \text{ ml}$$

$$= 2,7 \text{ g}/ 100 \text{ ml.}$$

Lampiran 6

Analisis Aktivitas GPT-serum Menurut Metode Internasional Federation of Clinical Chemistry (IFCC)

1. Komponen dan konsentrasi:

- a. R₁: Larutan TRIS pH7,15 100 mmol/L
L-Alanin 500 mmol/L, 3
LDH (lactate dehidrogenase) ≥1700 U/L.
- b. R₂ 2-Oxaloglutarat 15 mmol/L
NADH 0,18 mmol/L

2. Pengoperasian

- a. Panjang gelombang: 340 nm
b. Suhu: 37°C
c. Operating time: 1 menit
d. Waktu pengukuran: penurunan aktivitas setelah 3 menit
e. Faktor: 1746.

Lampiran 7

Surat keterangan pembacaan histologi sel-sel hati

Kelompok	Hasil Pengamatan
Kelompok I (kontrol Aquades)	Tidak ada perubahan, Sel hati tampak normal, hepatosit tampak baik. Tampak sel hati yang tersusun dari lobulus yang letaknya tersusun radier. Terdapat sedikit infiltrasi mononuklear didaerah periportal.
Kelompok II (kontrol Parasetamol)	Nekrosis sentrolobular tipe zonal + 3. Terjadi pembengkakan hepatosit disertai penyempitan sinusoid, infiltrasi sel mononuklear di jaringan interlobular terutama didaerah periportal. Hepatosit tidak tersusun radier. Didaerah periportal terdapat nekrosis disertai hemoragi.
Kelompok III (praperlakuan pegagan dosis g/ kgBB)	Nekrosis sentrolobular tipe zonal + 2. Disertai infiltrasi sel mononuklear, pembengkakan hepatosit,
Kelompok IV (praperlakuan pegagan dosis g/ kgBB)	Nekrosis sentrolobular tipe zonal + 2 Terdapat infiltrasi mononuklear
Kelompok V (praperlakuan pegagan dosis g/ kgBB)	Nekrosis sentrolobular tipe zonal + 1 Infiltrasi mononuklear diperportal, terdapat fokal nekrosis diperifer.
Kelompok VI (praperlakuan pegagan dosis g/ kgBB)	Nekrosis sentrolobular +1 Infiltrasi ringan mononuklear di periportal,

Lab. Patologi Klinik
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Gadjah Mada

(.....)

Lampiran 8

Hasil analisis statistika praperlakuan infus herba pegagan pada tikus putih
8 jam sebelum pemberian parasetamol dosis 2,5 g/kg BB

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SGPT	Dosis
N		36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	9.7594	3.5000
	Std. Deviation	4.01163	1.73205
Most Extreme Differences	Absolute	.364	.140
	Positive	.364	.140
	Negative	-.223	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		2.185	.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000	.480

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					kontrol aquades	6		
kontrol parasetamol	6	12.1400	4.96565	2.02722	6.9289	17.3511	6.65	19.85
dosis 0,027 g/kgBB	6	7.7467	2.68627	1.09667	4.9276	10.5657	6.65	13.23
dosis 0,054 g/kgBB	6	8.8433	3.39790	1.38719	5.2775	12.4092	6.65	13.23
dosis 0,108 g/kgBB	6	9.9467	5.51957	2.25336	4.1542	15.7391	6.65	19.85
dosis 0,216 g/kgBB	6	11.0367	3.39790	1.38719	7.4708	14.6025	6.65	13.23
Total	36	9.7594	4.01163	.66861	8.4021	11.1168	6.65	19.85

Test of Homogeneity of Variances

SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.163	5	30	.350

ANOVA

SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78.379	5	15.676	.970	.452
Within Groups	484.883	30	16.163		
Total	563.262	35			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: SGPT

Tukey HSD

(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol aquades	kontrol parasetamo	-3.29667	2.32112	.715	-10.3566	3.7632
	dosis 0,027 g/kgBB	1.09667	2.32112	.997	-5.9632	8.1566
	dosis 0,054 g/kgBB	.00000	2.32112	1.000	-7.0599	7.0599
	dosis 0,108 g/kgBB	-1.10333	2.32112	.997	-8.1632	5.9566
	dosis 0,216 g/kgBB	-2.19333	2.32112	.931	-9.2532	4.8666
kontrol parasetamo	kontrol aquades	3.29667	2.32112	.715	-3.7632	10.3566
	dosis 0,027 g/kgBB	4.39333	2.32112	.426	-2.6666	11.4532
	dosis 0,054 g/kgBB	3.29667	2.32112	.715	-3.7632	10.3566
	dosis 0,108 g/kgBB	2.19333	2.32112	.931	-4.8666	9.2532
	dosis 0,216 g/kgBB	1.10333	2.32112	.997	-5.9566	8.1632
dosis 0,027 g/kgBB	kontrol aquades	-1.09667	2.32112	.997	-8.1566	5.9632
	kontrol parasetamo	-4.39333	2.32112	.426	-11.4532	2.6666
	dosis 0,054 g/kgBB	-1.09667	2.32112	.997	-8.1566	5.9632
	dosis 0,108 g/kgBB	-2.20000	2.32112	.930	-9.2599	4.8599
	dosis 0,216 g/kgBB	-3.29000	2.32112	.716	-10.3499	3.7699
dosis 0,054 g/kgBB	kontrol aquades	.00000	2.32112	1.000	-7.0599	7.0599
	kontrol parasetamo	-3.29667	2.32112	.715	-10.3566	3.7632
	dosis 0,027 g/kgBB	1.09667	2.32112	.997	-5.9632	8.1566
	dosis 0,108 g/kgBB	-1.10333	2.32112	.997	-8.1632	5.9566
	dosis 0,216 g/kgBB	-2.19333	2.32112	.931	-9.2532	4.8666
dosis 0,108 g/kgBB	kontrol aquades	1.10333	2.32112	.997	-5.9566	8.1632
	kontrol parasetamo	-2.19333	2.32112	.931	-9.2532	4.8666
	dosis 0,027 g/kgBB	2.20000	2.32112	.930	-4.8599	9.2599
	dosis 0,054 g/kgBB	1.10333	2.32112	.997	-5.9566	8.1632
	dosis 0,216 g/kgBB	-1.09000	2.32112	.997	-8.1499	5.9699
dosis 0,216 g/kgBB	kontrol aquades	2.19333	2.32112	.931	-4.8666	9.2532
	kontrol parasetamo	-1.10333	2.32112	.997	-8.1632	5.9566
	dosis 0,027 g/kgBB	3.29000	2.32112	.716	-3.7699	10.3499
	dosis 0,054 g/kgBB	2.19333	2.32112	.931	-4.8666	9.2532
	dosis 0,108 g/kgBB	1.09000	2.32112	.997	-5.9699	8.1499

Homogeneous Subsets

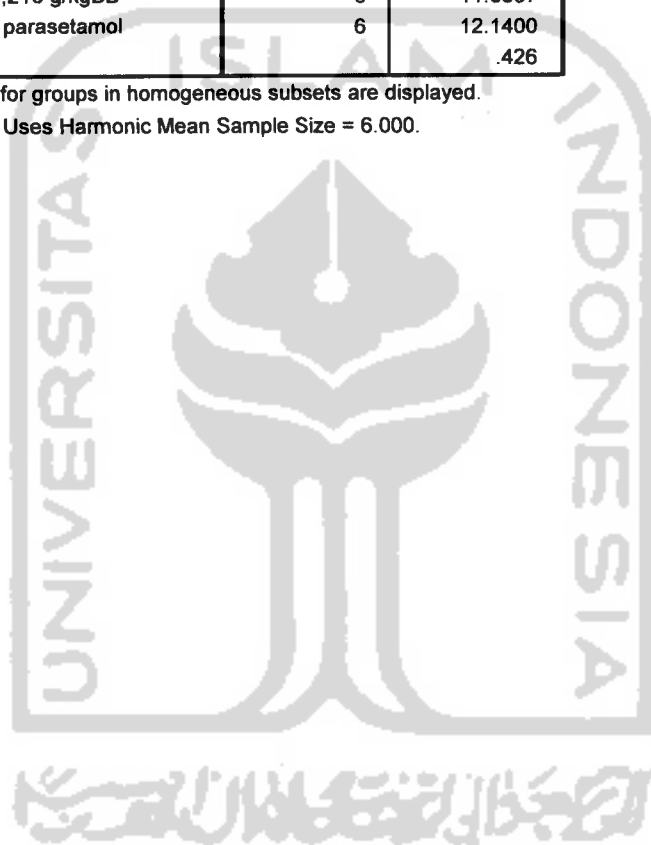
SGPT

Tukey HSD ^a

Dosis	N	Subset for alpha = .05
		1
dosis 0,027 g/kgBB	6	7.7467
kontrol aquades	6	8.8433
dosis 0,054 g/kgBB	6	8.8433
dosis 0,108 g/kgBB	6	9.9467
dosis 0,216 g/kgBB	6	11.0367
kontrol parasetamol	6	12.1400
Sig.		.426

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



Lampiran 9

Hasil analisis statistik praperlakuan infus herba pegagan pada tikus putih yang terinduksi parasetamol

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Data_SGPT	Perlakuan
N		36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	39.6758	3.5000
	Std. Deviation	27.19965	1.73205
Most Extreme Differences	Absolute	.168	.140
	Positive	.168	.140
	Negative	-.112	-.140
Kolmogorov-Smirnov Z		1.009	.841
Asymp. Sig. (2-tailed)		.261	.480

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Data_SGPT

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol aquadest	6	8.8433	3.39790	1.38719	5.2775	12.4092	6.65	13.23
kontrol parasetamol	6	86.2533	5.62889	2.29798	80.3462	92.1605	79.42	92.94
dosis 0,027 g/kg BB	6	59.7867	12.00183	4.89973	47.1915	72.3818	46.65	72.80
dosis 0,054 g/kg BB	6	37.8583	4.49864	1.83656	33.1373	42.5794	33.85	42.76
dosis 0,108 g/kg BB	6	25.3967	4.00213	1.63386	21.1967	29.5966	19.85	29.80
dosis 0,216 g/kg BB	6	19.9167	2.93418	1.19787	16.8374	22.9959	16.67	23.23
Total	36	39.6758	27.19965	4.53328	30.4728	48.8789	6.65	92.94

Test of Homogeneity of Variances

Data_SGPT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
13.488	5	30	.000

ANOVA

Data_SGPT

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24733.049	5	4946.610	127.853	.000
Within Groups	1160.690	30	38.690		
Total	25893.739	35			

Robust Tests of Equality of Means

Data SGPT

	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	159.481	5	13.798	.000

a. Asymptotically F distributed.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Data_SGPT

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol aquadest	kontrol parasetamol	-77.41000*	3.59118	.000	-88.3329	-66.4871
	dosis 0,027 g/kg BB	-50.94333*	3.59118	.000	-61.8662	-40.0204
	dosis 0,054 g/kg BB	-29.01500*	3.59118	.000	-39.9379	-18.0921
	dosis 0,108 g/kg BB	-16.55333*	3.59118	.001	-27.4762	-5.6304
	dosis 0,216 g/kg BB	-11.07333*	3.59118	.045	-21.9962	-1.1504
kontrol parasetamol	kontrol aquadest	77.41000*	3.59118	.000	66.4871	88.3329
	dosis 0,027 g/kg BB	26.46667*	3.59118	.000	15.5438	37.3896
	dosis 0,054 g/kg BB	48.39500*	3.59118	.000	37.4721	59.3179
	dosis 0,108 g/kg BB	60.85667*	3.59118	.000	49.9338	71.7796
	dosis 0,216 g/kg BB	66.33667*	3.59118	.000	55.4138	77.2596
dosis 0,027 g/kg BB	kontrol aquadest	50.94333*	3.59118	.000	40.0204	61.8662
	kontrol parasetamol	-26.46667*	3.59118	.000	-37.3896	-15.5438
	dosis 0,054 g/kg BB	21.92833*	3.59118	.000	11.0054	32.8512
	dosis 0,108 g/kg BB	34.39000*	3.59118	.000	23.4671	45.3129
	dosis 0,216 g/kg BB	39.87000*	3.59118	.000	28.9471	50.7929
dosis 0,054 g/kg BB	kontrol aquadest	29.01500*	3.59118	.000	18.0921	39.9379
	kontrol parasetamol	-48.39500*	3.59118	.000	-59.3179	-37.4721
	dosis 0,027 g/kg BB	-21.92833*	3.59118	.000	-32.8512	-11.0054
	dosis 0,108 g/kg BB	12.46167*	3.59118	.018	1.5388	23.3846
	dosis 0,216 g/kg BB	17.94167*	3.59118	.000	7.0188	28.8646
dosis 0,108 g/kg BB	kontrol aquadest	16.55333*	3.59118	.001	5.6304	27.4762
	kontrol parasetamol	-60.85667*	3.59118	.000	-71.7796	-49.9338
	dosis 0,027 g/kg BB	-34.39000*	3.59118	.000	-45.3129	-23.4671
	dosis 0,054 g/kg BB	-12.46167*	3.59118	.018	-23.3846	-1.5388
	dosis 0,216 g/kg BB	5.48000	3.59118	.651	-5.4429	16.4029
dosis 0,216 g/kg BB	kontrol aquadest	11.07333*	3.59118	.045	1.1504	21.9962
	kontrol parasetamol	-66.33667*	3.59118	.000	-77.2596	-55.4138
	dosis 0,027 g/kg BB	-39.87000*	3.59118	.000	-50.7929	-28.9471
	dosis 0,054 g/kg BB	-17.94167*	3.59118	.000	-28.8646	-7.0188
	dosis 0,108 g/kg BB	-5.48000	3.59118	.651	-16.4029	5.4429

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

Homogeneous Subsets

Data_SGPT

Tukey HSD ^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
kontrol aquadest	6	8.8433				
dosis 0,216 g/kg BB	6		19.9167			
dosis 0,108 g/kg BB	6		25.3967			
dosis 0,054 g/kg BB	6			37.8583		
dosis 0,027 g/kg BB	6				59.7867	
kontrol parasetamol	6					86.2533
Sig.		1.000	.651	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



Lampiran 10

Rangkuman hasil analisis skoring dengan uji tukey

Kelompok yang dibandingkan	I	II	III	IV	V	VI
I	+	+	+	+	+	+
II	+	+	+	+	+	+
III	+	+	+	+	+	+
IV	+	+	+	+	+	+
V	+	+	+	+	+	-
VI	+	+	+	+	-	+

Keterangan :

- + : berbeda bermakna
- : tidak berbeda bermakna

I : Kontrol aquadest

II : Kontrol parasetamol dosis 2,5 g/kg BB

III : Infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB + parasetamol

IV : Infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB + parasetamol

V : Infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB + parasetamol

VI : Infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB + parasetamol

Lampiran 11

Perhitungan daya hepatoprotektif infus herba pegagan dari tabel

$$\begin{aligned}
 1. \text{ \% Daya hepatoprotektif} &= \frac{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. III}}{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. I}} \times 100\% \\
 &= \frac{86,25 - 59,78}{86,25 - 8,84} \times 100\% \\
 &= 34,19 \% \\
 2. \text{ \% Daya hepatoprotektif} &= \frac{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. IV}}{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. I}} \times 100\% \\
 &= \frac{86,25 - 37,85}{86,25 - 8,84} \times 100\% \\
 &= 62,52 \% \\
 3. \text{ \% Daya hepatoprotektif} &= \frac{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. V}}{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. I}} \times 100\% \\
 &= \frac{86,25 - 25,39}{86,25 - 8,84} \times 100\% \\
 &= 78,62 \% \\
 4. \text{ \% Daya hepatoprotektif} &= \frac{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. VI}}{\text{SGPT kel. II} - \text{SGPT kel. I}} \times 100\% \\
 &= \frac{86,25 - 19,91}{86,25 - 8,84} \times 100\% \\
 &= 85,69 \%
 \end{aligned}$$

Keterangan :

- I : Kontrol aquadest
- II : Kontrol parasetamol dosis 2,5 g/kg BB
- III : Infus herba pegagan dosis 0,027 g/kg BB + parasetamol
- IV : Infus herba pegagan dosis 0,054 g/kg BB + parasetamol
- V : Infus herba pegagan dosis 0,108 g/kg BB + parasetamol
- VI : Infus herba pegagan dosis 0,216 g/kg BB + parasetamol

Lampiran 12

Perhitungan %beda tiap kelompok terhadap kelompok I dan II dari tabel IV

1. Kelompok II terhadap kelompok I

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.II} - \text{Purata kel. I}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{86,25 - 8,84}{8,84} \times 100\% \\ &= + 875,67 \% \end{aligned}$$

2. Kelompok III terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.III} - \text{Purata kel. I}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{59,78 - 8,84}{8,84} \times 100\% \\ &= + 576,24 \% \end{aligned}$$

3. Kelompok VI terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.IV} - \text{Purata kel. I}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{37,85 - 8,84}{8,84} \times 100\% \\ &= + 328,16 \% \end{aligned}$$

4. Kelompok V terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.V} - \text{Purata kel. I}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{25,39 - 8,84}{8,84} \times 100\% \\ &= + 187,21 \% \end{aligned}$$

5. Kelompok VI terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.VI} - \text{Purata kel. I}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{19,91 - 8,84}{8,84} \times 100\% \\ &= + 125,22 \% \end{aligned}$$

6. Kelompok I terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.III} - \text{Purata kel. II}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{8,84 - 86,25}{86,25} \times 100\% \\ &= - 89,75 \% \end{aligned}$$

7. Kelompok III terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.III} - \text{Purata kel. II}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{59,78 - 86,25}{86,25} \times 100\% \\ &= - 30,68 \% \end{aligned}$$

8. Kelompok IV terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.IV} - \text{Purata kel. II}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{37,85 - 86,25}{86,25} \times 100\% \\ &= - 56,11 \% \end{aligned}$$

9. Kelompok V terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.V} - \text{Purata kel. II}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{25,39 - 86,25}{86,25} \times 100\% \\ &= - 70,56 \% \end{aligned}$$

10. Kelompok VI terhadap kelompok II

$$\begin{aligned} \%beda &= \frac{\text{Purata kel.VI} - \text{Purata kel. II}}{\text{Purata kel. I}} \times 100\% \\ &= \frac{19,91 - 86,25}{86,25} \times 100\% \\ &= - 76,91 \% \end{aligned}$$

lampiran 13

Tabel Konversi Perhitungan dosis antar hewan uji

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 g	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 g	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

Sumber : (Laurence dan Bacharach, 1964)

Lampiran 14

Analisis Aktivitas GPT-serum Menurut Metode Internasional Federation of Clinical Chemistry (IFCC)

DiaSys

Diagnostic Systems
International

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 Oxaloacetic 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 damage. 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 $\xleftarrow{\text{ALAT}}$ L-Glutamate + Pyruvate

Pyruvate + NADH + H⁺ $\xleftarrow{\text{LDH}}$ 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 $\Delta A/\min$ and multiply by the corresponding factor from table below:

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

	Substrate Start	Sample Start
340 nm	2145	1745
334 nm	2184	1780
365 nm	3071	3240

Controls

For internal quality control DiaSys TroLab 9 and P controls should be assayed with each batch of samples.

	Ctrl. No.	Units
TroLab 9	5.9000.99.10.061	20 U/L (5 ml)
	5.9000.99.10.061	6 U/L (5 ml)
TroLab P	5.9050.99.10.061	20 U/L (5 ml)
	5.9050.99.10.061	6 U/L (5 ml)

Performance Characteristics

Measuring range

The test has been developed to determine ALAT activities which correspond to a maximal $\Delta A/\min$ of 0.16 at 340 and 334 nm or 0.38 at 365 nm.

If such values are 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	1.36	6.22
Sample 2	34.8	1.17	3.62
Sample 3	101	1.02	1.00

Inter-assay precision n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
Sample 1	22.5	0.70	3.08
Sample 2	42.6	0.68	1.60
Sample 3	99.3	0.97	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	125	2.77	2.16

Inter-assay precision n = 20	Mean [U/l]	SD [U/l]	CV [%]
Sample 1	34.5	0.99	2.96
Sample 2	72.1	1.36	1.88
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 [1]	< 04 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 17 ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1995, p. 55-55
2. Moss DW, Henderson AK. 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, Cerretti F, Férard 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, 65536 Albstadt, Germany