

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI
PARASETAMOL**



Oleh :

**Uni Susan Nugrametalina
19134006A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI
PARASETAMOL**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*



Oleh :

**Uni Susan Nugrametalina
19134006A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL

Oleh :

**Uni Susan Nugrametalina
19134006A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 18 Juli 2017

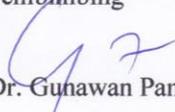


Dekan

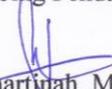
Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing


Dr. Gunawan Pamudji W, M. Si, Apt

Pembimbing Pendamping


Dra. Suhartiqah, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr. Jason Merari P, MM., M.Si., Apt
2. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt
3. Dr. Supriyadi, M.Si
4. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt


1.....
2.....
3.....
4.....

MOTTO

“Bahwa tiada yang orang dapatkan, kecuali yang ia usahakan, Dan bahwa usahanya akan kelihatan nantinya. (Q.S. An Najm ayat 39-40) “

“Menuju kesuksesan tidaklah mudah, banyak poin-poin masalah yang harus dihadapi dan diselesaikan satu persatu”

“Orang yang sukses selalu belajar dari kesalahan dan kegagalan, karena kegagalan adalah suatu proses menuju sukses yang tertunda, dari kegagalan pula kita dapat mengevaluasi kesalahan yang pernah diperbuat”

PERSEMBAHAN

Setiap goresan tinta ini adalah wujud dari keagungan dan kasih sayang yang diberikan Allah SWT kepada umatnya.

Setiap detik waktu menyelesaikan karya tulis ini merupakan hasil getaran doa kedua orang tua, saudara, dan orang-orang terkasih yang mengalir tiada henti.

Setiap pancaran semangat dalam penulisan ini merupakan dorongan dan dukungan dari sahabat-sahabatku tercinta.

Setiap makna pokok bahasan pada bab-bab dalam skripsi ini merupakan hampasan kritik dan saran dari teman-teman

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 18 Juli 2017



Uni Susan Nugrametalina

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan kasih dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL ”** sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Berkat dukungan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Dalam kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT atas segala bantuan yang diberikan
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si, Apt., selaku pembimbing utama yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberi semangat, motivasi, pengarahan serta nasehat kepada penyusun, sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt., selaku pembimbing pendamping yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberi semangat, motivasi, pengarahan serta nasehat kepada penyusun, sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan selama penyusun menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
7. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.

8. Orang tua saya Bapak (Maryono) dan Ibu (Purwaningsih) tercinta, atas cinta kasihnya yang telah mendoakan, memfasilitasi serta memotivasi saat penyusunan skripsi ini.
9. Tim hepatoprotektor Aprida Swastika Dewi dan Apriliya Dewi Kumalasari untuk kebersamaan dan kerjasamanya
10. Mba fridaku tercinta untuk dukungan dan motivasinya
11. Buat teman-temanku Yuni, Hapsari, Riska, Lilik, Meli, Linda, Erni Anas, dan Ance terimakasih untuk doa dan dukungannya

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dari semua pihak. Maka saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan, semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca.

Surakarta, Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SUB JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman Alpukat	4
1. Sistematika tanaman	4
2. Nama lain.....	4
3. Kegunaan tanaman	4
4. Morfologi tanaman	5
5. Kandungan kimia.....	5
5.1 Alkoloid.....	5
5.2 Fenol	6
5.3 Tanin.....	6
5.4 Flavonoid	6
5.5 Saponin	6
B. Hati	7
1. Anatomi fisiologi hati.....	7
2. Fungsi hati	8
2.1 Fungsi glikogenik	8

2.2	Sekresi empedu.....	8
2.3	Pembentukan ureum	8
2.4	Kerja atas lemak	8
2.5	Pertahanan suhu tubuh.....	9
2.6	Kerja melindungi hati	9
3.	Jenis kerusakan hati	9
3.1	Perlemakan hati (Steatosis)	9
3.2	Nekrosis hati	9
3.3	Kolestasis.....	10
3.4	sirosis	10
3.5	karsinogenesis.....	10
4.	Histologi hati	11
4.1	Lobulasi	11
4.2	Parenkim	12
4.3	Kanalikuli biliaris	12
4.4	Ruang sinosid	12
4.5	Stroma.....	13
4.6	Regregenasi	13
5.	Skoring hepar.....	13
C.	Hepatotoksin.....	14
1.	Hepatotoksisitas intrinsik	14
2.	Hepatotoksisitas idiosinkratik.....	14
D.	Hepatoprotektor	14
E.	Simplisia	15
1.	Pengertian simplisia.....	15
2.	Pengeringan simplisia.....	15
F.	Penyarian	16
1.	Pengertian penyarian	16
2.	Pengertian ekstrak.....	16
3.	Metode ekstraksi.....	17
3.1	Maserasi.....	17
3.2	Perkolasi	17
3.3	Soxhletasi.....	17
3.4	Reflux	17
3.5	Infudasi	17
4.	Pelarut Etanol	18
G.	Parasetamol.....	18
1.	Sifat farmakologis.....	18
2.	Farmakokinetik.....	18
3.	Indikasi	19
4.	Hepatotoksisitas.....	19
5.	Mekanisme kerusakan sel hepar akibat parasetamol.....	19
6.	Mekanisme hepatoprotektor ekstrak biji alpukat terhadap Kerusakan hepar akibat induksi parasetamol	20
H.	Hewan uji.....	21
1.	Klasifikasi hewan uji	21

2. Gambaran Umum	21
3. Karakteristik utama tikus putih.....	21
I. Landasan Teori	22
J. Hipotesis	23
BAB III METODE PENELITIAN	24
A. Populasi dan Sampel	24
B. Variabel Penelitian	24
1. Identifikasi variabel utama	24
2. Klasifikasi variabel utama	24
3. Definisi operasional.....	25
C. Alat,Bahan dan hewan uji	26
1. Alat	26
2. Bahan.....	26
3. Hewan uji	26
D. Jalannya Penelitian	27
1. Identifikasi biji alpukat.....	27
2. Pembuatan serbuk biji alpukat	27
3. Penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat.....	27
4. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat.....	27
5. Penetapan susut ekstrak biji alpukat.....	27
6. Uji bebas etanol	28
7. Identifikasi kandungan kimia	28
6.1 Flavonoid.....	28
6.2 Alkaloid	28
6.3 Fenol.....	28
6.4 Saponin.....	28
6.5 Tanin.....	29
8. Penetapan dosis	29
7.1 Dosis ekstrak biji alpukat	29
7.2 Dosis parasetamol.....	29
7.3 Dosis curcuma®	29
9. Pembuatan larutan CMC Na 1%	29
10. Pembuatan larutan curcuma®	30
11. Pembuatan suspensi.....	30
12. Perlakuan hewan uji	30
13. Pembuatan preparat	31
E. Pengambilan data	33
F. Analisis data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	34
1. Identifikasi biji alpukat.....	34
2. Pembuatan serbuk biji alpukat.....	34
3. Penetapan susut kering biji alpukat	35
4. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat.....	35
5. Penetapan susut kering ekstrak etanol biji alpukat.....	36
6. Uji bebas etanol	36

7. Identifikasi kandungan kimia	36
8. Histologi organ	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
A. Kesimpulan.....	48
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema prosedur pengujian hewan uji	32
2. Gambaran histopatologi sel hepar tikus	39
3. Diagram rata-rata skoring histopatologi hepar.....	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kriteria penilaian derajat histopatologi sel hepar.....	33
2. Hasil persentase berat kering terhadap berat basah biji alpukat	34
3. Hasil penetapan susut kering biji alpukat.....	35
4. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol biji alpukat	36
5. Hasil penetapan susut kering ekstrak etanol biji alpukat	36
6. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak biji alpukat secara kualitatif	37
7. Hasil rata-rata skoring histopatologi hepar tikus	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Identifikasi biji alpukat	54
Lampiran 2. Suat keterangan hewan uji	55
Lampiran 3. Surat keterangan pembuatan dan pembacaan preparat	56
Lampiran 4. Gambar simplisia basah, serbuk dan ekstrak biji alpukat (Persea Americana Mill.)	57
Lampiran 5. Gambar alat yang digunakan dalam penelitian	58
Lampiran 6. Gambar serbuk parasetamol dan larutan stock parasetamol	59
Lampiran 7. Gambar curcuma® dan larutan stock curcuma®	60
Lampiran 8. Gambar larutan stock ekstrak etanol biji alpukat	61
Lampiran 9. Gambar hasil uji tabung identifikasi kandungan kimia biji alpukat dan uji bebas etanol	62
lampiran 10. Gambar hewan uji dan perlakuan	64
lampiran 11. Hasil rendemen berat kering terhadap berat basah biji alpukat	65
lampiran 12. Hasil penetapan susut kering biji alpukat	66
lampiran 13. Hasil prosetasi rendemen ekstrak etanol biji alpukat	67
lampiran 14. Hasil penetapan susut kering ekstrak etanol biji alpukat	68
lampiran 15. Perhitungan dosis	69
lampiran 16. Data berat badan tikus	72
lampiran 17. Hasil skoring histopatologi hepar tikus	73
lampiran 18. Analisis data SPSS 17	75

DAFTAR SINGKATAN

NAPQI	: N-acetyl-p-benzoquinone-imine
GSH	: Gugus sulfhidril dari glutation
FDA	: Food and Drugs Association
ROS	: Radical Oxygen Species
TAS	: Total antioksidant status
ALT	: Alanine Aminotransferase
AST	: Aspartate Aminotransferase
ALP	: Alkaline Phosphatase
TBL	: Total Bilirubin

INTISARI

NUGRAMETALINA, US., 2017, EFEK HEPATOPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Upaya untuk menekan efek dari parasetamol dibutuhkan suatu zat hepatoprotektor seperti biji alpukat. Flavonoid dan fenol adalah senyawa aktif yang terkandung dalam biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Flavonoid dan fenol mampu bertindak sebagai antioksidan dan hepatoprotektor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji alpukat terhadap gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol

Sebanyak 30 ekor tikus wistar dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol normal yaitu kelompok yang hanya diberi CMC Na 1%. Kelompok II sebagai kontrol negatif yaitu kelompok yang diberikan parasetamol (1,35 g/kg BB) dan CMC Na 1%. Kelompok III sebagai kontrol positif diberikan parasetamol dan Curcuma® (18 mg/kg BB). Kelompok IV, V, dan VI yaitu kelompok yang diberi parasetamol (1,35 g/kg BB) dan ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis berturut-turut yaitu 90, 180, 360 mg/kg BB. Sediaan uji diberikan selama 6 hari berturut-turut. Pada hari ke-7 tikus diinduksi parasetamol dosis toksik sesuai dengan pembagian kelompoknya. Setelah perlakuan selesai tikus dibedah pada hari ke 9 untuk diambil hepar dan di buat preparat. kemudian preparat diamati di bawah mikroskop.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB dapat memberikan efek hepatoprotektif terhadap gambaran histopatologi hepar. Sedangkan dosis 180 mg/kg BB memiliki daya hepatoprotektif yang lebih efektif

Kata kunci : hepar, parasetamol, biji alpukat (*Persea americana* Mill.) histopatologi.

ABSTRACT

NUGRAMETALINA, US., 2017, HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT AVOCADO SEED AGAINST HEPATIC HISTOPATHOLOGY WISTAR MALE RATS INDUCED PARACETAMOL, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Attempts to suppress the effects of paracetamol require a hepatoprotector agent such as avocado seed. Flavonoids and phenols are the active compounds contained in avocado seeds (*Persea americana* Mill.). Flavonoids and phenols are able to act as antioxidants and hepatoprotectors. This study aims to determine the effect of ethanol seed extract of avocado seed on hepatic histopathology of male wistar rats induced paracetamol

As many as 30 wistar rats were divided into 6 groups. Group I as normal control group that only given CMC Na 1%. Group II as a negative control group that is given paracetamol (1.35 g / kg BW) and CMC Na 1%. Group III as a positive control was given paracetamol and Curcuma® (18 mg / kg BW). Groups IV, V, and VI were group given paracetamol (1.35 g / kg BW) and ethanol extract of avocado seeds in respective doses of 90, 180, 360 mg / kg BW. test preparation given for 6 consecutive days. On the 7th day the rats induced paracetamol toxic dose according to the division of the group. After the treatment was completed the rats dissected on day 9 to take hepatic and made preparations. Then the preparations are observed under a microscope.

The results of this study indicate that the group of avocado ethanol extract at doses of 90 mg / kg BW, 180 mg / kg BW, and 360 mg / kg BW can provide hepatoprotective effect on hepatic histopathology. While the dose of 180 mg / kg BW has a more effective hepatoprotective.

Keywords: hepatic, paracetamol, avocado seeds (*Persea americana* Mill.) histopathology.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hati merupakan organ yang berperan dalam pusat metabolisme berbagai zat atau bahan yang masuk ke dalam tubuh. Salah satu fungsi hati yang penting bagi tubuh ialah melindungi penumpukan zat berbahaya dan beracun yang masuk dari luar tubuh (*xenobiotic substances*) (Manatar *et al.* 2013).

Penyakit hati merupakan penyakit yang sering dijumpai pada masyarakat. Penyakit ini bisa disebabkan karena dua faktor, yaitu mikroorganisme dan obat-obatan (Underwood 1999). Parasetamol merupakan salah satu obat yang memiliki efek hepatotoksik. Penggunaan parasetamol sebagai analgetik dan antipiretik telah dikenal oleh masyarakat umum dan banyak dijual bebas di pasaran. Hal ini menyebabkan masyarakat dapat mengonsumsinya tanpa harus menggunakan resep dokter selain itu, pengetahuan masyarakat mengenai bahaya toksisitas obat masih sangat kurang, terutama bila digunakan dalam dosis berlebihan (Manatar *et al.* 2013).

Mekanisme toksisitas parasetamol terjadi akibat konversi obat tersebut menjadi metabolit reaktif, yaitu *N-acetyl-p-benzoquinone-imine* (NAPQI) oleh enzim sitokrom P₄₅₀. Normalnya NAPQI yang merupakan radikal bebas, akan diikat oleh gugus sulfhidril dari glutathion (GSH), yang merupakan antioksidan, untuk kemudian dieliminasi dari tubuh. Akan tetapi penggunaan parasetamol yang berlebihan akan menyebabkan kadar GSH yang dihasilkan sangat rendah dan tidak mampu mengikat NAPQI sehingga menyebabkan terganggunya metabolisme sel hati (Rini *et al.* 2013).

Food and Drugs Association (FDA) menyebutkan dosis aman untuk konsumsi parasetamol adalah tidak lebih dari 4000 mg/hari bagi orang dewasa dan anak di atas 12 tahun. Konsumsi parasetamol dosis toksis sebesar 15 gram dapat menimbulkan toksisitas pada hati (hepatotoksik) (Rini *et al.* 2013).

Pemberian antioksidan dapat menurunkan produksi radikal bebas di dalam tubuh. Berbagai macam antioksidan meliputi, superoksida dismutase, katalase,

glutation peroksidase, vitamin A, D, E, dan C, namun penggunaan antioksidan tersebut masih terkendala oleh keterbatasan bahan dan harga yang tidak terjangkau oleh masyarakat. Mengacu kondisi tersebut, upaya penanganan stres oksidatif dapat dilakukan menggunakan bahan herbal atau tanaman obat. Tanaman herbal, selain mudah diperoleh juga diyakini mengandung bahan antioksidan yang relatif aman dan telah banyak digunakan oleh masyarakat secara turun-temurun (Anindita *et al.* 2012).

Indonesia memiliki sekitar 400 suku bangsa (etnis dan sub etnis). Masing-masing etnis dan sub etnis memiliki berbagai pengetahuan yang diwariskan dari generasi ke generasi, diantaranya pengetahuan tradisional dibidang pengobatan. Bagi masyarakat Jawa dan Madura obat tradisional lebih dikenal dengan sebutan jamu, baik dalam bentuk rajangan maupun dalam bentuk serbuk (Hadinata 2016).

Penelitian obat yang berasal dari bahan alam untuk mengatasi kerusakan hati dan ginjal di Indonesia sampai saat ini masih terbatas, oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian mengenai obat baru dari kekayaan alam Indonesia. Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan buah tropis yang kaya akan senyawa fitokimia yang aktif secara biologis. Namun biji alpukat yang merupakan limbah, dilaporkan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi (Hendra *et al.* 2014).

Penelitian sebelumnya oleh Hendra *et al.* 2014 melaporkan bahwa infusa dan dekokta biji alpukat dengan dosis berturut-turut 360,7; 642,1 dan 1142,9 mg/kg sekali sehari mempunyai efek protektif pada hepar dan ginjal tikus jantan terinduksi karbon tetraklorida.

Biji alpukat mengandung senyawa saponin, tannin, flavonoid, alkaloid, dan fenol. Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, antioksidan, serta peningkat sistem imun (Hendra *et al.* 2014). Aktivitas farmakologi dari senyawa flavonoid adalah sebagai antialergi, antiviral, antiinflamasi, hepatoprotektif, antioksidan, antitrombotik, vasodilator dan antikarsinogenik (Hendra *et al.* 2014). Biji alpukat memiliki aktivitas antioksidan invitro dengan IC₅₀ 41,5ppm sehingga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu sumber antioksidan alami (Sutrisna *et al.* 2015)

potensi antioksidan yang terkandung dalam biji alpukat dan efek proteksi biji alpukat terhadap hepar belum banyak diteliti, maka peneliti ingin mengetahui bagaimana efek proteksi ekstrak etanol biji alpukat terhadap gambaran histopatologi tikus jantan wistar yang di induksi parasetamol.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar, sebab sering digunakan sebagai binatang percobaan dalam penelitian untuk mengetahui efek suatu zat terhadap tubuh (Rohmani *et al.*2015).

B. Perumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB terhadap gambaran histopatologi hepar tikus yang diinduksi parasetamol?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan sel hepar tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB terhadap gambaran histopatologi hepar tikus yang diinduksi parasetamol.
2. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan sel hepar tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

D. Kegunaan Penelitian

1. Memberikan informasi umum kepada masyarakat luas dan dalam ilmu pengetahuan serta dunia farmasi dalam pengembangan pembuatan obat dalam industri farmasi.
2. Memberikan suatu kontribusi terkini bagi dunia kesehatan dengan pemanfaatan ekstrak biji alpukat yang terbukti mempunyai khasiat sebagai hepatoprotektor.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Alpukat

1. Sistematika Tanaman

Tanaman Alpukat mempunyai sistematika sebagai berikut:

Sinonim	: <i>Persea gratissima</i> Gaertn.
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Laurales
Suku	: Lauraceae
Marga	: <i>Persea</i>
Jenis	: <i>Persea americana</i> Mill. (Anonim 2008)

2. Nama lain

Alpukat mempunyai nama yang berbeda-beda di masing-masing daerah diantaranya: Avokat, apokat, adpokat (Melayu); Apuket, alpuket (Sunda); apokat, avokat (Jawa) (Anonim 2008).

3. Kegunaan tanaman

Dalam dunia pengobatan, alpukat telah banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Daging buahnya bisa mengurangi rasa sakit dan mengobati sariawan. Daun buah alpukat biasanya digunakan untuk mengobati nyeri saraf, nyeri lambung, menurunkan darah tinggi dan mengobati batu ginjal. Selain buah dan daunnya, biji buah alpukat juga bisa digunakan untuk mengurangi kadar gula dalam darah (Hariana 2004). Alpukat memiliki khasiat sebagai antioksidan yang diperoleh dari kandungan fenolnya sehingga dapat bermanfaat sebagai hepatoprotektor yang berperan dalam proteksi tubuh terhadap hepatotoksisitas (Hendra *et al.* 2016). Aktivitas farmakologi dari senyawa flavonoid adalah sebagai antialergi, antiviral, antiinflamasi, hepatoprotektif, antioksidan, antitrombotik, vasodilator dan antikarsinogenik (Seyoum *et al.* 2006).

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Hendra *et al.* (2014) menunjukkan bahwa pemberian infusa dengan dosis 360,7 mg/kgBB tikus dan dekokta biji alpukat dengan dosis 1142,9 mg/kgBB tikus selama 6 hari memberikan efek proteksi baik pada hepar maupun renal pada tikus yang terinduksi karbon tetraklorida. Hendra *et al.* (2016) juga melaporkan pemberian dekokta kulit alpukat dengan dosis 363 mg/kgBB tikus selama 6 hari mempunyai efek hepatoprotektif pada tikus yang terinduksi karbon tetraklorida.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Anshar (2015) menunjukkan bahwa pemberian jus alpukat dapat menurunkan kadar BUN dan serum kreatinin pada kadar normal dengan dosis efektif 10 g/kgBB tikus yang diinduksi meloxicam dosis toksik dengan waktu pemberian selama 7 hari.

4. Morfologi tanaman

Habitus berupa pohon, tinggi ± 10 m. Batang berkayu, bulat, bercabang, berwarna coklat kotor. Daun tunggal, bulat telur, bertangkai, letak tersebar, ujung dan pangkal runcing, berbulu, panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, berkelamin dua, tumbuh di ujung ranting, benang sari dua belas, ruang kepala sari empat, putih kotor, mahkota berambut, diameter 1-1,5 cm, putih kekuningan. Buah buni, bulat telur, panjang 5-20 cm, berbintik-bintik atau gundul, daging buah jika sudah masak lunak, hijau atau kuning keunguan. Biji bulat, diameter 2,5-5 cm, keping biji putih kemerahan. Akar tunggang, bulat berwarna coklat (Anonim 2008).

5. Kandungan kimia

Biji alpukat mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, tanin, flavonoid dan saponin (Marlinda *et al.* 2012).

5.1 Alkaloid. Alkaloid adalah senyawa kimia yang bersifat basa, yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid banyak didapati sebagai garam organik pada tumbuhan, dalam bentuk senyawa padat berbentuk kristal, dan kebanyakan tidak berwarna. Alkaloid yang terdapat pada daun atau buah segar, biasanya memberikan rasa yang pahit dilidah (Noviyati 2016). Pada penelitian yang dilakukan oleh Arukwe *et al.* (2012) menunjukkan hasil bahwa biji alpukat memiliki kandungan alkaloid sebesar $0,72 \pm 0,12$ mg/100 g

5.2 Fenol. Fenol merupakan salah satu dari sekian banyak zat yang terkandung dalam tanaman. Biasanya terjadi di waktu ekstraksi. Fenol bersifat larut dalam alkohol, cairan basa dan tidak larut dalam air. Zat ini tidak terdapat dalam jaringan tumbuhan yang hidup tetapi terbentuk pada waktu jaringan tersebut mati atau pengaruh udara dan kelembaban (Anonim 2000). Pada penelitian yang dilakukan oleh Arukwe *et al.* (2012) menunjukkan hasil bahwa biji alpukat memiliki kandungan fenol sebesar $0,72 \pm 0,12$ mg/100 g

5.3 Tanin. Tanin merupakan sejenis kandungan tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air (terutama air panas) membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya. Makin murni tanin makin kurang kelarutannya dalam air dan makin mudah diperoleh dalam bentuk kristal (Robinson 1995). Pada penelitian yang dilakukan oleh Arukwe *et al.* (2012) menunjukkan hasil bahwa biji alpukat memiliki kandungan tanin sebesar $0,24 \pm 0,12$ mg/100 g

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Afifah dan Erwin (2016) menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol biji alpukat positif mengandung tannin.

5.4 Flavonoid. Flavonoid merupakan suatu golongan metabolit sekunder yang terdapat pada semua bagian tumbuhan seperti daun, akar, kayu, buah, dan biji. Flavonoid mudah mengalami peruraian karena panas, kerja enzim, adanya air dan pH. Flavonoid larut dalam air, methanol, etanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan dimetilformamid (Mursyidi 1990). Pengaruh glikosilasi (flavonoid glikosida) menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti methanol, etanol, aseton, maupun air (Harborne 1996). dalam air dan makin mudah diperoleh dalam bentuk kristal (Robinson 1995). Pada penelitian yang dilakukan oleh Arukwe *et al.* (2012) menunjukkan hasil bahwa biji alpukat memiliki kandungan tanin sebesar $1,90 \pm 0,07$ mg/100 g

5.5 Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada saat konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Pada beberapa tahun terakhir ini

saponin tertentu menjadi sangat penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan (Robinson 1995). Saponin tidak larut dalam pelarut non polar, paling cocok diekstraksi memakai etanol atau metanol panas 70-96% kemudian lipid dan pigmen disingkirkan dari ekstrak dengan memakai benzen (Harborne 1987). Pada penelitian yang dilakukan oleh Arukwe (2012) menunjukkan hasil bahwa biji alpukat memiliki kandungan tanin sebesar $19,21 \pm 2,81$ mg/100 ml.

Dari skrining uji fitokimia yang dilakukan oleh Marlinda *et al.* (2012) biji alpukat mengandung mengandung senyawa saponin. Hal tersebut dapat terlihat dari busa stabil yang dihasilkan saat dikocok dengan air.

B. Hati

1. Anatomi fisiologik hati

Hati adalah kelenjar terbesar di dalam tubuh, yang terletak di bagian teratas dalam rongga abdomen di sebelah kanan dibawah diafragma. Hati secara luas di lindungi oleh iga-iga (Pearce 2007). Unit fungsional dasar hati adalah lobulus hati, yang berbentuk silinder dengan panjang beberapa millimeter dan berdiameter 0,8 sampai 2 milimeter. Hati manusia berisi 50.000 sampai 100.000 lobulus. Lobulus sendiri dibentuk terutama dari banyak sel hepar yang memancar secara sentrifugal dari vena sentralis seperti jeruji roda. Masing-masing lempeng hepar tebalnya satu sampai dua sel, dan diantara sel yang berdekatan terdapat kanalikuli biliaris kecil yang mengalir ke duktus biliaris di dalam septum fibrosa yang memisahkan lobulus hati yang berdekatan. juga di dalam septum terdapat venula porta kecil yang menerima darah terutama dari vena saluran pencernaan melalui vena porta. Dari venula ini darah mengalir ke sinusoid hepar gepeng dan bercabang yang terletak diantara lempeng-lempeng hepar kemudian di vena sentralis. Dengan demikian, sel hepar terus menerus terpapar dengan darah vena porta. (Guyton dan Hall 1997).

Selain vena porta, juga ditemukan arterior hepar dalam septum interlobularis. Arteriol ini menyuplai darah dari arteri ke jaringan septum diantara

lobulus yang berdekatan, dan banyak arteriol kecil juga mengalir langsung dari sinusid hati, paling sering pada sepertiga jarak ke septum interlobularis (Guyton dan Hall 1997).

2. Fungsi Hati

Hati merupakan pabrik kimia terbesar dalam tubuh dalam hal bahwa ia menjadi pengantara metabolisme, artinya hati mengubah zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan yang disimpan di suatu tempat di dalam tubuh guna dibuat sesuai untuk pemakaiannya di dalam jaringan hati juga mengubah zat buangan dan bahan racun untuk dibuat mudah untuk eksresi kedalam empedu dan urine (Pearce 2007).

2.1 Fungsi glikogenik. Kerena dirangsang oleh kerja suatu enzim maka sel hati menghasilkan glikogen (zat tepung hewani) dari konsentrasi glukosa yang diambil dari makanan karbohidrat. Zat ini disimpan sementara oleh sel hati dan diubah kembali menjadi glukosa oleh kerja enzim bila diperlukan oleh jaringan tubuh. Karena fungsi ini maka hati membantu supaya kadar gula yang normal dalam darah, yaitu 80 sampai 100 mg glukosa setiap 100 ccm darah, dan dapat dipertahankan. Akan tetapi fungsi ini dikendalikan oleh sekresi dari pankreas, yaitu insulin (Pearce 2007).

2.2 Sekresi empedu. Beberapa unsur susunan empedu misalnya garam empedu, dibuat di hati ; unsur lainnya misalnya pigmen empedu, di bentuk di dalam system retikuloendotelium dan dialirkan ke dalam empedu oleh hati (Pearce 2007).

2.3 Pembentukan ureum. Hati menerima asam amino yang diabsorpsi oleh darah. Di dalam hati terjadi deaminasi oleh sel, artinya nitrogen dipisahkan dari bagian asam amino, dan ammonia diubah menjadi ureum. Ureum dapat dikeluarkan dari darah oleh ginjal dan diekskresikan ke dalam urin (Pearce 2007).

2.4 Kerja atas lemak. Hati menyimpan lemak untuk pemecahannya terakhir menjadi hasil akhir asam karbonat dan air. Garam empedu yang dihasilkan oleh hati adalah penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak. Kekurangan garam empedu mengurangi absorpsi lemak dan karena itu dapat

perubahan masuk feses seperti yang terjadi pada beberapa gangguan pencernaan pada anak-anak, penyakit seliak (coeliac), sariawan tropic dan gangguan tertentu pada pankreas (Pearce 2007).

2.5 Pertahanan suhu tubuh. Hati membantu mempertahankan suhu tubuh sebab luasnya organ itu dan banyaknya kegiatan metabolik yang berlangsung mengakibatkan darah yang mengalir melalui organ itu naik suhunya (Pearce 2007).

2.6 Kerja melindungi dari hati. Juga disebut sebagai detoksikasi (mengamankan racun). Beberapa obat tidur dan alkohol dapat dimusnahkan sama sekali oleh hati tetapi racun dengan dosis besar obat bius dapat merusak sel hati. Demikian pula dengan beberapa bahan kimia yang digunakan dalam industri seperti tetraklorida, mengakibatkan kerusakan pada hati (Pearce 2007).

3. Jenis kerusakan hati

Kerusakan hepar dapat bersifat irreversible (tetap) dan reversible (sementara). Perubahan degenerasi merupakan perubahan yang bersifat reversible. Degenerasi yang berlangsung terus-menerus dapat mengakibatkan kematian sel (nekrosis). Nekrosis adalah perubahan yang prosesnya bersifat irreversible (Maulida *et al.* 2013).

Toksikan dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik pada berbagai organel dalam sel hati, mengakibatkan berbagai jenis kerusakan hati seperti diuraikan di bawah ini.

3.1. Perlemakan hati (Steatosis). Perlemakan hati adalah hati yang mengandung berat lipid lebih dari 5%. Adanya kelebihan lemak dalam hati dibuktikan secara histokimia. Lesi dapat bersifat akut, seperti yang disebabkan oleh etionin, fosfor atau tetrasiklin. Etanol dan metotreksat dapat menyebabkan lesi akut atau lesi kronik. Beberapa toksikan seperti tetrasiklin menyebabkan banyak butiran lemak kecil dalam suatu sel, sementara toksikan lainnya seperti etanol menyebabkan butiran lemak besar yang menggantikan inti (Lu 1995).

3.2. Nekrosis hati. Nekrosis hati adalah kematian hepatosit. Nekrosis dapat bersifat fokal (sentral, pertengahan, perifer) atau massif. Biasanya nekrosis merupakan kerusakan akut. Beberapa zat kimia telah dibuktikan atau dilaporkan

menyebabkan nekrosis hati. Nekrosis hati merupakan suatu manifestasi toksik yang berbahaya tetapi tidak selalu kritis karena hati mempunyai kapasitas pertumbuhan kembali yang luar biasa (Lu 1995). Kematian sel terjadi bersama dengan pecahnya membran plasma. Tidak adanya perubahan ultrastruktural membran yang dapat di deteksi sebelum pecah. Namun ada perubahan yang mendahului kematian sel. Perubahan morfologik awal antara lain berupa edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, dan disagregasi polisom. Terjadi akumulasi trigliserid sebagai butiran lemak dalam sel. Perubahan yang terdahulu merupakan pembekakan mitokondria progresif dengan kerusakan krista. Pembekakan sitoplasma, penghancuran organel dan inti dan pecahnya membrane plasma (Lu 1995).

3.3. Kolestasis. Jenis kerusakan hati yang biasanya berbersifat akut ini, lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan perlemakan hati dan nekrosis. Jenis kerusakan ini juga lebih sulit diinduksi pada hewan, kecuali mungkin dengan steroid tampaknya zat kolestatik bekerja melalui beberapa mekanisme. Sebagai contoh, ANIT (α -naftili-sosianat) dapat menyebabkan kolestasis, hiperbilirubinemia dan penghambatan oksigenase fungsi campur mikrosom. Berkurangnya aktivitas eksresi empedu pada membrane kanalikulus tampaknya merupakan mekanisme utama kolestasis. Selain itu, kelihatanya ANIT mengubah permeabilitas sel duktulus (Lu 1995).

3.4. Sirosis. Sirosis ditandai dengan adanya septa kolagen yang terbesar di sebagian besar hati. Kumpulan hepatosit muncul sebagai nodul yang dipisahkan oleh lapisan berserat ini. patogenesisinya tidak sepenuhnya dimengerti, tetapi dalam sebagian besar kasus, tampaknya sirosis berasal dari nekrosis sel tunggal karena kurangnya mekanisme perbaikan. Kemudian keadaan ini menyebabkan aktivitas fibroblastik dan pembentukan jaringan parut. Tidak cukupnya aliran darah dalam hati mungkin menjadi faktor pendukung (Lu 1995).

3.5. Karsinogenesis. Karsinoma hepatoseluler dan kolangiokarsinoma adalah jenis neoplasma ganas yang paling umum pada hati. Jenis karsinoma lainnya antara lain angiosarkoma, karsinoma kelenjar, karsinoma trabecular dan karsinoma sel hati yang tidak berdiferensiasi. Pentingnya dengan adenoma,

hyperplasia basophil fokal dan nodul hiperplastik belum dipastikan, sementara hyperplasia saluran empedu mungkin merupakan suatu reaksi fisiologis terhadap pajanan toksikan (Lu 1995).

4. Histologi hati

Sel hepatosit merupakan salah satu bagian yang terdapat di dalam organ hati. Sel hepatosit adalah sel parenkimal utama yang terdapat di dalam hati yang mempunyai peran dalam metabolisme. Sel hepatosit memiliki berat 80% dari berat hati dan memiliki inti sel baik tunggal maupun ganda. Hepatosit sangat aktif mensintesis protein dan lipid untuk disekresi, dan memiliki banyak retikulum endoplasma dan badan golgi. Hepatosit dipisahkan oleh sinusoid yang tersusun dengan melingkari efferent vena hepatica dan duktus hepaticus. Darah yang masuk ke dalam hati melalui arteri hepatica dan vena porta serta yang akan menuju ke vena sentralis akan mengalami pengurangan oksigen secara bertahap. Akibatnya beberapa jaringan akan sangat rentan terhadap kerusakan asinus. Di dalam organ hati, hepatosit terletak berhadapan dengan sinusoid yang mempunyai banyak mikrofil (Julio *et al.* 2010).

4.1 Lobulasi. Lobulus klasik atau lobulus hati merupakan prisma polygonal dengan ukuran lebih kurang dari 1 sampai 2 mm, dan biasanya terlihat heksagonal pada potongan melintang dengan vena sentralis di tengah dan kanal portal di tepian pada sudut-sudutnya. Pada manusia lobulus klasik tidak banyak dibatasi oleh jaringan ikat, walaupun terdapat pada bagian mamalia tertentu, misalnya babi. Lobulus klasik mempunyai makna fungsional yaitu merupakan suatu unit structural dengan pendarahan yang mengalirkan darah ke vena lobular. Suatu lobulus portal memiliki kanal portal sebagai pusatnya, dan terdiri dari jaringan yang menyalurkan empedu ke dalam duktus biliaris di daerah portal tersebut. Unit ini dalam potongan membentuk segitiga, mengandung bagian-bagian dari tiga lobulus klasik yang berdekatan dan vena sentralis terletak di perifer pada masing-masing sudutnya. Dalam keadaan patologis, kerusakan hati biasanya berhubungan dengan pendarahan dan suatu susunan unit yang lebih kecil. Jarang ditemukan kanal portal pada setiap sudut lobulus klasik. Kekurangan itu diperdarahi oleh cabang-cabang pembuluh darah dari daerah di dekatnya yang

meninggalkan pembuluh induk pada sudut tegak lurus dan berjalan di sepanjang batas antara lobulus klasik yang berdekatan (Lesson 1996).

4.2 Parenkim. Parenkim atau sel-sel hati (hepatosit) tersusun dalam rangkaian lempeng-lempeng atau lembaran-lembaran bercabang-cabang dan beranastomosis membentuk labirin atau mirip karet busa, dengan diantaranya terdapat ruangan sinusoid. Lempeng-lempeng ini secara radial bermula dari tepi lobulus klasik menuju ke vena sentralis sebagai pusatnya. Tebal lempeng-lempeng biasanya hanya satu sel, kecuali pada tempat-tempat anastomosis dan tempat percabangan, walau jelas bahwa masing-masing sel parenkim dibatasi oleh beberapa sel lainnya dalam satu lempeng. Sel hati bentuk polygonal dengan 6 atau lebih permukaan, berukuran sekitar 20-35 μm dengan membrane yang jelas. Permukannya dapat menghadap ruang sinusoid, menempel erat-erat pada permukaan sel disampingnya membentuk kanalikuli biliaris. Inti bulat atau lonjong dengan permukaan teratur dan besarnya bervariasi dari satu sel dengan lainnya, variasi ini berhubungan dengan keadaan poliploidi. Kadang-kadang ada sel dengan dua inti (Lesson 1996).

4.3 Kanalikuli biliaris. Kanalikuli biliaris kadang-kadang nampak pada sajian H.E. sebagai rongga kecil diantara sel hati yang bersebelahan tetapi dapat lebih baik diperlihatkan dengan pulasan khusus, misalnya reaksi gomori untuk fortase alkali atau dengan impregnasi kanalikuli biliaris berbentuk jala-jala tiga dimensi diantara sel-sel hati. Dinding kanalikuli terdiri atas sel-sel parenkim yang berdampingan. Peralihan kanalikuli dengan duktus biliaris di bagian perifer lobulus tidak mudah diperlihatkan (Lesson 1996).

4.4 Ruang sinusoid. Pendarahan lobulus hati adalah melalui sinusoid yang membentuk jala-jala sangat luas diantara sel-sel hati. Darah dari cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica masuk jala-jala sinusoid pada tepian lobulus dan mengalir secara radial melalui ruang-ruang sinusoid ke vena sintralis. Ruang-ruang sinusoid berbeda dengan kapiler yaitu garis tengahnya lebih besar (9-12 μm) dan sel pembatasnya tidak seperti endotel biasa. Lamina basal sinusoid terputus-putus. Dua tipe sel utama, dengan sel-sel bentuk peralihan membatasi sinusoid hati dewasa (Lesson 1996).

4.5 Straoma. Hati dibungkus oleh simpai tipis jaringan ikat yang menebal di helium, tempat vena porta dan arteri hepatica memasuki hati dan duktus hepaticus kiri dan kanan serta tempat keluarnya pembuluh limfe. Pembuluh-pembuluh dan duktus ini dikelilingi oleh jaringan ikat sepanjang jalannya di daerah portal diantara lobulus hati klasik. Pada titik ini jalinan serat reticular halus terbentuk yang menunjang hepatosit dan sel endotel sinusoid dari lobulus hati (Junquiera 1997).

4.6 Regenerasi. Daya regenerasi hati setelah mengalami luka sangat tinggi. Proses regenerasi tergantung pada sifat luka, tetapi sel-sel hati yang masih asa mempunyai daya hipertropi dan hyperplasia. Duktus biliaris juga aktif berproliferasi dan mungkin sel-sel hati baru juga dapat timbul dari sumber ini (Lesson 1996).

5. Skoring hepar

Untuk mengukur perubahan mikroskopis sel hepar, maka digunakan system skoring yang mengacu pada system skoring *Manja Roenigk* yang dipublikasikan pada jurnal *Histological Patterns in Drug Induced Liver Diseases* sebagai berikut :

Nilai 1 untuk sel hepar normal dimana sel tampak berbentuk polygonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dinding sel berbatas tegas. Nilai 2 untuk sel hepar degenerasi parenkimatosia dimana pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergranula. Nilai 3 untuk sel hepar degenerasi hidropik dimana tampak sel sembab, terdapat akumulasi cairan dan terdapat banyak vakuola. Nilai 4 untuk sel hepar nekrosis yang merupakan kerusakan permanen sel atau kematian sel.

Perhitungan dimulai dengan menghitung jumlah hepatosit yang normal lalu dikalikan 1, penghitungan jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi parenkimatosia dikalikan 2, jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik lalu dikalikan 3, dan penghitungan jumlah hepatosit yang nekrosis lalu dikalikan 4. Kemudian, Kemudian keempat hasil perkalian tersebut dijumlahkan.

C. Hepatotoksin

Hepatotoksin adalah senyawa yang dapat menyebabkan gangguan pada jaringan hati. Kerusakan hati akibat obat termasuk relatif jarang, namun jika terjadi akan mengakibatkan morbiditas dan mortalitas yang bermakna. Banyak obat yang diduga mengakibatkan masalah pada hati, dan spektrum hepatotoksitas akibat obat sangatlah luas. Rentang spektrum ini dapat dimulai dari perubahan reversibel yang asimtomatis pada tes fungsi hati sampai dengan nekrosis hati akut yang fatal, tetapi yang paling sering terjadi adalah jaundice dan hepatitis (Aslam *et al.* 2003).

Hepatotoksitas, dibagi menjadi 2:

1. Hepatotoksitas intrinsik (tipe A, dapat diprediksi)

Hepatotoksin intrinsik merupakan hepatotoksin yang dapat diprediksi, tergantung dosis dan melibatkan mayoritas individu yang menggunakan obat dalam jumlah tertentu. Rentang waktu antara mulainya dan timbulnya kerusakan hati sangat bervariasi (dari beberapa jam sampai beberapa minggu). Salah satu contohnya adalah parasetamol (Asetaminofen) menyebabkan nekrosis hati yang dapat diprediksi pada pemberian over dosis (Aslam *et al.* 2003).

2. Hepatotoksitas idiosinkratik (tipe B, tidak dapat diprediksi)

Hepatotoksin idiosinkratik merupakan hepatotoksin yang tidak dapat diprediksi. Hepatotoksin ini terkait dengan hipersensitivitas atau kelainan metabolisme. Respon dari hepatotoksin ini tidak dapat diprediksi dan tidak tergantung pada dosis pemberian. Masa inkubasi toksin ini bervariasi, tetapi biasanya berminggu-minggu atau berbulan-bulan. Contohnya seperti sulfonamid, isoniazid, halotan dan klorpromazin (Aslam *et al.* 2003).

D. Hepatoprotektor

Hepatoprotektor adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan hati (Armansyah *et al.* 2010).

Hepatoprotektor alami bisa menghindari efek samping yang berasal dari obat-obatan yang bersifat toksik di dalam tubuh. Sekitar 600 sediaan obat herbal

dengan aktivitas hepatoprotektor secara komersial telah diperjual belikan di seluruh dunia. Sebanyak 170 unsur fitokimia yang diisolasi dari 110 tumbuhan yang termasuk dalam 55 famili dilaporkan memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor (Girish *et al.* 2009). Beberapa tanaman obat yang telah diteliti dan diakui bersifat hepatoprotektor adalah tanaman kunyit, sambiloto, dan temulawak. Ketiga tanaman tersebut diketahui mengandung antioksidan yang sangat tinggi, dimana antioksidan ini sangat diperlukan dalam menangkal radikal bebas yang merupakan salah satu penyebab kerusakan hati (Armansyah 2010).

E. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga macam, yaitu simplisia nabati, hewani dan mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi yang spontan keluar dari isi tanaman atau isi sel yang dikeluarkan selnya dengan cara tertentu yang masih belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, tidak berupa zat kimia murni (Depkes 1979).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan suatu proses yang dapat menentukan baik buruknya mutu produk yang dihasilkan. Oleh karena itu, dalam proses pengeringan harus memperhatikan sifat-sifat zat aktif, cara pemanasan, tinggi suhu dan lamanya pemanasan (Depkes 1986).

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Pada proses pengeringan bahan simplisia tidak dianjurkan menggunakan alat yang berasal dari bahan plastik. Pengeringan pada dasarnya dikenal dengan dua cara, yaitu pengeringan secara ilmiah dan

pengeringan buatan. Pengeringan alamiah dilakukan dengan panas matahari langsung dan dengan diangin – anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat atau mesin pengering yang suhu, kelembaban, tekanan dan aliran udaranya dapat diatur (Depkes 1985).

F. Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih, dimana zat yang diinginkan larut. System penyarian yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya bagi unsur yang tidak diinginkan. Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infudasi, maserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan (Depkes 1985). Cairan penyari yang dipilih harus mempertimbangkan banyak factor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria-kriteria : murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan selektif, yaitu hanya menarik zat berkhasiat (Depkes 1986). Etanol dapat dipilih sebagai cairan penyari karena mempunyai sifat mampu mengekstraksi senyawa polar maupun non polar, tidak toksik, tidak ditumbuhi mikroba serta mudah diuapkan. Keuntungan lainnya adalah sifatnya mengendapkan bahan putih telur dan menghambat kerja enzim serta menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotornya sebagian kecil larut dalam cairan pengekstraksinya (Voight 1994).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Anief 2000).

Ekstrak berdasarkan konsistensinya dibedakan menjadi tiga, yaitu ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kerig. Ekstrak cair merupakan sediaan cair hasil dari penyarian simplisia. Ekstrak kental merupakan sediaan kental yang dibuat

dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya. Ekstrak kering merupakan sediaan yang berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simplisia yang diuapkan dengan pelarut hingga kering (Voight 1994).

3. Metode ekstraksi

3.1 Maserasi. Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang artinya merendam. Maserasi adalah proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (ansel 1989). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia dengan kandungan zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, atanol, air-etanol atau pelarut lain (Depkes 1986)

3.2 Perkolasi. Perkolasi adalah proses penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah berbentuk silinder atau kerucut yang bagian bawahnya diberi skat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas kebaah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Depkes 1986).

3.3 Soxhletasi. Soxhletasi adalah penyarian dengan menggunakan alat pengestraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu dan bahan yang diekstraksi berada dalam kantong (kertas saring). Keuntungan metode soxhlet adalah membutuhkan pelarut yang sedikit, karena penyarian terjadi berulang-ulang maka zat yang tersari di dalam pelarut lebih banyak dan untuk penguapan pelarut digunakan pemanasan. Kelemahan dari metode soxhlet yaitu dibutuhkan energi tinggi dan tidak cocok untuk senyawa yang tidak tahan panas (Voight 1994)

3.4 Refluks. Refluks adalah proses penyarian dengan menggunakan pelarut pada temperature titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlahnya terbatas. Pelarut tersebut umumnya konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes 2000).

3.5 Infudasi. Infudasi asalah proes penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif uyang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Depkes 1986). Infudasi adalah proses penyarian menggunakan

pelarut air dan dilakukan pada suhu air mendidih (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes 2000).

4 Pelarut Etanol

Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin antrakinon, flavonoid, steroid, dan klorofil. Namun hanya dapat melarutkan tannin dan saporin dalam jumlah kecil (Depkes 1986)

Campuran alkohol-air merupakan campuran bahan pelarut yang berbeda dan sering digunakan. Cairan pengestraksi 96% sangat sering didapatkan dari hasil bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya skala kecil dalam cairan pengestraksi (Voight 1994)

Etanol mempunyai keuntungan lebih selektif, kapang dan kuman tidak bisa tumbuh, tidak beracun, netral dan absorpsinya baik. Etanol juga dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Kerugian dalam penggunaan etanol sebagai cairan adalah harganya yang mahal (Depkes 1986).

G. Parasetamol

1. Sifat farmakologis

Asetaminofen mempunyai efek analgesik dan antipiretik yang tidak berbeda secara signifikan. Ketidakmampuan asetaminofen memberikan efek antiradang mungkin berkaitan dengan fakta bahwa asetaminofen hanya merupakan inhibitor siklooksigenase yang lemah dengan adanya peroksida konsentrasi tinggi yang ditemukan dalam lesi radang. Sebaliknya, efek antipiretiknya dapat dijelaskan dengan kemampuannya menghambat siklooksigenase di otak, yang tonus peroksidasinya rendah (Goodman & Gilman 2007).

2. Farmakokinetik

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu ½ jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam. Obat ini tersebar ke seluruh cairan tubuh. Dalam plasma

25% parasetamol terikat protein plasma. Parasetamol di metabolisme oleh enzim mikrosom hati. Sebagian parasetamol (80%) dikonjugasi dengan asam glukoronat dan sebagian kecil lainnya dengan asam sulfat. Selain itu parasetamol juga dapat mengalami hidrosilasi. Metabolit hasil hidrosilasi ini dapat menimbulkan methemoglobinemia dan hemolisis eritrosit. Obat ini diekskresi melalui ginjal, sebagian kecil sebagai parasetamol (3%) dan sebagian besar dalam bentuk terkonjugasi (Goodman & Gilman 2007).

3. Indikasi

Parasetamol merupakan pilihan lini pertama bagi penanganan demam dan nyeri sebagai antipiretik dan analgetik. Parasetamol digunakan untuk nyeri yang ringan sampai sedang. Obat ini berguna untuk nyeri ringan sampai sedang seperti sakit kepala, mialgia, nyeri persalinan, dan keadaan lain dimana aspirin efektif sebagai analgesik. Parasetamol tidak efektif untuk mengatasi inflamasi seperti arthritis rheumatoid, meskipun dapat dipakai sebagai obat tambahan analgesik dalam terapi antiinflamasi. Parasetamol lebih disukai daripada aspirin pada pasien hemophilia atau dengan riwayat ulkus peptikum dan juga pada mereka yang mengalami bronkospasme yang dipicu akibat aspirin (Katzung 2002).

4. Hepatotoksisitas

Pada orang dewasa hepatotoksisitas dapat terjadi setelah penggunaan asetaminofen dosis tunggal 10-15 g (150=250 mg/kg). dosis 20-25 gram atau lebih kemungkinan dapat menyebabkan kematian (Goodman & Gilman 2007).

5. Mekanisme Kerusakan Sel Hepar Akibat Induksi Parasetamol

Hepatotoksisitas tidak terjadi sebagai akibat langsung dari parasetamol, tetapi melalui metabolitnya, yaitu *N-acetyl-p-benzoquinone-imine* (NAPQI). Hepatotoksik dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram (200-250 mg/kg BB) parasetamol (Gunawan 2009).

Apabila paracetamol dalam jumlah tinggi dikonsumsi, maka sisa paracetamol akan mengalami biotransformasi dengan sitokrom P450, yaitu suatu enzim di retikulum endoplasma yang segera melakukan biotransformasi oksidatif pada 5-10% parasetamol yang masuk ke dalam tubuh. Parasetamol yang teroksidasi akan berubah menjadi *N-acetyl-p-benzoquinon-imine* (NAPQI), suatu

senyawa yang toksik dan reaktif. Pada kondisi normal, NAPQI di detoksifikasi oleh glutathione membentuk sistein dan konjugat asam merkapturat. NAPQI akan berikatan ireversibel dengan gugus sulfidril pada glutathione. Jika dalam kondisi berlebih, jalur sulfat dan glukoroid menjadi jenuh. Hal ini mengakibatkan suplai hepatoseluler glutathione menjadi kosong. Permintaan glutathione menjadi lebih tinggi dari pada regenerasinya sehingga persediaan glutathione transferase (GSH) tidak mencukupi untuk mengubah semua NAPQI menjadi merkapturat melalui sistem konjugasi, akibatnya NAPQI yang bebas tersebut akan berikatan dengan molekul membrane selular menghasilkan kerusakan dan kematian hepatosit secara luas dan menyebabkan nekrosis hati (Muruges *et al.* 2005).

Aktivitas sitokrom P450 serta transisi permeabilitas mitokondria menyebabkan terbentuknya superoksida, suatu *Radical Oxygen Species* (ROS). Pembentukan superoksida yang meningkat menyebabkan reaksi hidrogen peroksida dan peroksidasi melalui mekanisme tipe Fenton. Pada dosis toksik parasetamol terjadi pembentukan NAPQI yang berlebihan, sementara konsentrasi glutathione di sel sentrilobular sangatlah rendah, sehingga glutathione peroksidase terhambat (James *et al.* 2003).

6. Mekanisme hepatoprotektor ekstrak biji alpukat terhadap kerusakan hepar akibat induksi parasetamol

Konsinska *et al.* 2012 melaporkan biji alpukat dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan antioksidan berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik yang dapat memberikan aktivitas menangkal radikal.

Antioksidan dalam pengertian kimia, merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Malanggi *et al.* 2012).

Antioksidan tersebut mampu memberikan elektron kepada molekul radikal bebas sehingga dapat mencegah terjadinya stress oksidatif di dalam tubuh,

antioksidan meningkatkan *total antioksidant status (TAS)* yang menunjukkan peningkatan kapasitas dan aktivitas antioksidan dalam tubuh (Situmorag 2010).

H. Hewan uji

1. Klasifikasi hewan uji

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Odontoceti
Familia : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus* (Akbar 2010).

2. Gambaran umum

Tikus putih atau tikus laboratorium termasuk kedalam tikus yang memiliki ukuran tubuh medium. Berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Pada umur 4 minggu, berat badan tikus liar dapat mencapai 40-50 gram, sedangkan tikus laboratorium hanya 35-40 gram. Setelah dewasa berat badan tikus dewasa mencapai 300 gram atau lebih, sedangkan berat badan tikus laboratorium rata-rata 200-250 gram. Tikus liar dibandingkan dengan tikus laboratorium lebih mudah menjadi dewasa, dan umumnya lebih mudah berkembang biak. Lama hidup tikus 2-3 tahun, bahkan sampai 4 tahun. Umur dewasa tikus sekitar 40-60 hari dan dapat dikawinkan saat umur 10 minggu. Perkawinan terjadi pada saat estrus (masa birahi). Siklus estrus 4-5 hari dan lamanya 9-10 jam (Smith dan Mangkoewidjaja1988).

3. Karakteristik Utama Tikus Putih

Tikus merupakan hewan yang cerdas relatif resisten terhadap infeksi. Tikus putih umumnya tenang dan mudah ditangani dan kecenderungan untuk berkumpul sesamanya tidak begitu besar, hewan ini dapat tinggal sendiri dalam kandang asal masih mendengar atau melihat tikus lain. Aktivitasnya tidak terganggu dengan kehadiran manusia, tikus putih yang dikembangbiakan di dalam

laboratorium cenderung lebih cepat dewasa atau lebih mudah berkembang biak. Berat badan tikus dilaboratorium cenderung lebih ringan dibanding tikus liar (Sugianto 1995).

Tikus jantan kecepatan metabolisnya lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Kondisi biologis tubuh tikus jantan juga lebih stabil dibandingkan tikus betina. Pada tikus betina secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti kehamilan, menyusui, dan menstruasi (Sugianto 1995).

Tikus jantan memiliki kondisi biologis tubuh yang lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina. Keuntungan lainnya tikus jantan lebih tenang dan mudah ditangani serta mempunyai system hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan jenis kelamin betina sehingga dapat memberikan hasil percobaan yang baik (Anonim 1993).

I. Landasan Teori

Hati merupakan pusat dari metabolisme tubuh. Salah satu fungsi hepar yang penting adalah melindungi tubuh terhadap terjadinya penumpukan zat berbahaya yang masuk dari luar, misalnya obat (Rusmaladewi & Istanto 2014).

Salah satu contoh obat yang dapat menimbulkan kerusakan hepar adalah parasetamol. Efek keracunan parasetamol di antaranya adalah mual, muntah, anoreksia, hingga gagal multi organ yang dapat menyebabkan kematian. Pada manusia dilaporkan efek hepatotoksitas terjadi pada dosis $>7,5$ g/hari atau 150 mg/kg yang muncul sekitar 2-4 hari setelah asupan dosis toksis sedangkan pada tikus terjadi pada dosis tunggal 1000 mg/kgBB (Rusmaladewi & Istanto 2014).

penggunaan parasetamol yang berlebihan akan menyebabkan kadar GSH yang dihasilkan sangat rendah dan tidak mampu mengikat NAPQI sehingga menyebabkan terganggunya metabolisme sel hati (Gillman 2007).

Hepatoprotektif (pelindung hati) adalah senyawa obat yang memiliki efek teurapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan dari fungsi hati. Penyakit-penyakit kerusakan fungsi antara lain hepatitis, kanker, hati berlemak, insufisiensi hati, sirosis hati, sakit pada ulu hati, batu empedu, radang

kandung empedu, jumlah getah empedu yang sedikit, penyakit kuning, dan lain sebagainya (Armansyah 2010)

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan buah tropis yang kaya akan senyawa fitokimia yang aktif secara biologis.

Biji alpukat mengandung senyawa saponin, tannin, flavonoid, alkaloid, dan fenol. Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, antioksidan, serta peningkat sistem imun (Arukwe *et al.* 2012). Aktivitas farmakologi dari senyawa flavonoid adalah sebagai antialergi, antiviral, antiinflamasi, hepatoprotektif, antioksidan, antitrombotik, vasodilator dan antikarsinogenik (Seyoum *et al.* 2006).

Pengaruh infusa etanol biji alpukat sebagai hepatoprotektor juga diteliti oleh Hendra *et.al* 2014 menggunakan alpukat dengan dosis berturut-turut 360,7; 642,1 dan 1142,9 mg/kg sekali sehari secara 6 hari berturut-turut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infusa dan dekokta biji alpukat mempunyai efek protektif pada hepar dan ginjal tikus jantan terinduksi karbon tetraklorida.

Penelitian yang dilakukan Sutrisna *et al.* (2015) menunjukkan ekstrak etanol 70% biji alpukat memiliki aktivitas antioksidan invitro dengan IC₅₀ sebesar 41,5ppm. Berdasarkan penelitian yang di lakukan oleh Arukwe *et al.* 2012 menunjukkan hasil bahwa kandungan flavonoid yang di miliki oleh biji alpukat berkisar 1,90 ±0,07 mg/100 g dan kandungan fenol yang dimiliki oleh biji alpukat berkisar 6,14±1,28 mg/100 g.

J. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dikemukakan sebelumnya, maka hipotesis yang akan diuji dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB memberikan pengaruh terhadap histopatologi tikus yang di induksi parasetamol dosis toksik.
2. Dosis paling efektif ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat memberikan efek meningkatkan proteksi terhadap kerusakan sel hepar tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi dalam penelitian ini adalah biji alpukat yang diperoleh dari daerah Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat yang masih segar dan sudah matang.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol biji alpukat yang di ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol.. Variabel utama yang kedua adalah parasetamol yang di induksikan pada tikus putih jantan. Variabel utama yang ketiga adalah gambaran histopatologi hepar tikus jantan wistar. Variabel keempat dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang di kondisikan hepatotoksik setelah di induksi parasetamol.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terdahulu dapat diklasifikasikan kedalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi dosis ekstrak etanol biji alpukat yang diuji sebagai hepatoprotektor.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah gambaran histopatologi tikus jantan setelah pemberian ekstrak etanol biji alpukat.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi peneliti, kondisi laboratorium, dan kondisi fisik hewan uji yang meliputi jenis kelamin, umur dan berat badan dan kondisi lingkungan kandang.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, biji alpukat adalah biji alpukat yang diperoleh dari daerah Mojokerto, Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk biji alpukat adalah simplisia biji alpukat yang diambil dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, yang kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih tersisa, setelah itu dikeringkan dalam lemari pengering bersuhu 40°C, dihaluskan, dibuat serbuk dan diayak.

Ketiga, ekstrak etanol biji alpukat adalah ekstrak biji alpukat yang diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keempat, hewan percobaan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar dalam kondisi sehat. Tikus yang akan digunakan berumur 2-3 bulan dan umumnya memiliki berat badan 200-250 gram, ditempatkan dalam kandang dengan kondisi laboratorium standar (siklus gelap/terang 12/12, suhu $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$), diberi air secukupnya, dan diberi pakan tikus yang dijual komersial.

Kelima, parasetamol adalah penginduksi reaksi yang dioralkan pada tikus putih jantan, kemudian dilihat gambaran histologi tikus jantan.

Keenam, hepatoprotektor adalah senyawa obat yang memiliki efek terapeutik, untuk memulihkan, memelihara, dan mengobati kerusakan hati dari ekstrak biji alpukat dengan parameter gambaran histologi pada tikus putih jantan.

Ketujuh, efek hepatoprotektif ekstrak etanol biji alpukat dilihat dari tidak adanya kerusakan hepar pada tikus putih jantan. setelah dibandingkan dengan kelompok kontrol positifnya.

C. Alat, Bahan, dan Hewan Uji

1. Alat

Alat yang digunakan untuk ekstraksi yaitu bejana maserasi, tutup bejana, pengaduk yang digerakkan secara mekanik, bejana tempat hasil maserasi, dan penyerkai.

Alat dan bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi hepar tikus adalah alat bedah, papan bedah, staining jar, piring panas, mikrotom dan mikroskop.

Alat yang digunakan untuk hewan uji adalah kandang tikus, timbangan tikus, spuit injeksi dan jarum oral. Alat lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, lemari pengering, evaporator, ayakan nomor 40, stampher, pengaduk, dan alat-alat gelas.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini dua macam yaitu simplisia biji alpukat yang disari dengan cara maserasi.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, etanol 96%, parasetamol, CMC 1% sebagai *suspending agent*. klorofom, formalin 10%, FAA dalam alkohol 70%, alkohol, alkohol xilol, xilol murni, xilol parafin, parafin, albumin meyer, dan kanada balsam untuk membuat preparat

Hepatotoksikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah parasetamol yang diperoleh dari Indofarma, Bekasi.

Hepatoprotektor yang digunakan dalam penelitian ini adalah Curcuma® produksi PT. Soho yang diperoleh dari apotek Kimia Farma Surakarta, Jawa Tengah.

3. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 200-250 gram dalam kondisi baik dan anggota tubuh yang lengkap yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi biji alpukat

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan identifikasi biji alpukat, yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi tanaman secara makroskopis dari biji alpukat yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada.

2. Pembuatan serbuk biji alpukat

Biji alpukat diambil dalam keadaan bersih, kering, dan tidak busuk, kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih menempel pada simplisia, setelah itu dikeringkan dalam lemari pengering bersuhu 40°C, dihaluskan, dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat

Penetapan susut pengeringan serbuk biji alpukat dilakukan dengan cara menimbang serbuk biji alpukat masing-masing sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan ke dalam cawan yang ada pada alat *Moisture Balance*, kemudian diukur kelembabannya. Catat hasil pengukuran, setelah menit ke empat.

4. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat

Serbuk biji alpukat sebanyak 300 gram kemudian dimasukkan wadah berwarna gelap, ditambah etanol 96% sebanyak 2250 ml aduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari dan sering kali dikocok. Rendaman tersebut disaring dengan kain flanel, ampas dicuci dengan pelarut sampai volume 750 ml. Hasil dipekatkan dengan vakum evaporator sampai didapat ekstrak kental. Ekstrak dipekatkan dengan oven sampai didapat ekstrak kental

5. Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol biji alpukat

Penetapan susut pengeringan ekstrak etanol biji alpukat dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* dengan cara menimbang dengan seksama ekstrak etanol biji alpukat sebanyak 2 gram, kemudian diukur susut pengeringan dengan menggunakan *Moisture Balance*, waktu yang diperlukan dalam

pengukuran adalah 30 menit dan di tunggu sampai muncul angka dalam satuan persen.

6. Uji bebas etanol

Ekstrak biji alpukat bebas etanol dilakukan dan dibuktikan di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Hal ini bertujuan untuk memastikan apakah ekstrak masih mengandung etanol 96%. Ekstrak biji alpukat diuji etanolnya dengan melakukan uji esterifikasi etanol menggunakan reagen H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH kemudian dipanaskan, hasil uji bebas etanol dalam ekstrak biji alpukat ditandai dengan tidak adanya bau eter yang khas dari etanol.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol biji alpukat

7.1 Flavonoid. Ekstrak etanol biji alpukat dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, 0,1 gram serbuk Mg, kemudian ditambahkan asam klorida, pelarut amil alkohol, kemudian dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah/kuning/jingga pada amil alkohol (Depkes 1978).

7.2 Alkaloid. Ekstrak kental ditimbang 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas lalu dipanaskan selama 15 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Dimasukan larutan A sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 1,5 ml asam klorida 2%, larutan dibagi 3 sama sebanyak dalam tabung reaksi yang lain. Tabung reaksi yang pertama untuk pembandingan dan tabung reaksi kedua ditambah 2 tetes reagent Dragendrof, reaksi positif ditunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung ketiga ditambah 2-4 tetes Mayer, reaksi positif ditunjukkan adanya putih kekuningan (Robinson 1995).

7.3 Fenol. Fenol dapat diidentifikasi dengan cara ekstrak ditambahkan larutan $FeCl_3$ apabila terjadi warna hijau, ungu, biru, sampai hitam menunjukkan adanya senyawa fenolit terutama fenol-fenol bebas (Harbone 1987).

7.4 Saponin. Sampel ditambah air panas sama banyak didinginkan lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif ditunjukkan dengan

terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1989).

7.5 Tanin. Sebanyak 5 ml larutan ditambah 5 tetes pereaksi FeCl_3 5% b/v akan menghasilkan warna coklat kehijauan (Robinson 1995).

8. Penetapan dosis

8.1 Dosis ekstrak biji alpukat. Pemberian dosis ekstrak etanol biji alpukat dihitung berdasarkan pengobatan yang biasa digunakan pada masyarakat yaitu 4 g/70Kg BB manusia dikonversikan dosis tikus yaitu 0,072 g/200 g BB. Hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gidion Krisnadi *et al.* (2014) yang membuktikan dosis efektif sebesar 0,072 g/ 200 g BB tikus, tetapi digunakan dalam bentuk infusa. Secara matematis dosis ini setara dengan 72 mg/200 g BB tikus. Dosis ini dijadikan dosis tertinggi, penelitian ini menggunakan tiga peringkat dosis dengan faktor kelipatan 2 sehingga dosis etanol biji alpukat terendah sebesar 18 mg/200 g BB, dosis tengah sebesar 36 mg/200 g BB tikus, dan dosis tertinggi sebesar 72 mg/200 g BB tikus . Dosis ini merupakan dosis orientasi. Dan dosis tertinggi sebesar 72 mg/200 g BB tikus.

8.2 Dosis Parasetamol. Hepatotoksik dapat terjadi pada pemberian dosis tunggal 10-15 gram parasetamol (Goodman & Gilman 2007). Dosis toksik yang akan dipakai pada penelitian ini adalah 15 gram, maka dosis parasetamol untuk tikus putih berdasarkan tabel konversi manusia dengan berat 70 kg dan faktor konversi tikus putih 0,018 adalah $0,018 \times 15 \text{ gram} = 0,27 \text{ gram}/200 \text{ gram BB}$ tikus putih. Dosis ini setara dengan 1,35 g/Kg BB tikus.

8.3 Dosis Curcuma®. Dosis kandungan kurkumin dalam satu tablet Curcuma® adalah 200 mg/70 kgBB manusia untuk satu kali minum, maka dosis Curcuma® untuk tikus putih berdasarkan tabel konversi manusia dengan berat 70 kg dan faktor konversi tikus putih 0,018 adalah $0,018 \times 200 \text{ mg} = 3,6 \text{ mg}/200 \text{ gram BB}$ tikus putih. Dosis ini setara dengan 18 mg/kg BB

9. Pembuatan larutan CMC Na 1 %

Larutan CMC Na 1 % dibuat dengan cara melarutkan lebih kurang 1,0 gram CMC Na yang telah ditimbang seksama ke dalam air sampai volume 100 ml. Larutan ini digunakan sebagai suspending agent.

10. Pembuatan larutan Curcuma®

Satu tablet Curcuma® mengandung 200 mg kurkumin. Cara pembuatan suspensi Curcuma® dengan kadar 0,4 % adalah satu tablet Curcuma® digerus dalam mortir, kemudian dimasukkan dalam labu takar 50 ml, ditambah dengan larutan CMC Na 1% dan dikocok sampai homogen, setelah itu ditambah CMC Na 1 % sampai tanda batas maka kandungan kurkumin dalam larutan adalah 4 mg/ml.

11. Pembuatan suspensi dan penetapan dosis parasetamol

Suspensi parasetamol dibuat dalam konsentrasi 13,5% dengan mengambil serbuk parasetamol ditimbang 6,75 gram, dimasukkan dalam labu takar 50 ml kemudian disuspensikan dengan CMC Na 1% sampai tanda batas maka kandungan parasetamol dalam larutan adalah 135 mg/ml.

12. Perlakuan hewan uji

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar, berusia 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram. Tikus diadaptasikan pada lingkungan yang baru selama satu minggu untuk menyeragamkan pola hidup dan mencegah terjadinya stress. Selama masa adaptasi tikus diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Kelompok I (kelompok normal) yaitu kelompok yang hanya diberi CMC Na 1%. Kelompok II (kelompok positif) yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dan Curcuma®. Kelompok III (kelompok negatif) yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dan CMC Na 1%. Kelompok IV (kelompok perlakuan I) yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dosis ekstrak etanol biji alpukat I. Kelompok V (kelompok perlakuan II) yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dosis ekstrak etanol biji alpukat II. Kelompok VI (kelompok perlakuan III) yaitu kelompok yang diberikan parasetamol dosis ekstrak etanol biji alpukat III. Setiap kelompok sesuai dengan pembagian kelompoknya diinduksi sediaan uji setiap hari selama 6 hari berturut-turut. Pada hari ke-7 tikus diinduksi parasetamol dosis toksik sesuai dengan pembagian kelompoknya kemudian tikus dipuasakan selama 48 jam. Setelah perlakuan selesai dilaksanakan, pada hari ke-9 tikus dibedah

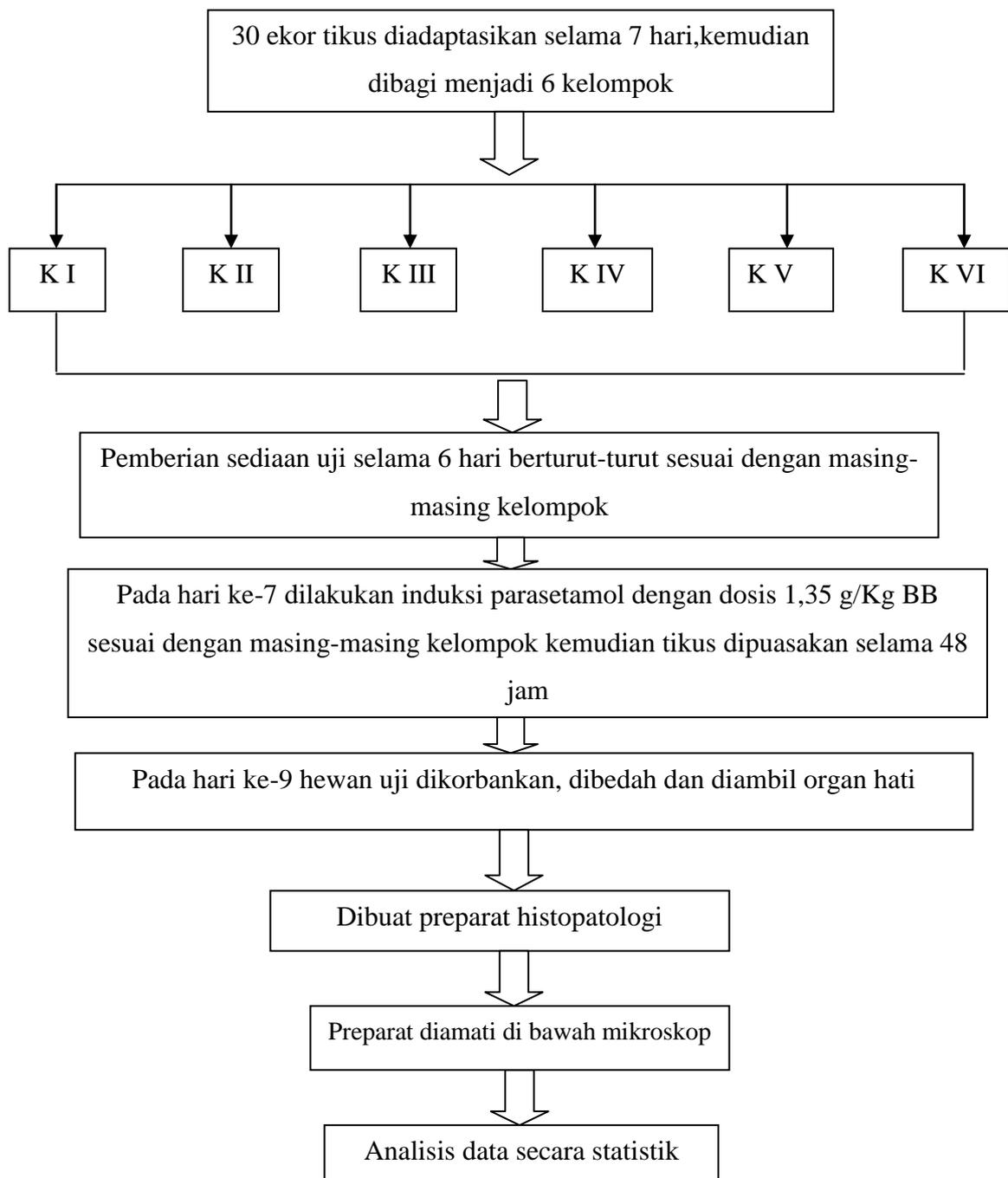
untuk diambil hepar. Organ hati yang telah difiksasi kemudian dibuat preparat histologinya sesuai prosedur Suntoro (1983).

13. Pembuatan preparat

Organ hati kemudian didehidrasi menggunakan alcohol bertingkat alcohol 70%, 80%, 90%, 95%, dan alcohol absolut masing-masing selama 1 jam. Setelah dehidrasi, dilakukan penjernihan selama 1 jam dengan cara organ hati dimasukkan ke dalam larutan alcohol xylol, kemudian dimasukkan ke dalam xylol murni I, II, III masing-masing selama 20 menit. Organ yang tidak jernih menunjukkan dehidrasi kurang baik sehingga harus didehidrasi kembali. Setelah organ hati tampak jernih, dilakukan tahap infiltrasi parafin. Tahap ini dilakukan dengan cara merendam organ hati dalam cairan paraffin dengan titik leleh 48-52°C, 52-54°C, dan 54-56°C masing-masing selama 1-2 jam (Suntoro 1983).

Setelah diinfiltrasi, organ ditanam dalam cetakan berisi parafin cair sampai mengeras. menggunakan *microtome* dengan ketebalan 6-10 µm. Irisan yang diperoleh ditempelkan pada gelas objek yang sebelumnya telah diolesi albumin. Albumin yang digunakan dicampur gliserin dengan perbandingan 1:1 dan disimpan dalam kotak sediaan selama satu hari sebelum digunakan. Agar benar-benar menempel, irisan ditetesi akuades kemudian diletakkan di atas *hot plate* pada suhu 40°C hingga mengering. Tahap selanjutnya adalah deparafinisasi yaitu menghilangkan parafin yang terdapat pada jaringan dengan cara merendam jaringan dalam xylol selama 10 menit. Setelah itu dilakukan proses pewarnaan. Jaringan histologis dihisap *xylol*-nya menggunakan kertas saring.

Kemudian preparat di warnai menggunakan zat haemotoxylin eosin. Setelah terwarnai, jaringan dicelupkan ke dalam alcohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alcohol absolut selama 10 menit. Tahap selanjutnya preparat dikeringanginkan dan dimasukkan ke dalam xylol selama 15 menit. Sediaan histologi selanjutnya ditetesi *Canada balsame* lalu ditutup dengan *coverglass*. Tahap terakhir preparat diberi label dan keterangan, kemudian diamati di bawah mikroskop (Suntoro 1983).



Gambar 2. Skema prosedur pengujian hewan uji.

Keterangan :

K I : Kontrol normal (CMC Na 1%)

K II : Kontrol negatif (paracetamol 1,35 g/Kg BB dan CMC Na 1%)

K III : Kontrol positif (paracetamol 1,35 g/Kg BB dan Curcuma®)

K IV : Perlakuan I (paracetamol 1,35 g/Kg BB dan dosis ekstrak biji alpukat 90 mg/kg BB)

K V : Perlakuan II (paracetamol 1,35 g/Kg BB dan dosis ekstrak biji alpukat 180 mg/kg BB)

K VI : Perlakuan III (paracetamol 1,35 g/Kg BB dan dosis ekstrak biji alpukat 360 mg/kg BB)

E. Pengambilan Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer, yaitu gambaran histopatologi jaringan hepar tikus wistar jantan dari setiap kelompok. Hepar yang diambil dari tikus kemudian dibuat 1 preparat histopatologi pewarnaan Hemaktosilin Eosin. penghitungan Preparat dilihat di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 x dihitung 100 sel hepatosit Gambaran histopatologi hepatosit tikus yang menggunakan kriteria *Manja Roenigk* dimulai dari penghitungan jumlah hepatosit yang normal lalu dikalikan 1, penghitungan jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi parenkimtosa dikalikan 2, jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik lalu dikalikan 3, dan penghitungan jumlah hepatosit yang nekrosis lalu dikalikan 4. Kemudian keempat hasil perkalian tersebut dijumlahkan untuk dianalisis secara statistik (Tamad *et al.* 2011).

Tabel 1. Kriteria penilaian derajat histopatologi sel hepar

Tingkat kerusakan	skor
Normal	1
Degenerasi parenkimatosa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

Pengamatan preparat histopatologi dikonsulkan dengan dokter Patologi Anatomi.

F. Analisis data

Nilai skoring yang diperoleh, kemudian diolah dengan menggunakan program computer SPSS 17. Data di uji dengan non parametik, karena data skoring merupakan data dalam bentuk cacah.

Data diuji dengan uji Kruskal-Wallis dan kemudian dilakukan uji mann-Whitney untuk membandingkan kelompok satu dengan lainnya.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Biji Alpukat

1. Identifikasi biji alpukat (*Persea americana* Mill.)

Identifikasi yang dilakukan untuk mendapatkan kebenaran tanaman sebagai obyek penelitian dengan cara mencocokkan ciri dan literatur. Identifikasi dilakukan di bagian Biologi Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Tujuan identifikasi ini adalah mencocokkan ciri morfologi yang ada. Biji alpukat yang diteliti dan mengetahui kebenaran biji alpukat yang diambil, serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Berdasarkan hasil identifikasi dapat dipastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.) (Lampiran 1).

2. Pembuatan serbuk biji alpukat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat yang diambil di Desa Mojosongo, Kecamatan Nusukan, Surakarta Jawa Tengah, biji alpukat yang diambil adalah biji alpukat yang masih segar, dan tidak berwarna coklat.

Biji alpukat yang telah diambil kemudian dicuci dan dibersihkan dari kotoran yang menempel, diperoleh berat basah sebanyak 4500 gram. Biji alpukat kemudian diiris kecil-kecil lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 8 hari. Pengeringan menggunakan oven dipilih karena jenis pengeringan ini tidak tergantung pada cuaca, suhu bisa diatur dan tanpa pengaruh sinar UV (Katno dan pramono S 2006). Biji alpukat yang sudah kering kemudian ditimbang dan diperoleh berat kering sebanyak 1900 gram yang kemudian digiling lalu diayak dengan menggunakan ayakan no 40.

Tabel 2. Hasil persentasi berat kering terhadap berat basah biji alpukat

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Persentase (%)
4500	1900	42,22

Berdasarkan data yang diperoleh dari penimbangan berat basah biji alpukat dan berat kering diambil 300 gram biji alpukat kering. Dari data tersebut diperoleh persentase berat kering terhadap berat basah dan dapat dilihat pada Lampiran 11.

3. Penetapan susut kering serbuk biji alpukat

Penetapan susut kering biji alpukat diukur di Universitas Setia Budi dengan menggunakan alat pengukur susut kering yaitu *moisture balance*. Kandungan lembab biji alpukat adalah 6,3%

Tabel 3. Hasil penetapan susut kering biji alpukat

Berat serbuk (g)	Susut pengeringan (%) \pm SD
2	7,5
2	6,0
2	5,5
Rata-rata	6,3 \pm 1,040

Susut kering biji alpukat adalah 6,3%. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan biji alpukat memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Perhitungan % susut kering dapat dilihat di lampiran 12.

4. Pembuatan ekstrak etanol biji alpukat

Pembuatan ekstrak etanol pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Serbuk dari simplisia biji alpukat 300 gram digunakan untuk pembuatan ekstrak dengan 2250 ml pelarut etanol 96%. Menggunakan etanol 96% karena merupakan pelarut universal, sehingga dapat menarik sebagian senyawa yang ada pada simplisia tersebut. Penggunaan etanol 96% dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil (Voight 1995). Maserasi dilakukan menggunakan botol kaca gelap agar terhindar dari sinar matahari. Prosesnya dilakukan dalam keadaan tertutup agar etanol tidak menguap pada suhu kamar. Proses maserasi selama lima hari kemudian disaring rendaman tersebut disaring dengan kain flanel, ampas dicuci dengan pelarut sampai volume 750 ml., dipisahkan menggunakan alat evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental. Proses maserasi serbuk biji alpukat menghasilkan

ekstrak kental 37,5 gram. Prosentase rendemen ekstrak adalah 12,5 %.Perhitungan prosentase rendemen ekstrak terlampir dalam lampiran 13.

Tabel 4. Hasil perhitungan ekstrak etanol biji alpukat

Bahan	Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (% b/b)
Biji alpukat	300	37,5	12,5

5. Penetapan susut kering ekstrak biji alpukat

Penetapan susut kering ekstrak etanol biji alpukat diukur di Universitas Setia Budi dengan menggunakan alat pengukur susut kering yaitu *moisture balance*. Kandungan susut kering biji alpukat adalah 3,3%

Tabel 5. Hasil penetapan susut kering biji alpukat

Berat serbuk (g)	Susut pengeringan (%) \pm SD
2	3,5
2	2,5
2	4,0
Rata-rata	3,3 \pm 0,76

Susut kering biji alpukat adalah 3,3%. Hal ini menunjukkan bahwa susut pengeringan ekstrak etanol biji alpukat memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10%. Perhitungan % pengeringan ekstrak etanol biji alpukat dapat dilihat pada lampiran 14.

6. Uji bebas etanol

Uji kandungan etanol 96% pada ekstrak etanol biji alpukat menggunakan metode esterefikasi dengan menggunakan asam asetat dan asam sulfat tidak menimbulkan bau ester sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak kental biji alpukat sudah bebas dari etanol 96%

7. Identifikasi kandungan kimia

Hasil analisis kandungan senyawa kimia serbuk biji alpukat dan ekstrak etanol biji alpukat secara kualitatif berdasarkan pengamatan dan pustaka.

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia serbuk dan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung senyawa golongan

flavonoid, alkaloid, fenol, saponin dan tannin. Gambar hasil identifikasi kandungan senyawa tersebut dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji alpukat secara kualitatif

senyawa	hasil	keterangan	pustaka
Flavonoid	Jingga pada lapisan amil alkohol	+	terjadi warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978)
alkaloid	Pada reagent Dragendrof Kekeruhan dan endapan coklat.	+	+ reagen Dragendrof kekeruhan dan endapan coklat (Robinson 1995)
	Pada reagen Mayer putih kekuningan		+ reagen Mayer putih kekuningan (Robinson 1995)
fenol	Warna hitam	+	Warna hijau, ungu, biru, sampai hitam (Harbone 1987).
Saponin	Terbentuk buih yang mantap setinggi 2 cm + HCl 2 N buih tidak hilang	+	Terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm + HCl 2 N buih tidak hilang (Robinson 1995)
tanin	Warna coklat kehijauan	+	Warna coklat kehijauan (Robinson 1995)

8. Histologi organ

Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan cara hewan uji dikorbankan pada akhir pengamatan, kemudian organ heparnya diambil untuk diamati secara mikroskopis. Pembuatan preparat histologi dengan metode *block paraffin* dan pewarnaan menggunakan *Haematoxilin Eosin* (HE). Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopis dengan menggunakan mikroskopis cahaya dengan perbesaran 400 kali pada seluruh lapang pandang pada setiap sediaan (Rohmani 2015). Surat keterangan pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 7. Hasil rata-rata skor histopatologi hepar tikus

Kelompok perlakuan	Skor histopatologi
Kontrol normal	103,2 ± 1,483 ^{bc}
Kontrol negatif	158,6 ± 7,266 ^{ac}
Kontrol positif	114,2 ± 3,114 ^{ab}
Perlakuan I	137,2 ± 1,788 ^{abc}
Perlakuan II	129,4 ± 1,140 ^{abc}
Perlakuan III	128,6 ± 4,827 ^{abc}

Keterangan :

Terdapat perbedaan bermakna $\alpha = 95\%$, $p < 0,05$

a= perbedaan terhadap kontrol normal

b= perbedaan terhadap kontrol negative

c=perbedaan terhadap kontrol positif

Berdasarkan hasil tabel 7 di atas diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna $p < 0,05$ pada setiap perlakuan yang diberikan. Hasil analisis statistik tingkat kemaknaan hasil mann-Whitney Test terhadap kadar skoring histopatologi hepar hati tikus dapat dilihat pada lampiran 18.

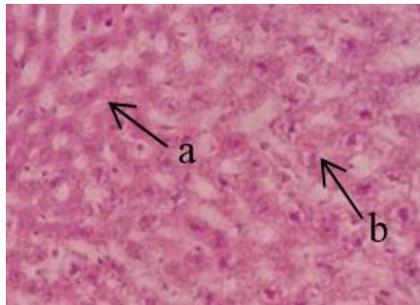
Berdasarkan tabel diatas terdapat perbedaan bermakna Terdapat perbedaan yang bermakna tingkat kerusakan struktur histopatologi hepar antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian parasetamol dosis toksik cukup membuat kerusakan pada hepar.

Perbandingan antara kelompok kontrol normal dengan kelompok perlakuan baik perlakuan I, perlakuan II, maupun perlakuan III menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan pemberian ekstrak etanol biji alpukat selama 6 hari, belum mengembalikan sel hepar pada morfologi yang normal. Namun terdapat perbedaan bermakna antara semua kelompok perlakuan dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat mampu memberikan efek hepatoprotektif.

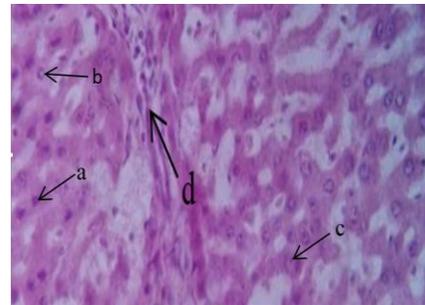
Tabel diatas menunjukkan hasil terdapat perbedaan bermakna pada semua kelompok perlakuan dengan kontrol normal, hal ini menunjukkan hasil bahwa pemberian ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek hepatoprotektor tapi belum dapat memperbaiki sel hingga sel normal.

Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan

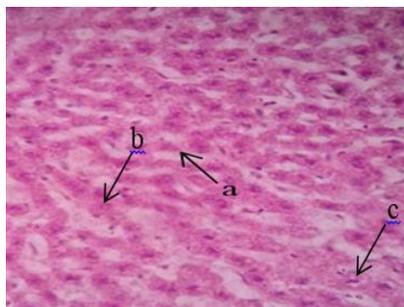
menunjukkan efek perbaikan pada sel hepatosit akibat parasetamol tetapi tidak setara dengan kontrol positif.



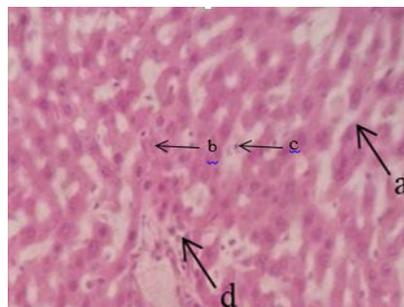
kelompok kontrol normal



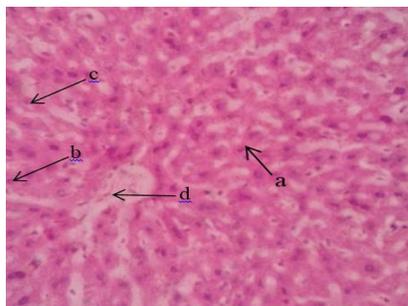
kelompok kontrol negatif



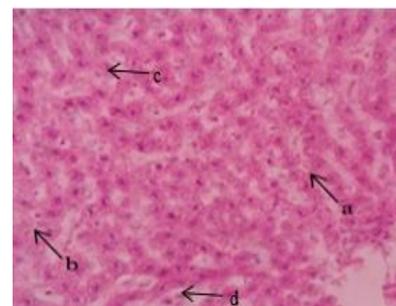
kelompok kontrol positif



kelompok perlakuan I



kelompok perlakuan II



kelompok perlakuan III

Gambar 2. Gambaran Histopatologi sel hati tikus wistar, gambaran normal (a), gambaran degenerasi parenkimatosa (b), gambaran degenerasi hidropik (c) dan gambaran nekrosis (d)

Menurut Santosa (2005) apabila senyawa racun yang masuk terlalu besar sehingga bersifat toksik pada hepar, maka akan menimbulkan degenerasi jaringan hepar. Kemudian terjadi nekrosis yang dapat merusak jaringan hepar.

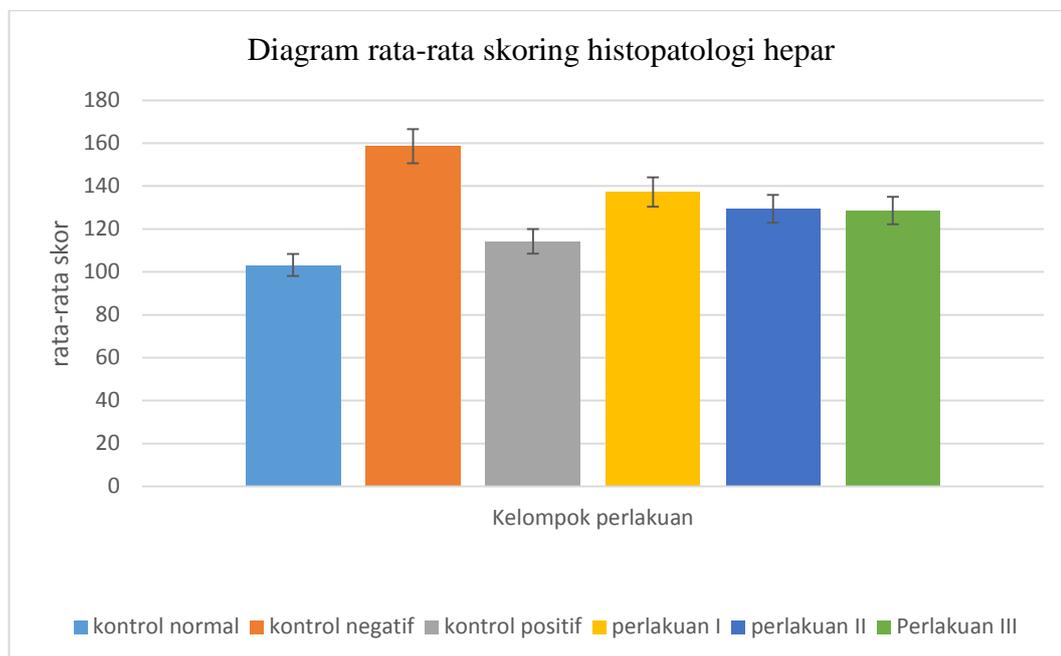
Salah satu parameter kerusakan hati adalah dengan melihat gambaran histopatologi hepar. Salah satu metode skoring histopatologi yang digunakan

adalah *Manja Roenigk* pada metode ini kerusakan yang dilihat adalah berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis.

Gambaran sel di bawah mikroskop cahaya meliputi sel normal, degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Degenerasi merupakan cedera karena toksik dan dapat menyebabkan pembengkakan atau edema hepatosit. Degenerasi sel dapat berupa degenerasi parenkimatososa, hidropik dan melemap. Degenerasi parenkimatososa merupakan bentuk degenerasi paling ringan dan bersifat reversibel. Degenerasi parenkimatososa terjadi akibat kegagalan oksidasi yang menyebabkan air tertimbun dalam sel sehingga transportasi protein terganggu (Tamad *et al.* 2011). Pada degenerasi parenkimatososa sel sitoplasma mengalami pembengkakan dan timbul granula akibat endapan protein.

Degenerasi hidropik sel pada dasarnya sama dengan degenerasi parenkimatososa, tetapi derajat degenerasinya lebih besar jika dibandingkan degenerasi parenkimatososa tampak vakuola berisi air dalam sitoplasma yang tidak mengandung lemak atau glikogen. Hal ini disebabkan karena gangguan transpor aktif yang menyebabkan sel tidak mampu memompa ion Na^+ keluar sehingga konsentrasi ion Na^+ di dalam sel naik. Pengaruh osmosis menyebabkan influks air ke dalam sel sehingga terjadi perubahan morfologis yaitu sel menjadi bengkak atau disebut degenerasi hidropik (Tamad *et al.* 2011). Degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma pucat, mengalami vakuolisasi, dan vakuola tampak jernih karena adanya penimbunan cairan dalam sel dan kemudian air memasuki vakuola vakuola tersebut (Hastuti 2006).

Apabila kemudian terjadi robekan membran plasma dan terjadi perubahan inti maka jejas sel menjadi ireversibel dan sel mengalami nekrosis (kematian). Kerusakan hepatosit berupa nekrosis ditandai dengan nukleus yang menghitam dan mengalami fragmentasi. Selain itu, hepatosit tampak semakin kecil dan mengkerut sehingga mempunyai bentuk yang tidak teratur (Utomo 2012).



Gambar 3. Diagram rata-rata skoring histopatologi hepar

Metode skoring yang digunakan pada penelitian ini adalah histopatologi dengan metode *Manja Roenigk* pada metode ini kerusakan yang dilihat adalah berupa degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik dan nekrosis. Dimana pada metode tersebut dihitung sebanyak 100 sel hepatosit dengan perbesaran mikroskop cahaya 400 x. Pengumpulan data dimulai dari penghitungan jumlah hepatosit yang normal lalu dikalikan 1, penghitungan jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi parenkimtosa dikalikan 2, jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik lalu dikalikan 3, dan penghitungan jumlah hepatosit yang nekrosis lalu dikalikan 4. Kemudian keempat hasil perkalian tersebut dijumlahkan.

Berdasarkan gambar 3 diketahui bahwa kelompok normal yaitu kelompok tikus yang hanya diberikan CMC Na 1%, memiliki rata-rata skor histopatologi hepar sebesar $103,2 \pm 0,44$. Pada kelompok normal gambaran histopatologi hepar dalam keadaan normal. Hal ini dapat dilihat dari sel-sel hepatosit mempunyai inti sel yang masih baik.

Pada kelompok kontrol negatif, yaitu kelompok tikus dengan pemberian parasetamol, tampak kerusakan jaringan yang cukup tinggi. Hal ini dikarenakan

hewan uji pada kelompok ini tidak diberikan antioksidan sehingga terjadi kerusakan sel hepar yang parah. dengan rata-rata skor sebesar $158,6 \pm 7,266$. Pada pemeriksaan preparat histopatologi kelompok negatif nampak gambaran jaringan hepar yang mengalami kerusakan dengan sel yang kematian nekrosis. Hal ini terjadi karena Parasetamol yang digunakan pada dosis berlebihan atau dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan efek toksik pada hati. Parasetamol dimetabolisme oleh hati melalui sitokrom P₄₅₀ yang menyebabkan konversi parasetamol menjadi metabolit reaktifnya yaitu *N-acetyl-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) suatu senyawa yang toksik dan reaktif. Senyawa radikal ini berikatan dengan gugus-SH pada protein membran menyebabkan nekrosis sel dan peroksidasi lipid akibat penurunan glutathion (GSH) dalam hati sebagai penyebab hepatotoksisitas (Murungesh *et al.* 2005).

Hasil rata-rata skoring gambaran struktur mikroanatomi pada kelompok perlakuan ekstrak etanol biji alpukat menunjukkan adanya kerusakan sel hepar berupa degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Hal ini menunjukkan bahwa kerusakan sel hepar yang disebabkan karena pemberian parasetamol dosis tunggal toksik 1,35 g/ Kg BB tikus belum mampu diperbaiki mendekati normal oleh pemberian ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB. Hal itu dapat dilihat ada perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan dengan kontrol normal. Perbedaan signifikan tersebut dapat disebabkan karena dosis ekstrak etanol biji alpukat yang masih kurang sehingga dampak negatif dan radikal bebas belum mampu diredam sepenuhnya oleh antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etanol biji alpukat. juga dapat disebabkan karena durasi pemberian ekstrak etanol biji alpukat yang kurang lama.

Namun secara rata-rata dan statistik kelompok perlakuan ekstrak etanol biji alpukat dan kontrol negatif menunjukkan perbedaan yang signifikan hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat mampu memberikan efek proteksi pada sel hepar dari kerusakan sel akibat paparan parasetamol yang diberikan peroral.

Degenerasi sel ada beberapa macam diantaranya degenerasi parenkimatosa dan degenerasi hidropik. Degenerasi merupakan tanda awal kerusakan hati akibat toksin yang bersifat sementara (reversible) dan sel masih dapat pulih atau normal kembali apabila paparan toksin dihentikan (Harada *et al.* 1999).

Degenerasi parenkimatosa merupakan degenerasi paling ringan yang ditandai dengan terjadi sitoplasma membengkak dan sitoplasma berglanula hal ini dikarenakan sel tidak mampu mengeliminasi air sehingga tertimbun di dalam sel dan organela- organela sel juga turut menyerap air dan membengkak sehingga mengakibatkan sitoplasma nampak bergranula (Hastuti 2006).

Sedangkan degenerasi hidropik ditandai dengan sitoplasma mengalami vakuolisasi dan vakuola nampak jernih karena sel menerima cairan lebih banyak dari normalnya dan terakumulasi dalam sitoplasma sel sehingga sel membengkak.

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan dimana inti sel menjadi lebih padat (Mulyono *et al.* 2006). Pemberian perlakuan dengan ekstrak etanol biji alpukat mampu menurunkan tingkat kerusakan pada sel hepar. Tingkat kerusakan sel hepar lebih banyak terjadi pada kelompok kontrol negatif hal ini dikarenakan paparan dari zat toksik parasetamol yang mampu merusak sel hepatosit.

Secara menyeluruh kerusakan sel berupa degenerasi parenkimatosa, degenerasi hidropik dan nekrosis yang terjadi di hepar pada seluruh kelompok perlakuan didapatkan tingkat terendah terjadinya kerusakan hepatosit pada kelompok perlakuan dosis 360 mg/BB. Pada dosis rendah 90 mg/BB ekstrak biji alpukat sudah mampu melindungi sel dari kerusakan hepar namun belum dapat dijadikan sebagai dosis efektif karena masih terdapat kerusakan sel hepar dalam jumlah yang banyak (Istikhomah dan Lisdiana 2015).

Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan III. Hal ini menunjukkan bahwa dosis 180 mg/kg BB dapat dijadikan dosis efektif dalam penelitian ini.

Kemampuan ekstrak etanol biji alpukat dalam memberikan efek protektif pada sel hepar dikarenakan senyawa flavonoid dan fenol yang terkandung pada biji alpukat dapat bertindak sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut

memiliki mekanisme kerja mendonorkan satu elektronnya kepada radikal bebas derivat karbon tetraklorida sehingga proses oksidasi dari proses tersebut dapat dihambat.

Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek hepatoprotektif.

Efek hepatoprotektif pada kelompok perlakuan di atas dikarenakan adanya senyawa antioksidan pada biji alpukat, yang mampu melindungi hati yang terinduksi parasetamol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sutrisna *et al.* (2015) diketahui bahwa ekstrak biji alpukat memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 41,5 ppm dengan senyawa aktif berupa flavonoid dan fenol. Penelitian yang dilakukan oleh Konsiska *et al.* (2012) menunjukkan hasil bahwa biji alpukat jenis hass dan shapred memiliki kapasitas antioksidan EC_{50} sebesar 0,920 mg DW (berat kering) pada varietas hass dan 0,776 mg DW (berat kering) pada varietas shepard. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Arukwe *et al.* (2012) biji alpukat mengandung flavonoid. Kandungan flavonoid dalam biji alpukat tersebut berkisar $1,90 \pm 0,07$ mg/100 g dan kandungan fenol $6,14 \pm 1,28$ mg/100 g. Senyawa fenol dalam biji ditemukan lebih besar dibanding dalam buah maupun daun. Fenol merupakan senyawa yang banyak ditemukan di tumbuhan. Fenol biasanya dikelompokkan berdasarkan jumlah atom karbon pada kerangka penyusunnya. Senyawa fenol sebagai antioksidan mampu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas fenol merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai antiradikal bebas Fungsi fenol sebagai antioksidan yakni dari mekanismenya mendonorkan elektron (Chou *et al.* 2003). Penelitian lain menunjukkan fungsi fenol sebagai antioksidan berkaitan dengan kemampuannya dalam penangkapan radikal berupa DPPH, radikal hidroksil, dan radikal superoksida (Sakthidevi dan Mohan 2013).

Adanya kandungan senyawa fenol di dalam biji alpukat memberikan aktivitas penangkapan radikal terhadap DPPH (Konsinska *et al.* 2012). Fenol memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, antioksidan, serta peningkat sistem imun (Arukwe *et al.* 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Hendra *et al.* (2016) menunjukkan hasil bahwa senyawa fenol yang terkandung pada kulit alpukat mampu memberikan efek proteksi pada hepar tikus yang terinduksi tetraklorida.

Flavonoid berpengaruh dalam menghambat kerusakan hati dengan cara mengikat radikal bebas sehingga dampaknya terhadap hati berkurang. Dalam penelitian ini radikal bebas berasal dari oksidasi parasetamol oleh hati. Radikal bebas akan menyebabkan gangguan integritas membran hepatosit sehingga menyebabkan keluarnya berbagai enzim dari hepatosit, antara lain SGOT dan SGPT. Enzim yang keluar dari hepatositkan meningkat kadarnya dalam serum sehingga dapat menjadi indikator kerusakan hati (Armansyah 2010). Flavonoid merupakan antioksidan sangat kuat sehingga flavonoid dapat mencegah kerusakan oksidatif sel, mempunyai aktifitas perlindungan dan anti kanker yang kuat (Salah *et al.* 1995). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Brai *et al.* (2014) tentang ekstrak air pada daun alpukat menunjukkan hasil bahwa senyawa flavonoid dapat menurunkan aktivitas ALT, AST, ALP dan mengurangi Tingkat TBL. Aktivitas enzim antioksidan yang terdapat pada daun alpukat juga dapat menurunkan kadar malondialdehid.

Salah satu jenis flavonoid yang dapat bertindak sebagai hepatoprotektor adalah kuersetin, Kuresetin merupakan salah satu jenis flavonoid yang dapat meningkatkan glutathion di dalam sel (Durgo *et al.*, 2007). Kuresetin merupakan senyawa flavonoid golongan flavol yang memiliki sifat praktis tidak larut air dan lebih larut pada senyawa alkohol dan pelarut organik. penelitian yang dilakukan oleh Madrasi (2014) menunjukkan hasil bahwa kuresetin yang terkandung dalam dalam benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*) mampu bertindak sebagai antioksidan dan hepatoprotektor

Ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB diketahui mampu memberikan efek protektif pada sel hepar namun

tidak setara dengan kontrol positif Curcuma®. Hal ini dikarenakan Curcuma® bekerja lebih baik dalam memproteksi hati. Kandungan kurkumin yang terdapat pada Curcuma® sebagai antioksidan yang mampu menangkap ion superoksida dan memutus rantai antar ion superoksida (O_2^-) sehingga mencegah kerusakan sel hepar karena peroksidasi lipid dengan cara dimediasi oleh enzim antioksidan yaitu *superoxide dismutase* (SOD) dimana enzim SOD akan mengonversi O_2^- menjadi produk yang kurang toksik. kurkumin juga mampu meningkatkan *glutathion S-transferase* (GST) (Marinda 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Hartono *et al.* (2005) menunjukkan hasil bahwa *Curcuma domestica* Val. dapat mencegah kerusakan hati selain itu juga telah diketahui efek rimpang *Curcuma domestica* Val. mengandung senyawa yang berkhasiat obat yaitu *kurkuminoid*, yang terdiri atas *kurkumin*, *desmetoksikurkumin*, dan *bisdesmetoksikurkumin*. Senyawa *kurkumin* ini yang diduga mampu melindungi sel-sel hati dari bahan toksik (Khanna, 1999). *Kurkumin* memberikan karakteristik warna kuning terang dan rasa yang kuat pada curcuma. *Kurkumin* larut dalam alkohol dan asam asetat glasial, tidak larut dalam air dan eter. Setelah pemberian peroral akan diabsorpsi oleh usus dan ekskresinya sebagian besar lewat feses. Konsentrasi dalam serum akan mencapai puncak setelah satu jam, kemudian turun sampai nol setelah lima jam. Selain mempunyai efek antihepatotoksik, curcuma juga mempunyai efek antiinflamasi, antibakteri, antiperoksidasi, spasmolitik, meningkatkan sekresi empedu, menurunkan kadar kolesterol darah, serta dapat mencegah perlemakan hati (Sujatno, 1997). *Kurkumin* yang ada dalam ekstrak curcuma berfungsi sebagai antihepatotoksik yang melindungi sel-sel hati dari kerusakan. *Kurkumin* ini telah terbukti mampu meningkatkan muatan *glutathion* hati sehingga kebutuhannya untuk berkonjugasi dengan NAPQI akan terpenuhi dan tidak terjadi ikatan NAPQI dengan makromolekul hepatosit (Hartono *et al.* 2005)

Penelitian yang dilakukan oleh Hendra Phebe *et al.* (2014) menunjukkan hasil bahwa infusa biji alpukat dapat memproteksi hepar dan ginjal tikus terinduksi karbon tetraklorida. Pada dosis 360,7 mg/kgBB. Sedangkan dekokta

biji alpukat dengan dosis 1142,9 mg/kg BB memberikan efek protektif yang terbesar dibandingkan dosis lainnya.

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek protektif karena mengandung senyawa fenol yang mampu memberikan aktivitas penangkapan radikal terhadap DPPH dan Flavanoid yang berpengaruh dalam menghambat kerusakan hati dengan cara mengikat radikal bebas sehingga dampaknya terhadap hati berkurang.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

Pertama, ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 90 mg/kg BB, 180 mg/kg BB, dan 360 mg/kg BB memiliki pengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

Kedua, ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 180 mg/kg BB merupakan dosis efektif yang dapat meningkatkan efek proteksi terhadap kerusakan sel hepar tikus yang diinduksi parasetamol dosis toksik

B. Saran

Saran pada para peneliti selanjutnya adalah:

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol biji terhadap gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar menggunakan metode ekstraksi yang lain, dosis yang lebih besar dan pelarut yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji toksisitas dari tanaman biji alpukat agar mengetahui batasan dosis maksimum yang dapat digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1978. *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1979. *Farmakope Indonesia*. Ed III. Jakarta : Departemen Kesehatan Indonesia
- [DepKes RI] Departemen kesehatan .1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [DepKes] Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DepKes]men Kesehatan.1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes] Departemen Kesehatan, Direktorat Jendral, Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Bakti Husada.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa aktif yang Berfungsi sebagai Antifertilitas*. Jakarta: Adabia press UIN
- Anief, M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Anonim. 1993. *Farmakope Indonesia*. Ed ke IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Hal 67
- Anshar AR. 2015. Pengaruh pemberian jus alpukat terhadap gambaran kadar blood urea nitrogen (BUN) dan serum kreatinin pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang di induksi meloxicam dosis toksik [skripsi]. Universitas Hasanudin: Makasar
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Anindita R, Soeprobowati TR, Suprpti NH. 2012. Potensi teh hijau (*Camelia sinensis* L.) dalam perbaikan fungsi hepar pada mencit yang diinduksi monosodium glutamat (MSG) .*Buletin Anatomi dan Fisiologi XX*,

- Armansyah T. TR, Sutriana A, Aliza D, Vanda H, Rahmi E. 2010. aktivitas hepatoprotektif ekstrak etanol daun kucing-kucingan (*Acalypha indica*.) pada tikus putih (*Rattus Novergicus*) yang diinduksi paracetamol. *Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu Peternakan*.
- Arukwe U, Amadi BA, Duru MKC, Agomuo EN, Adindu EA, Odika PC, Lele KC, Egejuru, L, Anudike J. 2012, Chemical Composition of *Persea americana* leaf, fruit and seed. *IJJRAS* 11: 346-348.
- Aslam M, Tan CK, Prayitno A. 2003. *Farmasi Klinik (Clinical Pharmacy)*. Jakarta . PT. Elex Media Komputindo. Hal 157-159.
- Brai BIC, Adisa RA, Odetola AA. 2014. hepatoprotective properties of aqueous leaf extract of *Persea americana*, Mill (Lauraceae) 'avocado' against ccl4-induced damage in rats. *J Tradit Complement Altern Med*. 11(2):237-244
- Chou ST, Chao WW, and Chung YC. 2003. Antioxidative Activity and Safety of 50% Ethanolic Red Bean Extract (*Phaseolus radiatus* L. var. Aurea). *J Food Sci* 68: 21-25
- Girish C, Koner Bc, Jayanthi S, Rao KR, Rajesh B, Pardhan SC. 2009. hepatoprotektive activity of six polyherbal formulation in paracetamol induced liver toxicity in mice. *Indian J Med Res* 129: 569-578.
- Goodman LS, Gilman A. 2007. *Farmakologi Dasar Terapi*. Jakarta: EGC
- Guyton A.C. and J.E Hall .1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta: EGC
- Hadinata MT. 2016. Uji efek hepatorepair ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi paracetamol [Naskah Publikasi] Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Harada T, Enomoto A, Boorman GA, Maronpot RR. 1999. Liver and Gallbladder. In: Maronpot RR. *Pathology of The Mouse*. Reference and Atlas. Edisi 1. Cache River Press. 199-136
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi 4, terjemahan Kosasih P dan Soediro L. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Hal 155
- Hariana, A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya, Depok. 2004
- Hastuti US. 2006. Pengaruh Berbagai Dosis Citrinin terhadap Kerusakan Struktur Hepatosit Mencit (*Mus musculus*) pada Tiga Zona Lobulus Hepar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 22 : 121-124

- Hayati EK, Halimah N. 2010. phytochemical test and brine shrimp lethality test against *Artemia Salina Leach* of anting-anting (*Acalipha indica* Linn.) plant extract. *Alchemy*. Vol.1, No.2, hal 53-103.
- Hendra P, Krisnadi G, Perwita Ni LPD, Kumalasari I, Quraisyin YA. 2014. hepatoprotective and nephroprotective effects of avocado seeds against carbon tetrachloride in rats. *Trad. Med. J* 19 : 133-137
- Hendra P, Liong P, Putri BWR, Fransiskus AS, Andriani F, Putriati A, Eviani T *et al.* 2016. efek proteksi dekokta kulit alpukat pada hepar tikus yang terinduksi karbon tetraklorida. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*: Hlm 61-66
- Istikhomah, Lisdiani. 2015. efek hepatoprotektor ekstrak buah pedada (*sonneratia caseolaris*) pada tikus putih (*rattus norvegicus*). *Unnes Journal of Life Science* 1: 1-8
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dsar dan Klinik*. Buku 2. Edisi 8. Jakarta: Salemba Medika. Hal 485
- James LP, mayeux PR, hinson JA. 2003. acetaminophen-induced hepatotoxicity. *aspet journals* 3: 499–1506
- Julio E, Busman H, Nurcahyani N. 2013. struktur histologis hati mencit (*Mus musculus* L.) sebagai respon terhadap kebisingan. Seminar Nasional Sains & Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung
- Junqueira LC dan Carneiro J. 1997. *Histologi Dasar*. Edisi 8. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Katno, Pramono. S., 2006. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tumbuhan Obat dan Obat Tradisional*. Jakarta: PT Rineka Cipta
- Konsinska, A., Karamec, M., Estrella, I., Hernandez, T., Bartolome, B., Dykes, G.A., 2012, Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. Peels and Seeds of two varieties, *J. of Agric. Food Chem.*, 60: 4613-4619.
- Lesson CR. 1996. *Buku Teks Histologi*. Jakarta: EGC
- Lu FC. 1995, *Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian Risiko*, diterjemahkan oleh Nugroho, E., Edisi kedua, 210, UI Press, Jakarta.
- Malangngi, LP. Sangi, MS. Paendong JJ E. 2010. penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). [Jurnal]. 5-10.

- Manatar AF, wangko S, Kaseke MM. 2013. gambaran histologik hati tikus wistar yang diberi virgin coconut oil dengan induksi parasetamol. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5 : 60-67
- Marlinda M, Sangi MS, Wuntu AD. 2012. analisis senyawa metabolit sekunder dan uji aktifitas ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill). [Jurnal]. 24-28.
- Maulida A, Ilyas S, Hutahaean. 2013. Pengaruh pemberian vitamin c dan e terhadap gambaran histologis hepar mencit (*Mus musculus* L.) yang Dipajankan Monosodium Glutamat (msg). *Saintia Biologi*;1(2):15-20
- Mulyono A, Ristiyanto, Soesanti N. 2006. Karakteristi Histopatologi Hepar Tikus Got *Rattus norvegicus* Infektif *Leptospira* Sp. *Jurnal Vektora* 1(2):84-92
- Murugesh KS, Yeligar VC, Maiti BC, Maity TK. 2005. hepatoprotektive and antioxidant role of berberis tinctoria lesch leave on paracetamol induced hepatic damage in rats. *Iranian J Pharmol Therapeutics (IJPT)* 4 (1).
- Mursyidi A. 1990. *Analisis Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi Universitas Gajah Mada. Hal 175
- Noviyati KS. 2016. Uji Aktivitas Antiarthritis kombinasi ekstrak etanol biji alpukat (*Persea Americana* Mill.) dan triamsinolon pada tikus jantan yang diinduksi Complete Freund's Adjuvant (CFA) [Skripsi]. Universitas Setia Budi.
- Rini AS, Hairrudin S.2013. efektivitas ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn.) sebagai nefroprotektor pada tikus wistar yang diinduksi parasetamol dosis toksik. *Jurnal Pustaka Kesehatan* 1
- Pearce. 2007. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB Press. Bandung
- Rohmani A, Rakhmawatie MD. 2015. efek ekstrak kulit manggis terhadap gambaran histopatologi hepar tikus wistar yang diinduksi formalin [jurnal]
- Rusmaladewi A, Istanto W. 2014. pengaruh pemberian *N-Acetylcystein* terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus wistar yang diberi parasetamol. *Original artikel med hosp* 2: 78-83
- Salah W, Miller NJ, Paganga G, Tjiburg L, Bollwel GP, Evan RC. 1995. Polyphenolic flavonols as scavengers of aqueous phaseradicals as chainbreaking antioxidant. *Arch. Biochem. Biorh*, pp. 2, 339-346

- Santosa MH. 2005. Uji toksisitas akut dan subakut ekstrak etanol dan ekstrak air kulit batang *Artocarpus champeden* Spreng dengan parameter histopatologi hati mencit. *Majalah Farmasi Airlangga*: 91-5
- Seyoum A, Asres K, El-Ficky FK. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids, *Phytochemistry*. 67: 2058-2070.
- Sakthidevi G, Mohan VR. 2013. Total Phenolic, Flavonoid Contents and In vitro Antioxidant Activity of *Dioscorea alata* 1. Tuber. *J. pharm. Sci.Res.* Vol 5(5): 115-119
- Situmorang TE. 2010. Pengaruh pemberian jus papaya (*Carica Papaya L.*) sebagai hepatoprotektor terhadap mencit yang diinduksi parasetamol [Skripsi] Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret
- Smith JB, S Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press
- Sugianto. 1995. *Petunjuk Praktek Farmakologi*. Edisi IV. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Sujatno M. 1997. Efek attapulgit, ekstrak daun Psidium guajava, dan ekstrak akar Curcuma domestica terhadap diare akut nonspesifik. *Majalah Kedokteran Indonesia* 46 (4): 199-200.
- Suntoro H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Sutrisna EM, Trisharyanti I, Munawaroh R, Suprpto, Mahendra AD. 2015. efek antioksidan ekstrak etanol 70% biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode dpph. *University Research Colloquium*. ISSN 2407-9189
- Tamad FSU, Hidayat ZS, Sulistiyo H. 2011. gambaran histopatologi hepatosit tikus putih setelah pemberian jintan hitam dosis 500mg/kgbb, 1000mg/kgbb, dan 1500mg/kgbb selama 21 hari (Subkronik). *Mandala of Health*;5(3):1-5
- Underwood, 1999, *Patologi*, Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Utomo Y, Hidayat A, Dafip M, Sasi FA. 2012. studi histopatologi hati mencit (*Mus musculus L.*) yang diinduksi pemanis buatan. *Jurnal MIPA* 35 : 122-129
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V, diterjemahkan oleh Soedani Noerono. Yogyakarta: Gadjahmada University Press.

Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi biji alpukat


UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI
Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp.(0274) 543120 Fax.(0274) 543120 Email:farmasi@ugm.ac.id.

SURAT KETERANGAN
No.: UGM/FA/ 923 /M/03/02

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Uni Susan Nugrametalina
NIM 19134006 A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
08	<i>Persea americana</i> Mill.	Lauraceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 2 Maret 2017
Ketua
Departemen Biologi Farmasi

Mengetahui,
Dekan
Fakultas Farmasi UGM


Prof. Dr. Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt
NIP. 19760119199931002


Dr. Indah Purwantini, M.Si., Apt.
NIP. 197209121998032002

 Management System
ISO 9001:2008
www.tuv.com
ID 9105069051

Lampiran 2. Surat keterangan pembelian hewan uji**"ABIMANYU FARM"**

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
√ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Uni Susan Nugrametalina
Nim : 19134006 A
Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar
Umur : 2-3 bulan
Jenis kelamin : Jantan
Jumlah : 30 ekor
Keterangan : Sehat
Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 31 Mei 2017

Hormat kami



Sigit Pramono

"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Surat keterangan pembuatan dan pembacaan preparat



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM HISTOLOGI

SURAT KETERANGAN

06/ UN27.6.6.2.1/2017

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Uni Susan Nugrametalina
Nim : 19134006A
Fakultas : Farmasi
Universitas : Setia Budi
Judul Skripsi : Efek hepatoprotektif ekstrak etanol biji alpukat (*persea americana Mill.*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi parasetamol.

Telah melaksanakan kegiatan pembuatan dan pembacaan preparat di Bagian Laboratorium Histologi FK UNS.

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 27 April 2017
Kepala Bagian Histologi FK UNS



Muthamah, dr., M.Kes.
NIP. 19660702 199802 2 001

Lampiran 4. Gambar simplisia basah, serbuk dan ekstrak biji alpukat (*Persea Americana Mill.*)



A. Simplisia basah biji alpukat



B. Serbuk biji alpukat



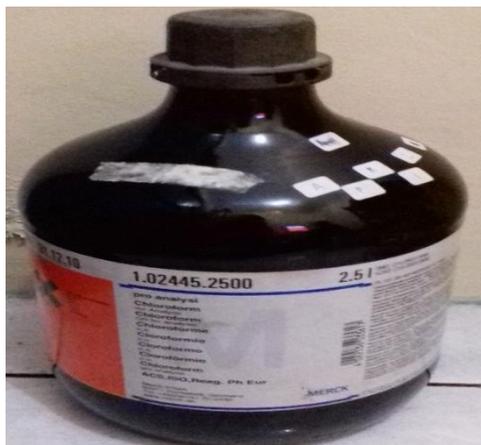
C. Ekstrak biji alpukat

Lampiran 5. Gambar alat yang digunakan dalam penelitian

A. Alat penggiling



B. Ayakan mess 40



C. Botol maserasi



D. Moisture Balance



E. Evaporator



F. Oven

Lampiran 6 . Gambar serbuk parasetamol dan larutan stock parasetamol



A. Serbuk parasetamol



B. Larutan stock parasetamol

Lampiran 7. Gambar curcuma® dan larutan stock curcuma®



A. Curcuma®



B. Larutan stock Curcuma®

Lampiran 8. Gambar larutan stock ekstrak etanol biji alpukat



Lampiran 9. Gambar hasil uji tabung idetifikasi kandungan kimia ekstrak etanol



biji alpukat dan uji bebas etanol



A. Saponin

B. Fenol



C. Tanin



D. flavonoid



E. Alkaloid reagen mayer



F. alkaloid reagen Dragendrof



Uji bebas etanol metode esterifikasi

Lampiran 10. Gambar hewan uji dan perlakuan



A. Hewan uji



B. pemberian ekstrak secara oral



C. Pengambilan organ



D. Organ hati

Lampiran 11. Hasil rendemen berat kering terhadap berat basah biji alpukat

Berat basah (g)	Berat kering (g)	rendemen (%)
4500	1900	42,22

Perhitungan rendemen

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{berat kering (g)}}{\text{berat basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1900}{4500} \times 100 \% \\ &= 42,22 \%\end{aligned}$$

Kesimpulan: persentase rendemen biji alpukat kering terhadap biji alpukat basah adalah 42,22%

Lampiran 12. Hasil penetapan susut kering biji alpukat

Berat serbuk (g)	Susut kering (%)
2	7,5
2	6,0
2	5,5
Rata-rata	6,3

Perhitungan rata-rata susut pengeringan biji alpukat adalah :

$$\frac{7,5+6+5,5}{3} = 6,3\%$$

Lampiran 13. Hasil Prosentase rendemen ekstrak etanol biji alpukat

Bahan	Serbuk (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (% b/b)
Biji alpukat	300	37,5	12,5

Perhitungan persen rendemen ekstrak etanol biji alpukat:

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{\text{ekstrak kental (g)}}{\text{berat kering (g)}} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = \frac{37,5}{300} \times 100 \%$$

$$\text{Rendemen (\% b/b)} = 12,5 \%$$

Kesimpulan: persentase rendemen ekstrak etanol biji alpukat terhadap serbuk adalah 12,5 % b/b

Lampiran 14. Hasil penetapan susut kering ekstrak etanol biji alpukat

Berat ekstrak (g)	Susut kering (%)
2	3,5
2	3,2
2	4,0
Rata-rata	3,3

Perhitungan rata-rata susut pengeringan biji alpukat adalah :

$$\frac{3,5+3,2+4,0}{3} = 3,3\%$$

Lampiran 15. Perhitungan dosis

1. Larutan CMC Na

Pembuatan larutan CMC Na konsentrasi 1% CMC Na yang ditimbang adalah 1 gram kemudian dilarutkan ke dalam 100 ml aquadest.

$$1 \text{ g} / 100 \text{ ml}$$

$$1000 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$$

2. Induksi curcuma®

Dosis curcuma yang digunakan pada tikus sebesar 200 mg/70 kgBB pada manusia, dosis ini dikonversikan pada tikus $0,018 \times 200 \text{ mg} = 3,6 \text{ mg} / 200 \text{ gram BB tikus}$.

3. Parasetamol

Dosis parasetamol yang digunakan merupakan dosis toksik dihitung berdasarkan faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram. Faktor konversi tersebut adalah 0,018. Dosis toksik yang digunakan pada manusia adalah 15 gram

$$\begin{aligned} \text{Faktor konversi dari manusia ke tikus} &= 15 \text{ gram} \times 0,018 \\ &= 0,27 \text{ gram} / 200 \text{ gram BB tikus} \end{aligned}$$

$$\text{Konsentration obat } 13,5\% = 13,5 \text{ gram} / 100 \text{ ml} = 135 \text{ mg} / \text{ml}$$

4. Ekstrak biji alpukat

Dosis ekstrak biji alpukat yang ditetapkan berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Hendra *et al.* (2014) yang membuktikan bahwa dosis efektif sebesar 72 mg/200 g BB tikus, tetapi digunakan dalam bentuk infusa. Dalam penelitian ini dosis tersebut dijadikan dosis tertinggi, dengan menggunakan tiga peringkat dosis berturut-turut yaitu dosis ekstrak etanol biji alpukat terendah sebesar 18 mg/200 g BB tikus, dosis tengah sebesar 36 mg/200 g BB tikus, dan dosis tertinggi sebesar 72 mg/200 g BB tikus.

$$\text{Larutan stok} = \frac{18 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 900 \text{ mg} / 100 \text{ ml} = 9 \text{ mg} / \text{ml}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{36 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 1800 \text{ mg} / 100 \text{ ml} = 18 \text{ mg} / \text{ml}$$

$$\text{Larutan stok} = \frac{72 \text{ mg}}{2 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 3600 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 36 \text{ mg/ml}$$

- Dosis dan pemberian oral kelompok perlakuan I

kelompok	No	Dosis (mg) $\frac{BB \text{ tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	Volume pemberian $\frac{\text{dosis diperoleh (mg)}}{\text{dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol pemberian}$
IV	1	$\frac{177}{200} \times 18 = 15,93 \text{ mg}$	$\frac{15,93}{9} \times 1 \text{ ml} = 1,77 \text{ ml}$
	2	$\frac{189}{200} \times 18 = 17,01 \text{ mg}$	$\frac{17,01}{9} \times 1 \text{ ml} = 1,89 \text{ ml}$
	3	$\frac{195}{200} \times 18 = 17,55 \text{ mg}$	$\frac{17,55}{9} \times 1 \text{ ml} = 1,95 \text{ ml}$
	4	$\frac{202}{200} \times 18 = 18,18 \text{ mg}$	$\frac{18,18}{9} \times 1 \text{ ml} = 2,02 \text{ ml}$
	5	$\frac{210}{200} \times 18 = 18,9 \text{ mg}$	$\frac{18,9}{9} \times 1 \text{ ml} = 2,1 \text{ ml}$

- Dosis dan pemberian oral kelompok perlakuan II

kelompok	No	Dosis (mg) $\frac{BB \text{ tikus (g)}}{200 \text{ (g)}} \times \text{Dosis}$	Volume pemberian $\frac{\text{dosis diperoleh (mg)}}{\text{dosis diketahui (mg)}} \times \text{vol pemberian}$
V	1	$\frac{179}{200} \times 36 = 32,22 \text{ mg}$	$\frac{32,22}{18} \times 1 \text{ ml} = 1,79 \text{ ml}$
	2	$\frac{191}{200} \times 36 = 34,38 \text{ mg}$	$\frac{34,38}{18} \times 1 \text{ ml} = 1,91 \text{ ml}$
	3	$\frac{197}{200} \times 36 = 35,46 \text{ mg}$	$\frac{35,46}{18} \times 1 \text{ ml} = 1,97 \text{ ml}$
	4	$\frac{205}{200} \times 36 = 36,9 \text{ mg}$	$\frac{36,9}{18} \times 1 \text{ ml} = 2,05 \text{ ml}$
	5	$\frac{189}{200} \times 36 = 34,02 \text{ mg}$	$\frac{34,02}{18} \times 1 \text{ ml} = 1,89 \text{ ml}$

- Dosis dan pemberian oral Kelompok perlakuan III

kelompok	No	Dosis (mg)	Volume pemberian
		$\frac{BB\ tikus\ (g)}{200\ (g)} \times Dosis$	$\frac{dosis\ diperoleh\ (mg)}{dosis\ diketahui\ (mg)} \times vol\ pemberian$
V	1	$\frac{178}{200} \times 72 = 64,08\ mg$	$\frac{64,08}{36} \times 1\ ml = 1,78\ ml$
	2	$\frac{195}{200} \times 72 = 70,2\ mg$	$\frac{70,2}{36} \times 1\ ml = 1,95\ ml$
	3	$\frac{210}{200} \times 72 = 75,6\ mg$	$\frac{75,6}{36} \times 1\ ml = 2,1\ ml$
	4	$\frac{203}{200} \times 72 = 73,08\ mg$	$\frac{73,08}{36} \times 1\ ml = 2,03\ ml$
	5	$\frac{180}{200} \times 72 = 64,8\ mg$	$\frac{64,8}{36} \times 1\ ml = 1,8\ ml$

Lampiran 16. Data berat badan tikus

No.	Berat badan (g) kelompok I	Berat badan (g) kelompok II	Berat badan (g) kelompok III	Berat badan (g) kelompok IV	Berat badan (g) kelompok V	Berat badan (g) kelompok VI
1	195	198	179	177	179	178
2	202	203	196	189	191	195
3	201	197	175	195	197	210
4	203	185	190	202	205	203
5	198	176	186	210	189	180
Rata-rata	198	198	190	194	192	190

Keterangan :

Kelompok I adalah kelompok perlakuan CMC Na 1%

Kelompok II adalah kelompok perlakuan CMC Na 1% + Parasetamol

Kelompok III adalah kelompok perlakuan Curcuma + Parasetamol

Kelompok IV adalah kelompok perlakuan ekstrak etanol biji alpukat dosis I + Parasetamol

Kelompok V adalah kelompok perlakuan ekstrak etanol biji alpukat dosis II + Parasetamol

Kelompok VI adalah kelompok perlakuan ekstrak etanol biji alpukat dosis II + Parasetamol

Lampiran 17. Hasil skor histopatologi hepar tikus**Kelompok normal**

No	Skor sel hepar				Jumlah
	Normal	Deg. P	Deg. H	Nekrosis	
1	96	8	0	0	104
2	97	6	0	0	103
3	95	10	0	0	105
4	99	2	0	0	101
5	97	6	0	0	103
Rata-rata ±SD					103,2 ± 1,483

Kelompok negattif (parasetamol)

No	Skor sel hepar				Jumlah
	Normal	Deg. P	Deg. H	Nekrosis	
1	73	12	30	44	159
2	73	16	30	36	155
3	71	10	18	72	171
4	73	18	30	32	153
5	77	8	18	52	155
Rata-rata ±SD					158,6 ± 7,266

Kelompok positif (Curcuma®)

No	Skor sel hepar				Jumlah
	Normal	Deg. P	Deg. H	Nekrosis	
1	97	2	6	4	109
2	89	14	12	0	115
3	91	8	15	0	114
4	91	12	9	4	116
5	94	6	9	8	117
Rata-rata ±SD					114,2 ± 3,114

Kelompok perlakuan I

No	Skor sel hepar				Jumlah
	Normal	Deg. P	Deg. H	Nekrosis	
1	79	14	30	16	139
2	73	20	39	4	136
3	82	10	27	16	135
4	81	14	18	24	137
5	79	16	24	20	139
Rata-rata ±SD					137,2 ± 1,788

Kelompok perlakuan II

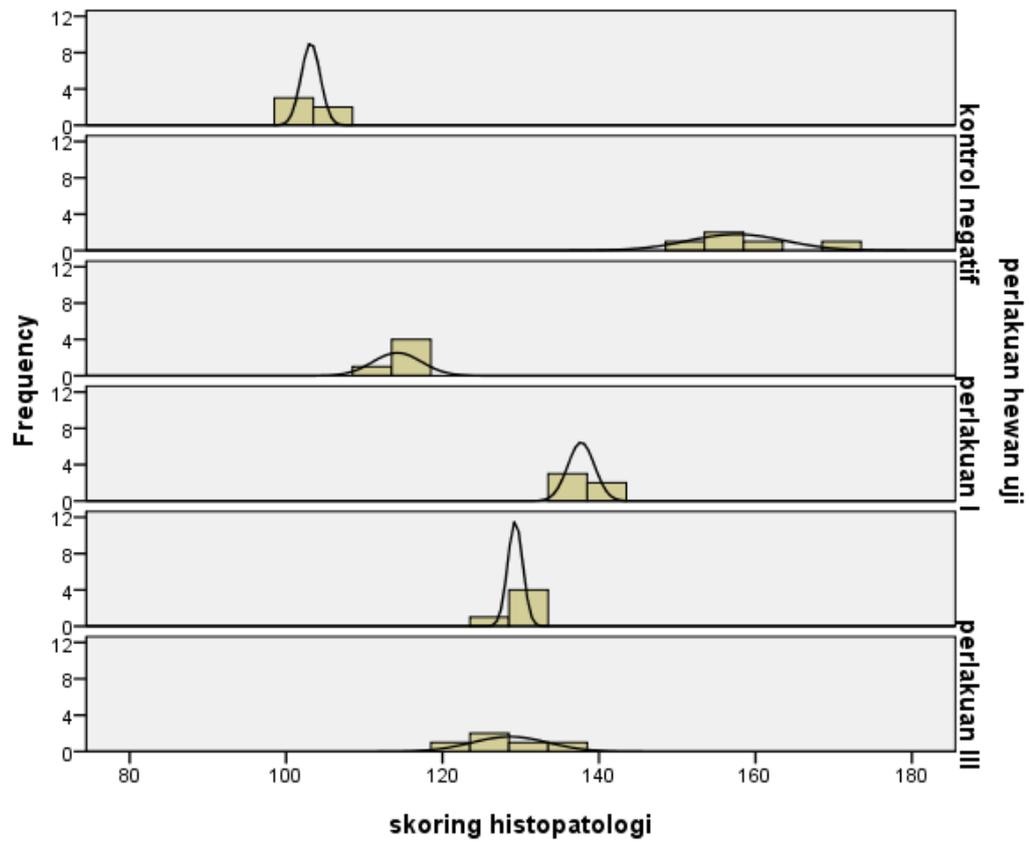
No	Skor sel hepar				Jumlah
	Normal	Deg. P	Deg. H	Nekrosis	
1	81	14	30	6	131
2	81	16	24	9	130
3	84	12	21	12	129
4	83	12	24	9	128
5	82	14	27	6	129
Rata-rata ±SD					129,4 ± 1,140

Kelompok perlakuan III

No	Skor sel hepar				Jumlah
	Normal	Deg. P	Deg. H	Nekrosis	
1	91	4	3	24	122
2	85	12	18	12	127
3	83	16	21	8	128
4	82	14	15	24	135
5	83	14	18	16	131
Rata-rata ±SD					128,6 ± 4,827

Lampiran 18. Analisis data SPSS 17

GRAPH



Kruskal-Wallis Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank
skoring histopatologi	kontrol normal	5	3.00
	kontrol negatif	5	28.00
	kontrol positif	5	8.00
	perlakuan I	5	22.90
	perlakuan II	5	16.00
	perlakuan III	5	15.10
	Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	skoring histopatologi
Chi-Square	27.392
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol normal	5	3.00	15.00
	kontrol negatif	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol normal	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol normal	5	3.00	15.00
	perlakuan I	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol normal	5	3.00	15.00
	perlakuan II	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol normal	5	3.00	15.00
	perlakuan III	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	kontrol positif	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	perlakuan I	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	perlakuan II	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	perlakuan III	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	perlakuan I	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	perlakuan II	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics ^b	
	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks				
perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	perlakuan III	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics ^b	
	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	perlakuan I	5	8.00	40.00
	perlakuan II	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.627
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

		Ranks		
perlakuan hewan uji		N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	perlakuan I	5	7.90	39.50
	perlakuan III	5	3.10	15.50
	Total	10		

Test Statistics ^b	
	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	15.500
Z	-2.522
Asymp. Sig. (2-tailed)	.012
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

		perlakuan hewan uji	N	Mean Rank	Sum of Ranks
skoring histopatologi	perlakuan II		5	6.00	30.00
	perlakuan III		5	5.00	25.00
	Total		10		

Test Statistics^b

	skoring histopatologi
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.527
Asymp. Sig. (2-tailed)	.598
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan hewan uji